



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
MÉRIDA-VENEZUELA



ISSN 0543-517-X
Depósito Legal pp 1958 02
ME 1003

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

FUNDADA EN 1958



"REVISTA PATRIMONIO ULA"

Volumen 64, Número 1
enero-junio 2022

EDITORIAL

Revista de la Facultad de Farmacia

La Revista de la Facultad de Farmacia sale en octubre de 1958, como homenaje de la Facultad al cuatricentenario de la fundación de Mérida. Su formato es de 1/16, con portada naranja e imagen con círculo, con las cinco águilas de Don Tulio, el benceno fenantreno, las hormonas y vitaminas, del que pende una madeja con símbolos alquímicos. La revista se editó con la esperanza de que fuera trimestral, harto ambiciosa para una Facultad casi sin investigadores, a pesar de la existencia del Instituto de Química Orgánica desde 1948, de Investigación Química en 1955, y mucho después de Investigaciones en 1987. La Facultad cumplía, desde mucho, con la formación de Farmacéuticos para el expendio de medicamentos y desde poco, con la de Bioanalistas, para los análisis de los fluidos biológicos, sólidos y líquidos, de los humanos. Se cumplió decorosamente por años, con uno o dos números volumen/año, algunos saltados, que mejoran con mas personal comprometido con la investigación en el Instituto de Investigación Química, otros departamentos y con los impulsos de los Postgrados de Química de Medicamentos y Microbiología, desde 1982. Con este formato se llega al número 26, en al año 1986, cuando se cambia al formato 1/8 en el número 27 (1989), por fines económicos y prácticos. De portadas variopintas, hasta la del volumen 37 (1997), donde se incluye en el índice REVENCYT y aparecen por primera vez las normas para autores. El incremento de la masa crítica de investigadores/as de la Facultad en el trasvase de siglos, promueven y suman grupos de investigación, que son aprobados por el CDCHTA, cuyos resultados se traducen en artículos a ser publicados en la multidisciplinaria Revista, filtrados por árbitros. Se le suman artículos de otras fuentes y países. Por ello la revista es incorporada a más índices de revistas científicas. La Revista cambia de nuevo la imagen de la portada en el vol. 49 (2007), por concurso público y premio económico incluido para la ganadora, que mantiene el espíritu de los fundadores (color naranja y las cinco Águilas), a los que suma, el frailejón, el rey del Páramo, y la fachada de la Facultad con el mortero, la herramienta antigua de los alquimistas. La imagen de la portada es cambiada otra vez, en el volumen 62 (2020), esta vez sin concurso público. Saber.ula.ve incorpora a la Revista al sistema digitalizado desde el volumen 42 (2001). Por la constancia y larga trayectoria a la Revista de la Facultad de Farmacia se le reconoce como Revista Patrimonio de la ULA en 2017. Es el momento de homenajear a las autoridades de la Facultad y autores que ya no nos acompañan, porque contribuyeron a mantener viva a la Revista.

Ahora es que le queda vida!!!.

Dr. Antonio Morales

Instituto de Investigaciones
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Universidad de Los Andes

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

Vol. 64, N° 1

enero-junio 2022

ISSN 0543- 517-X Depósito Legal pp 1958 02 ME 1003

ISSN 2244-8845 Electrónico Depósito Legal ppi 2012 02
ME 4102

CONTENIDO

ARTÍCULOS ORIGINALES

Actividad antioxidante y composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb de Ecuador.

Antioxidant activity and chemical composition of the essential oil of *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb from Ecuador.

Autores: Toaquiza-Aguagallo Cecilia, Cando-Brito Verónica, †Rojas-Fermín Luis, Pérez-Colmenares Alida, Aparicio-Zambrano Rosa, Obregón-Díaz Ysbelia3

Actividad antioxidante de los extractos alcohólicos de los frutos de las especies *Manilkara achras* (Mill.) Fosberg (níspero); *Averrhoa carambola* L. (tamarindo chino) y *Spondias mombin* L. (jobo).

Antioxidant activity of the alcoholic extract from the species fruit *Manilkara achras* (Mill.) Fosberg (níspero); *Averrhoa carambola* L. (tamarindo) and *Spondias mombin* L. (jobo).

Autores: Toloza Luis, Ramírez Jesús, Rondón María. .11

Derivados hemisintéticos del *ent*-kaurenol y evaluación de su actividad antimicrobiana.

Hemisynthetic derivatives of *ent*-kaurenol and evaluation of their antimicrobial activity.

Autores: Hamdan-Sánchez Mager, †Rojas-Fermín Luis, Obregón-Díaz Ysbelia, Aparicio-Zambrano Rosa, Pérez-Colmenares Alida, Cordero Yndra, Díaz Clara, Da Silva-Rojas Jossblerys, Usubillaga Alfredo20

Análisis químico cualitativo y actividad ecotóxica de la especie *Tristerix longibracteatus* (Desr.) Barlow & Wiens (Loranthaceae) colectada en Chimborazo, Ecuador.

Cualitative chemical analysis and ecotoxyc activity of *Tristerix longibracteatus* species (Desr.) Barlow & Wiens (Loranthaceae) collected in Chimborazo, Ecuador.

Autores: Espinoza Carlos, Rojas Janne, Buitrago-Díaz Alexis, Morillo Marielba, Visbal Tomas29

Normas Editoriales37

Reglamento para el Arbitraje38

Índice Acumulado40

Artículo original

Antioxidant activity and chemical composition of the essential oil of *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb from Ecuador.

Actividad antioxidante y composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb de Ecuador.

Toaquiza-Aguagallo Cecilia¹, Cando-Brito Verónica¹, †Rojas-Fermín Luis²,
Pérez-Colmenares Alida^{2*}, Aparicio-Zambrano Rosa², Obregón-Díaz Ysbelia².

¹Faculty of Sciences, Chimborazo Higher Polytechnic School. Riobamba, C.P 060106, Ecuador. ²Research Institute "Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro", Faculty of Pharmacy and Bioanalysis, University of Los Andes, Mérida, C.P. 5101, Venezuela.

Recibido: enero de 2022–Aceptado: abril de 2022

RESUMEN

El aceite esencial de las flores y hojas de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb recolectada en la Provincia de Chimborazo, Ecuador, fue obtenido por hidrodestilación y su composición química fue determinada por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM). Doce componentes fueron identificados, lo cual representó el 98,86% y 99,99% del total de los aceites de flores y hojas, respectivamente. Los compuestos mayoritarios del aceite esencial de las flores fueron la pulegona (45,15%), mentona (37,66%) y neomentol (6,03%), mientras que para el aceite esencial de las hojas fueron la mentona (46,58%), pulegona (18,76%), neomentol (12,65%) y acetato de neomentilo (9,91%). La actividad antioxidante fue determinada por el método del DPPH (2,-difencil-1-picrilhidrazilo). La concentración inhibitoria media (CI₅₀) fue de 32,73 µg/mL y 15,40 µg/mL para el aceite esencial de flores y hojas, estos resultados indican una actividad antioxidante elevada para ambos aceites.

PALABRAS CLAVE

Minthostachys mollis, aceites esenciales, pulegona, mentona, DPPH.

ABSTRACT

The essential oil from the flowers and leaves of *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb collected in the Province of Chimborazo, Ecuador was obtained by hydrodistillation and its composition was determined by GC and GC/MS. Twelve components were identified in the flowers and leaves oil, which represent 98.86% and 99.99% of the total oil, respectively. The major components of the flowers oil were pulegone (45.19%), menthone (37.66%) and neomenthol (6.03%) and the major components of the leaves oil were, menthone (46.58%), pulegone (18.76%), neomenthol (12.65%) and neomenthyl acetate (9.91%). The antioxidant activity was determined by interaction with the stable free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. The IC₅₀ of the essential oil of flowers and leaves were 32.73 µg/mL, and 15.40 µg/mL, respectively. These results indicated powerful antioxidant activity for both oils.

KEY WORDS

Minthostachys mollis, essentials oils, pulegone, menthone, DPPH.

INTRODUCTION

The genus *Minthostachys* Griseb. (Lamiaceae) is found in middle elevations along the Andes, from Venezuela to Argentina. This genus includes 17 species according to some authors. It is of great ethnobotanical, pharmacological and commercial interest because of the essential oils found in the plants. It does not only find use, as a condiment or tea, in the traditional cuisine of the Andes, but is one of the most important plants in the folk medicine of the area. On the basis of this observation, it receives growing attention from modern pharmacology and medicine, as plant decoctions and extracted essential oils are tested for pharmacological effects [1-3].

From the early 16th century the folklore medicinal use of the *Minthostachys* genus has been reported for the treatment of several health-disorders such as headache, cold and flu, respiratory illnesses (asthma, bronchitis, cough), digestive disorders (indigestion, carminative, stomach-ache, diarrhea, colics), muscle spasms, rheumatism, impotence and amenorrhea. Other traditional uses of *Minthostachys* include biopesticides (antimycotic and antiparasitic, against flea infestations) and for the protection of stored potato and oca tubers from aphids and pests. In recent years, there have been numerous research studies on *Minthostachys* oils to provide scientific evidences on their medicinal properties [4-7].

Minthostachys mollis (Benth.) Griseb is restricted to the Andes of Ecuador, Venezuela, Colombia, Perú and Bolivia. It's known by various popular names and has different medicinal uses. In Ecuador, *M. mollis* is known as Muña and is prepared as tea and used to treat infectious diseases of children, as well as for rheumatism. Traditionally it is used for the treatment of cough, bronchitis, stomach ulcer, gastritis, stomach and intestinal spasm, cold, headache, intestinal parasitism and as digestive. It is important to

highlight that currently the trend of consumers is inclined to the consumption of foods free of synthetic products, so it is interesting to study native plants in this region to recommend its application as an additive for industrial purposes [8-10]. In the present study, the composition chemical and in vitro antioxidant activities of essentials oils of flowers and leaves of *Minthostachys mollis* collected of the Province of Chimborazo-Ecuador are reported.

MATERIALS AND METHODS

Plant material: Flowers and leaves of *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb were collected in January 2018 at Llucud in the Province of Chimborazo, Ecuador, at 3200 m above sea level, 1°43'22"S, and 78°33'15" W. A voucher specimen was deposited in the Herbarium Chimborazo Higher Polytechnic School. The botanical identification was made by Biologist Ricardo Zambrano from Faculty of Biological Sciences of the Central University of Ecuador.

Extraction and analysis of the essential oil: The fresh plant materials were separated into flowers (474.0 g) and leaves (788.0 g) cut into small pieces and submitted to hydrodistillation for 3 h using a Clevenger-type apparatus. A volume of 0.45 mL and 0.75 mL of essential oil were obtained, respectively. The composition of the essential oils was determined by comparing of the mass spectrum of each compound with Wiley GC/MS library data and also from retention index (RI) data.

Gas chromatography (GC): GC analyses were performed using a Perkin-Elmer Autosystem gas chromatograph equipped with a FID detector and data-handling system. A 5% phenylmethylpolysiloxane fused-silica capillary column was used (30 m x 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm; HP-5, Hewlett-Packard, CA, USA). The oven temperature was programmed from 60°C to 260°C at 4°C/min. The injector and detector temperatures were 200°C and 280°C, respectively. The carrier gas was helium at 0.8 mL/min. The sample (1.0 µL) was injected using a split ratio of 10:1. Retention indices were calculated with reference to C8-C24 n-alkanes.

The percentage composition of the oil was calculated by the normalization method from the GC peak areas.

Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS): GC-MS analyses were carried out on a Model 5973 Hewlett-Packard GC-MS system fitted with a HP- 5MS fused silica column (30 m x 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 μ m, Hewlett-Packard). The oven temperature program was the same as that used for the HP-5 column for GC analysis; the transfer line temperature was programmed from 150°C to 180°C; source temperature, 230°C; quadrupole temperature 150°C; carrier gas, helium adjusted to a linear velocity of 34 cm/s; ionization energy, 70 eV; scan range, 40 to 500 amu; 3.9 scans/s. A simple (1.0 μ L) was injected using a Hewlett-Packard ALS injector with a split ratio of 50:1. The identity of the oil components was established from their GC retention indices, by comparing of their mass and those of standard components available in the laboratory, and through library search (Nist 05 and Wiley MS Data Library, 6th edn) [11,12].

Free radical scavenging activity: Free radical scavenging activity of essential oils were determined by using a stable free radical, namely DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), according to a slightly modified method of Blois, 1958. Indeed, since DPPH has an unpaired electron its delocalization, by reaction with an antioxidant substance gives a violet color to the DPPH solution. By donating a hydrogen radical, DPPH is stabilized producing a decrease in absorbance [13]. DPPH solution was prepared at the concentration of 6×10^{-2} mM of DPPH in ethanol. During assays, 1 mL of the essential oil (1000 μ g/mL) was mixed with 3 mL DPPH solution. Simultaneously, a control (ascorbic acid) was prepared without essential oil. The mixture was incubated at room temperature for 30 min and further reading on a Spectronic Genesystem 10 Bio reader plate at 517 nm. The percentages of inhibition of the DPPH radical, as a function of the effect extracted fractions, were calculated using the following equation, where A_{co} : the absorbance of the control at $t=0$; A_{at} : the absorbance of the samples at $t = 30$ min.

The IC_{50} value was calculated based on the percentage of inhibition of each concentration,

namely 500, 250, 125, 62.5, 31.25 and 15.62 μ g/mL. The percentage of inhibition (y) from each concentration (x), the points (x and y) are plotted on the coordinate plane then the line equation $y = ax + b$ is determined by calculation using linear regression where a and b are constants, x is the concentration sample (ppm), and y is the percentage of inhibition (%). Antioxidant activity is expressed by IC_{50} , namely the sample's concentration that can reduce 50% of DPPH radicals [14, 15].

$$\text{Inhibition} = \frac{A_{co} - A_{at}}{A_{co}} * 100$$

RESULTS AND DISCUSSION

In this study the chemical composition of the essential oil of flowers and leaves of *M. mollis* collected in the Province of Chimborazo-Ecuador are reported. Hydrodistillation from the flowers of *M. mollis* produced a 0.45 mL yellow oil with a yield of 0.09%, while the leaves produced a 0.75 mL yielded 0.10% of oil. GC-MS analysis showed the presence of 12 components which were identified in the oil of the flowers and leaves, they represent 98.86 % and 99.99%, of the total oil, respectively. These compounds with their retention indices (RI) and relative percentage concentrations are listed in Table 1, according to the elution order on HP-5 column. The major components of the flowers oil were pulegone (45.19%), menthone (37.66%) and neomenthol (6.03%) and the major components of the leaves oil were pulegone (18.76%), menthone (46.58%), α -neomenthol (12.65%) and neomentil acetate (9.91%) and menthyl acetate (4.19%). The identified products may be divided into four different groups: hydrocarbons monoterpenes (1.58% flowers; 2.10% leaves), oxygenated monoterpenes (95.81% flowers; 96.71% leaves), sesquiterpenes (1.47% flowers; 1.18% leaves).

The essential oil of *M. mollis* obtained from plants collected at different places has been described. In the Venezuelan Andes the essential oils of *M. mollis* from leaves contain pulegone as their major component. However, the essential oil of *M. mollis* from seeds obtained in Ecuador contains menthol derivatives as their major

compounds. The analysis of the oil from plants raised at Carroll Co, Indiana, from seeds purchased in Quito, Ecuador, showed the presence of neomenthol (29.3%), menthol (20.6%), menthone

(24.0%) and piperitone (9.0%); those collected at Zaruma (Province of El Oro, Ecuador) contained menthone (16.0%), carvacryl acetate (10.0%), pulegone (10.0%) and carvacrol (9.0%) [16-19].

TABLE 1.

Percentage composition of the essential oil from flowers and leaves of *Minthostachys mollis*.

| Serial N° | Compounds | Flowers oil | Leaves oil | RI |
|-----------|-------------------------|---------------|---------------|------|
| 1 | α -terpinolene | 1.58 | 2.10 | 1099 |
| 2 | menthone | 37.66 | 46.58 | 1159 |
| 3 | neomenthol | 6.03 | 12.65 | 1167 |
| 4 | menthol | 0.77 | 2.55 | 1174 |
| 5 | pulegone | 45.19 | 18.76 | 1246 |
| 6 | piperitone | 1.04 | 1.18 | 1261 |
| 7 | neomenthyl acetate | 2.48 | 9.91 | 1282 |
| 8 | menthyl acetate | 1.00 | 4.19 | 1300 |
| 9 | piperitenone | 0.78 | 0.29 | 1347 |
| 10 | eugenol | 0.86 | 0.60 | 1361 |
| 11 | β -caryophyllene | 0.71 | 0.59 | 1419 |
| 12 | bicyclo-germacrene | 0.76 | 0.59 | 1495 |
| | Total Identified | 98.86% | 99.99% | |

RI: Retention index this work.

All of them have been previously reported as characteristic components of different chemotypes of *M. mollis* from Argentina, these findings suggest large genetic diversity in *M. mollis* from Ecuador with regard to the main essential oil components which appears to be divided into two chemotypes: carvacryl acetate-carvacrol and predominantly pulegone-menthone [20, 21]. Many studies show that the chemical composition of essential oils varies noticeably according to numerous factors, including environmental geobotanical conditions, cultivation technique, plant age, harvest period, among others [22].

The antioxidant mechanism is mostly known as radical scavenging; this assay is based on measuring the reducing ability of antioxidants toward **DPPH**. This method is an *In Vitro* method that is often chosen for antioxidant activity because it is simple, easy, fast, sensitive, and requires a small sample. This method only requires **DPPH**

without adding a substrate because free radicals are available directly to touch the substrate. The ability can be evaluated by electron spin resonance or by measuring the decrease of its absorbance [23]. The results can be observed by changing the solution from purple to yellow. Color changes indicate that **DPPH** has been reduced by the hydrogen or electron donation process of antioxidant compounds. The absorption decreases gradually as much as the concentration of antioxidant compounds. This method uses **IC₅₀** as a parameter to determine the concentration of antioxidant compounds that can inhibit 50% oxidation [23].

Table 2 showed that the **IC₅₀** of the essential oil of flowers and leaves of *M. mollis* were 32.73 $\mu\text{g/mL}$, and 15.40 $\mu\text{g/mL}$, respectively. These results indicated powerful antioxidant activity for both oils. The category as antioxidant based on **DPPH** assay divided into; powerful, strong, medium, and weak with the **IC₅₀** <50, 50-100, 100-250, 250-500 $\mu\text{g/mL}$, respectively [23].

TABLE 2.
Antioxidant activity of the essential oil of flowers and leaves of *M. mollis*.

| Sample | Concentrations | Inhibition (%) | IC ₅₀ (µg/mL) |
|---|----------------|----------------|--------------------------|
| Ascorbic acid positive control | 12.5 | 20.67 | 35.20 |
| | 25 | 37.09 | |
| | 50 | 69.02 | |
| | 75 | 96.36 | |
| | 100 | 97.08 | |
| Essential oil of flowers <i>M. mollis</i> | 15.62 | 46.61 | 32.73 |
| | 31.25 | 50.36 | |
| | 62.5 | 54.97 | |
| | 125 | 58.78 | |
| | 250 | 63.82 | |
| | 500 | 71.88 | |
| Essential oil of Leaves <i>M. mollis</i> | 15.62 | 49.87 | 15.40 |
| | 31.25 | 51.57 | |
| | 62.5 | 53.93 | |
| | 125 | 55.69 | |
| | 250 | 59.39 | |
| | 500 | 65.75 | |

IC₅₀: Concentration that can reduce 50% of DPPH radicals

The antioxidant activity of essential oils depends on the presence of bioactive components that can quench peroxy radicals or inhibit the oxidation reaction of the organic materials. Their antioxidative effects have been attributed to the presence of various terpenes and phenolic compounds. Terpenes, especially from the aromatic such as linalool, eucalyptol, citral, citronellal, isomenthone, menthone, α -terpinene, β -terpinene, and α -terpinolene, have been widely applied as additives in food supplements for preventing oxidative stress. Additionally, antioxidant activities have also been associated with specific alcohols, ethers, aldehydes, and ketones [24-28]. It is important to highlight that some studies have reported that the radical scavenging activity of peppermint essential oils is associated with the presence of menthol and menthone [29-31].

Previous studies have reported that monoterpenes without a π bond, for example, menthol, do not exert free radical scavenging activity in the DPPH• assay. When one double bond appears in the molecule, the DPPH• scavenging ability increases, as, for example, with

menthone. Compounds with two double bonds, as already explained, quickly terminate radical chain reaction and can be considered as potent free radical scavengers, for example, pulegone [32]. However, it must be considered that, natural essential oils are a mixture of different types of antioxidants or oxidizable terpenoids compounds. Depending on the composition and experimental conditions, synergistic or antagonistic interaction can occur and play an important role in the efficacy of the antioxidant action. Care should be taken before assuming that the antioxidant potential of essential oils is simply because of a specific terpene [33].

The essential oil of the leaves of *M. mollis* presented an IC₅₀ of 15.40 µg/mL while the essential oil of the leaves was 32.73 µg/mL. It seems plausible that menthone and pulegone play a significant role in the antioxidant activity of the essential oils of *M. mollis*. It is observed that the antioxidant activity was higher in the oil of the leaves, this can be attributed to the synergistic effect of neomenthyl acetate and menthyl acetate, they are found in greater proportion in said oil and have double bonds in their structures (Fig 1).

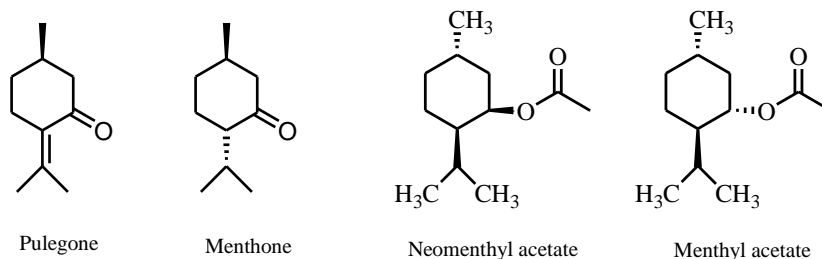


Fig. 1 Major compounds with double bonds of the essential oil of the of *M. mollis* leaves.

CONCLUSIONS

The chemical composition of essential oils of fresh flowers and leaves of *M. mollis* collected in the Province of Chimborazo were evaluated in the present investigation. The main components of the oil found in the flowers and leaves were pulegone (45.19%) and menthone (46.58%), respectively. The antioxidant test showed the essential oil of flowers and leaves of *M. mollis* had powerful antioxidant activity with IC_{50} values of 32.73 $\mu\text{g/mL}$ and 15.40 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The results of these studies provide scientific evidence of natural compounds with the potential to act as antioxidants against diseases in the human body.

BIBLIOGRAPHY REFERENCES

- [1] Schmidt-Lebuhn AN. Revision of the genus *Minthostachys* (Labiatae). 1st edition Memoirs of the New York Botanical Garden. 2008; 1-77.
- [2] Stonis JR, Diškus A, Fernández-Alonso JL, Remeikis A, Solis A. New leaf-mining *Nepticulidae* (Lepidoptera): potential pests of aromatic Lamiaceae plants from equatorial Andes. *Zootaxa*. 2021; 4926(3): 363-383. doi:10.11646/zootaxa.4926.3.3
- [3] Schmidt-Lebuhn AN. Ethnobotany, biochemistry and pharmacology of *Minthostachys* (Lamiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 2008; 118(3): 343-353. doi:10.1016/j.jep.2008.05.030
- [4] Lock O, Pérez E, Villar M, Flores D, Rojas R. Bioactive compounds from plants used in Peruvian traditional medicine. *Nat. Prod. Commun.* 2016; 11(3): 315-337.
- [5] Cariddi L, Escobar F, Moser M, Panero A, Alaniz F, Zygadlo J, Sabini L, Maldonado A. Monoterpenes isolated from *Minthostachys verticillata* (Griseb.) Epling essential oil modulates immediate-type hypersensitivity responses *in vitro* and *in vivo*. *Planta Med.* 2011; 77(15): 1687-1694. doi: 10.1055/s-0030-1271090
- [6] Montironi ID, Cariddi LN, Reinoso EB. Evaluation of the antimicrobial of *Minthostachys verticillata* essential oil and limonene against *Streptococcus uberis* strains isolated from bovine mastitis. *Rev. Argent Microbiol.* 2016; 48(3): 210-216. doi: 10.1016/j.ram.2016.04.005
- [7] Mora FD, Araque M, Rojas LB, Ramirez R, Silva B, Usbillaga A. Chemical composition and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil of *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb Vaught from the Venezuelan Andes. *Nat. Prod. Commun.* 2009; 4(7): 997-1000. doi: 10.1177/1934578X0900400726
- [8] Rojas-Armas JP, Arroyo-Acevedo JL, Ortiz-Sánchez JM, Palomino-Pacheco M, Hilario-Vargas HJ, Herrera-Calderón O, Hilario-Vargas J. Potential toxicity of the essential oil from *Minthostachys mollis*: A medicinal plant commonly used in the traditional Andean medicine in Peru. *J. Toxicol.* 2019; 19(1): 1-9. doi:10.1155/2019/1987935
- [9] Gleiser R, Bonino M, Zygadlo J. Bioactividad de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* contra mosquitos. *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas.* 2007; 6(6): 350-351.
- [10] Quezada-Moreno WF, Quezada-Torres WD, Travez A, Arias G, Cevallos E, Zambrano Z, Brito H, Salazar K. Essential oil of *Minthostachys mollis*: extraction and chemical composition of fresh and stored samples. *J. Medicinal Aromat. Plants.* 2019; 5: 59-71. doi:0.48347/IMIST.PRSM/ajmap-v5i1.15684

- [11] Davies NW. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20 M. phases. *J. Chromatogr. A*. 1990; 503: 1-24. doi:10.1016/S0021-9673(01)81487-4
- [12] Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corp., Carol Stream, Illinois. 2007; 1-804. doi:10.1016/j.jasms.2005.07.008
- [13] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2004; 26(2): 211-219.
- [14] Akar Z, Küçük M, Doğan H. A new colorimetric DPPH• scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2017; 32(1): 640-647. doi:10.1080/14756366.2017.1284068.
- [15] Villaño D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso AM, García-Parrilla MC. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta.* 2007; 71(1): 230-235 .doi:10.1016/j.talanta.2006.03.050
- [16] Calle JC, Espinosa AM, Nuñez CP, Bautista E, Pinzón R. Actividad insecticida del aceite esencial de *Mintostachys mollis* (HBK) Griseb y sus componentes. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.* 2004; 33(2): 137-144.
- [17] Rojas LB, Usubillaga AN. Essential oil of *Minthostachys mollis* Griseb bach from Venezuela. *J. Essent. Oil Res.* 1995; 7(2): 211–213. doi:10.1080/10412905.1995.9698503
- [18] Alkire BH, Tucker AO, Maciarelo MJ. Tipo, *Minthostachys mollis* (Lamiaceae): an Ecuadorian mint. *Econ Bot.* 1994; 48: 60-64. doi:10.1007/BF02901380
- [19] Malagón O, Vila R, Iglesias J, Zaragoza T, Cañigüeral S. Composition of the essential oils of four medicinal plants from Ecuador. *Flavour Fragr J.* 2003; 18(6): 527–531. doi:10.1002/ffj.1262
- [20] Zygadlo UA, Maestri DM, Lamarque A, Guzman CA, Velasco-Negueruela A, Pérez-Alonso M, García-Vallejos M, Grosso NR. Essential oil variability of *Minthostachys verticillata*. *Biochem. Syst. Ecol.* 1996; 24(4): 319-323. doi: 10.1016/0305-1978%2896%2900030-0
- [21] Baren C, Di Leo Lira D, Elechosa M, Molina N, Juarez M, Martínez A, Perelman S, Bandoni A. New insights into the chemical biodiversity of *Minthostachys mollis* in Argentina. *Biochem. Syst. Ecol.* 2014; 57: 374-383. doi:10.1016/j.bse.2014.09.004
- [22] Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJ. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flav Fragr J.* 2008; 23(4): 213-226. doi:10.1002/ffj.1875
- [23] Kato S, Aoshima H, Saitoh Y, Miwa N. Highly hydroxylated or γ -cyclodextrin-bicapped water-soluble derivative of fullerene: The antioxidant ability assessed by electron spin resonance method and β -carotene bleaching assay. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009; 19(18): 5293-5296. doi:10.1016/j.bmcl.2009.07.149.
- [24] Dhifi W, Bellili S, Jazi S, Bahloul N, Mnif W. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A Critical Review. *Medicines.* 2016; 3(4): 25. doi:10.3390/medicines3040025
- [25] Olmedo R, Ribotta P, Grosso NR. Antioxidant activity of essential oils extracted from *Aloysia triphylla* and *Minthostachys mollis* that improve the oxidative stability of sunflower oil under accelerated storage conditions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2018; 120(8): 1800374. doi:10.1002/ejlt.201700374
- [26] Torres-Martínez R, García-Rodríguez YM, Ríos-Chávez P, Saavedra-Molina A, López-Meza JE, Ochoa-Zarzosa A, Garciglia RS. Antioxidant activity of theeEssential oil and its major terpenes of *Satureja macrostema* (Moc. and Sessé ex Benth.) Briq. *Pharmacogn Mag.* 2018; 13(4): S875–S880. doi:10.4103/pm.pm_316_17
- [27] Chircov C, Miclea II, Grumezescu V, Grumezescu AM. Essential oils for bone repair and regeneration-mechanisms and applications. *Materials.* 2021; 14(8): 1867-1887. doi:10.3390/ma14081867
- [28] Basavegowda N, Baek KH. Synergistic antioxidant and antibacterial advantages of essential oils for food packaging applications. *Biomolecules.* 2021; 11(9): 1267-1285. doi:10.3390/biom11091267
- [29] Wu Z, Tan B, Liu Y, Dunn J, Martorell Guerola P, Tortajada M, Cao Z, Ji P. Chemical composition and antioxidant properties of essential oils from peppermint, native Spearmint and Scotch Spearmint. *Molecules.* 2019; 24(15): 2825. doi:10.3390/molecules24152825

[30] Sun Z, Wang H, Wang J, Zhou L, Yang P. Chemical composition and anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of essential oil from leaves of *Mentha piperita* grown in China. PLoS ONE. 2014; 9(12): e114767. doi:10.1371/journal.pone.0114767

[31] Do Nascimento LD, Barbosa de Moraes AA, Santana da Costa K, Pereira-Galúcio J M, Taube P S, Leal C M, Neves J, Aguiar-Andrade H, Guerreiro de Faria L. Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants: New findings and potential applications. Biomolecules. 2020; 10(7): 988-1022. doi:10.3390/biom10070988

[32] Wojtunik K, Ciesla L, Waksmundzka M. Model studies on the antioxidant activity of common terpenoid constituents of essential oils by means of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl method. J Agric Food Chem. 2014; 62(1): 9088–9094. doi: 10.1021/jf502857s

[33] Riachia L, De Maria C. Peppermint antioxidants revisited. Food Chem. 2015; 176(1): 72-81. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.12.028

Toaquiza-Aguagallo Cecilia, Orcid ID: 0000-0002-5068-6691

Cando-Brito Verónica, Orcid ID: 0000-0001-9290-8523

†**Rojas-Fermín Luis**, Orcid ID: 0000-0003-4508-1927

Pérez-Colmenares Alida, Orcid ID: 0000-0001-8910-4663

Aparicio-Zambrano Rosa, Orcid ID: 0000-0002-5020-0954

Obregón-Díaz Ysbelia, Orcid ID: 0000-0001-6152-6696

Artículo original

Actividad antioxidante de los extractos alcohólicos de los frutos de las especies *Manilkara achras* (Mill.) Fosberg (níspero); *Averrhoa carambola* L. (tamarindo chino) y *Spondias mombin* L. (jobo).

Antioxidant activity of the alcoholic extract from the species fruit *Manilkara achras* (Mill.) Fosberg (níspero); *Averrhoa carambola* L. (tamarindo) and *Spondias mombin* L. (jobo).

Toloza Luis¹, Ramírez Jesús¹, Rondón María^{1*}.

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

Recibido: febrero de 2022 –Aceptado: mayo de 2022

RESUMEN

Manilkara achras (Mill.) Fosberg, *Averrhoa carambola* L y *Spondia mombin* L, son futas extensamente cultivadas en diversos países tropicales del mundo. El jugo de estas frutas posee un poder nutricional y antioxidante bastante importante ya que son fuente natural de vitaminas, minerales, fibras y compuestos polifenólicos como taninos y flavonoides. Debido a que la presencia de compuestos fenólicos está estrechamente relacionada con el poder antioxidante de frutas y verduras, en este trabajo cuantificamos la cantidad total de compuestos fenólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu, encontrándose los siguientes valores, *M. achras* $100,2 \pm 0,009$; *A. carambola* $102,7 \pm 0,001$ y *S. mombin* $103,7 \pm 0,027$ mg EAG/100 g peso seco de extracto. Estos resultados guardan concordancia con la evaluación fitoquímica cualitativa realizada a los extractos alcohólicos de estas tres especies, en los cuales la presencia de compuestos tánicos se evidenció marcadamente. Además; compuestos como alcaloides, triterpenos, cumarinas, antraquinonas, flavonoides y glicósidos también fueron observados. Cuando se analizó el poder

antioxidante de los tres extractos etanólicos mediante el método empleando DPPH, la menor IC_{50} se observó en los frutos de *M. achras* ($1,030 \pm 0,032$ mg/mL) seguido por *S. mombin* ($1,366 \pm 0,054$ mg/mL) y finalmente *A. carambola* ($2,807 \pm 0,053$ mg/mL). Estos resultados asoman la posibilidad de incentivar el cultivo y un mayor consumo de estos frutos entre la población venezolana. Una evaluación acerca del valor nutricional de estos frutos; así como del momento más apto para la cosecha en relación al contenido de compuestos polifenólicos debería realizarse en futuras investigaciones.

PALABRAS CLAVES

Actividad antioxidante, frutos, *Manilkara achras*, *Averrhoa carambola*, *Spondia mombin*

ABSTRACT

Manilkara achras (Mill.) Fosberg, *Averrhoa carambola* L. y *Spondia mombin* L, are widely cultivated fruits in various tropical countries of the world. The juice of these fruits has a very important nutritional and antioxidant power since they are a natural source of vitamins, minerals, fibers and

polyphenolic compounds such as tannins and flavonoids. Because the presence of phenolic compounds is closely related to the antioxidant activity of fruits and vegetables, in this work, we quantified the total amount of phenolic compounds using the Folin-Ciocalteu method, finding the following values, *M. achras* 100.2 ± 0.009 ; *A carambola* 102.7 ± 0.001 y *S mombin* 103.7 ± 0.027 mg EAG/100 g dry weight of extract. These results are in agreement with the qualitative phytochemical evaluation carried out on the ethanolic extracts, in which the presence of tannic compounds was markedly evidenced. Furthermore, compounds such as alkaloids, triterpenes, coumarins, anthraquinones, flavonoids and glycosides were also observed. The values of IC_{50} observe to antioxidant activity using DPPH reactive were *M achras* 1.030 ± 0.032 mg/mL; followed by *S mombin* 1.366 ± 0.054 mg/mL and finally *A carambola* $2,807 \pm 0.053$ mg/mL. These results show the possibility of encouraging the cultivation and greater consumption of these fruits among the Venezuelan population. An evaluation of nutritional value of these fruits; as well as the most suitable time for harvest in relation the content of polyphenolic compounds should be carried out in future research.

KEY WORDS

Antioxidant activity, fruits, *Manilkara achras*, *Averrhoa carambola*, *Spondia mombin*

INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que la ingesta de frutas y verduras en la dieta diaria puede reducir la incidencia de algunas enfermedades tales como cáncer [1], enfermedades cardiovasculares [2], artritis [3], hipertensión, enfermedades oculares [4]; entre otras.

Estos efectos están relacionados principalmente con la presencia de vitaminas C y A, betacarotenos, flavonoides y compuestos fenólicos; los cuales pueden ayudar a reducir el estrés oxidativo celular debido a la capacidad que tienen estas sustancias de atrapar radicales libres [5]. Adicionalmente, las

frutas son una fuente importante de fibras, minerales, carbohidratos, aminoácidos, proteínas y otra clases de vitaminas; por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Alimentación y Agricultura de las Naciones Unidas, mejor conocida como FAO, por sus siglas en inglés (Food and Agriculture Organization), han promovido el consumo de frutas y verduras en sus programas de salud alimentaria [6].

Aunque no hay precisión sobre el tipo ni la cantidad óptima de frutas que deben ser consumidas diariamente para mantener la salud humana, numerosas investigaciones se siguen desarrollando para lograr establecer un patrón de consumo de frutas entre la población mundial [7].

Debido a que Venezuela es un país tropical y con una amplia variedad de frutas, existe una fuerte costumbre en la población venezolana por el consumo de frutas bajo distintas presentaciones tales como jugos, mermeladas, yogures, merengadas, helados, postres, etc. Es por esto, que en esta investigación, se analizó la capacidad antioxidante de tres frutos que son tradicionalmente consumidos en el país. *Manilkara achras* (Mill.) Fosberg (Níspero), *Averrhoa carambola* L. (Tamarindo Chino) y *Spondias mombin* L. (Jobo), a los fines de aportar datos sobre los beneficios para la salud del consumo de estos frutos.

Manilkara achras (Mill.) Fosberg, pertenece a la familia Sapotaceae, la cual está compuesta por unos 40 géneros y alrededor de 700 especies con distribución Pantropical, siendo la mayoría, árboles tropicales [8,9]. Esta especie, se cultiva extensamente en India, México, Estados Unidos, Centroamérica (El Salvador, Honduras, Costa Rica y Guatemala) y en Suramérica (Brasil, Ecuador, Colombia y Venezuela) [10].

Concretamente, en la India, el cocimiento de los frutos de esta especie se emplea como antidiarreico y es muy útil en afecciones bronquiales. Estos usos están relacionados con el alto contenido de compuestos fenólicos tanto en la cáscara como en la pulpa del fruto [11]. Además, estudios *in vitro* revelan que los frutos poseen una importante actividad antioxidante [12], antimicrobiana [13], antiinflamatorio [14] y antitumoral [15].

Estudios fitoquímicos sobre el fruto de *M. achras* demuestran la presencia de flavonoides

como quercetina, catequinas, epicatequinas y canferol; taninos como ácido gálico y ácido elágico; carotenoides como el licopeno, ácidos como el cinámico, ferúlico, clorogénico [11] y triterpenos y saponinas. Además presentan un alto valor nutricional debido al contenido de proteínas, azúcares reductores y minerales como hierro, fosforo, calcio, magnesio, sodio, potasio y vitaminas A y C [16].

El fruto de *M. achras* puede ser ovalado, achatado, de forma elipsoidal de unos 7-9 cm de ancho. La cáscara puede ser dura cuando esta inmadura de color marrón, que luego ablanda cuando se va haciendo maduro. La pulpa del fruto es de color marrón amarillento (figura 1) [17].

Tamarindo chino (*Averrhoa carambola* L.) es un árbol perenne perteneciente a la familia Oxalidaceae, conformada por 950 especies, entre ellas, 10 pertenecientes al género *Averrhoa* L. Muchas especies de esta familia destacan por su potencial actividad antioxidante [18]. Aunque es nativa de Malasia, es ampliamente cultivada en el sureste de Asia, India y en Suramérica (Bolivia, Brasil, Colombia, Perú y Venezuela) [19].

Tanto las raíces, corteza, hojas y frutos de esta especie han sido utilizada en medicina tradicional en Brasil, China, Malasia entre otros para tratar distintas afecciones. En Malasia por ejemplo; el cocimiento de los frutos se utiliza para tratar la fiebre, vómitos, aftas y angina [20]; mientras que en Sri Lanka, los frutos de *A. carambola*, son usados para el tratamiento de la diabetes mellitus debido al efecto hipoglicémico que poseen [21]. En Brasil, el jugo de los frutos ha sido utilizado para prevenir la diabetes, hipertensión y algunas enfermedades del tracto urinario [22]. En la India, es empleado el cocimiento de los frutos para tratar la diarrea y las hemorragias por hemorroides [23].

El alto valor nutricional de los frutos de *A. carambola*, los convierte en un alimento bastante apreciado en numerosos países, y en consecuencia con una alta comercialización del

mismo. El jugo de la fruta contiene vitaminas A, C, B1 y B2; potasio, fósforo, magnesio, calcio, sodio, zinc, cobre y manganeso. Además posee importantes cantidades de celulosa, hemicelulosa y pectinas involucradas en el control de los niveles de azúcar en sangre [24].

Una extensa revisión sobre la fitoquímica y propiedades farmacológicas de los frutos de *A. carambola* realizada por Luan y colaboradores en 2021 [19], demuestra que flavonoides, terpenos, compuestos fenólicos, cumarinas, lignanos y fenilpropanoides son los principales metabolitos secundarios presentes. Asimismo; esta revisión demuestra que varios usos tradicionales dados a estos frutos en diferentes países han sido comprobados mediante estudios *in vitro*. Así, la actividad antioxidante, hipoglucémica, antitumoral, hiperlipidémica, antiinflamatoria, hepatoprotectora, antihipertensora y antimicrobiana han quedado demostradas.

El fruto de *A. carambola* es una baya de forma ovoide o elipsoidal de sección transversal estrellada, mide de unos 8-15 cm de longitud, es de color amarillo, que presenta entre 3 y 5 costillas bien marcadas. La cáscara es lisa y cerácea. Su pulpa es de color amarillo claro, de sabor ácido, jugosa y crocante (figura 1) [25].

Jobo (*Spondias mombin* L.) pertenece a la familia Anacardiaceae, crece extensamente en las zonas tropicales de Centro y Suramérica, y también en Asia y África. Sus frutos tienen un alto valor comercial ya que su sabor y aroma son muy agradables por lo que se aprovecha en la preparación de jugos y mermeladas. En Venezuela, el mayor consumo de estos frutos se da en la zona oriental del país donde se preparan diferentes postres y helados a partir de la pulpa de la fruta.

El fruto de *Spondias mombin* es una drupa ovoide llegando a medir entre 3-5 cm de longitud, de piel suave y amarilla y sabor agridulce (figura 1)[26].

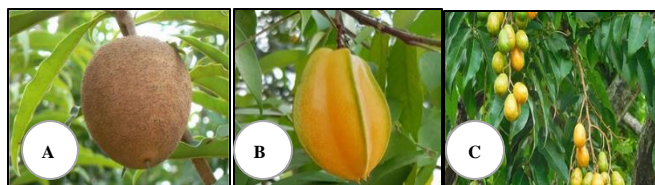


Fig. 1. Frutos de *Manilkara achras* (A); *Averrhoa carambola* (B) y *Spondias mombin* (C) (Fuente: www.google.com)

Esta fruta posee un contenido nutricional importante ya que es rica en minerales tales como potasio, sodio, magnesio, fósforo, manganeso, calcio, cobre, hierro y aluminio. Adicionalmente, la presencia de un alto contenido de carotenoides también ha sido detectada en estos frutos [27].

El cocimiento de las hojas, corteza y frutos de *S mombin* ha sido útil en casos de diarrea, vómito, fiebre, también como antimicrobiano y diurético [28]. Debido a que la presencia de compuestos fenólicos en los frutos está fuertemente relacionada a la capacidad antioxidante de los mismos, en este estudio se evaluó la cantidad de fenoles totales y poder antioxidante de los extractos de tres frutos consumidos frecuentemente por la población venezolana. Con esta investigación, esperamos poder contribuir al conocimiento del poder antioxidante de estos frutos que se cultivan en Venezuela, ya que hasta el momento no se ha reportado en la literatura científica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: Los frutos de las especies *Manilkara achras* (Mill.) Fosberg, *Averrhoa carambola* L. y *Spondias mombin* L., fueron recolectados en enero de 2019 en la localidad El Pao de Puerto Ordaz, Ciudad Guayana, Estado Bolívar, Venezuela. Fueron seleccionados completamente sanos y maduros e identificados por el Ingeniero Juan Carmona Arzola, empleando como muestras testigos las especímenes depositadas en el Herbario Luis Ruiz Terán de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Preparación de los extractos: Los frutos fueron debidamente lavados y troceados para eliminar las semillas. El material fresco fue desecado mediante estufa a 40°C y posteriormente molido. La extracción de este material se realizó por maceración hasta agotamiento empleando etanol. Cada extracto fue filtrado y concentrado hasta total sequedad empleando rotavapor al vacío. Los extractos obtenidos fueron pesados y mantenidos en refrigeración a 4°C en envases de vidrio herméticamente cerrados y rotulados hasta el desarrollo de los análisis.

Tamizaje fitoquímico: Los extractos crudos fueron cualitativamente evaluados para determinar la presencia de alcaloides, flavonoides, fenoles, saponinas, antraquinonas, triterpenos, esteroides, taninos, cumarinas y glucósidos, de acuerdo a la metodología estándar empleada para este fin [29]. Los cambios de coloración o formación de precipitados fueron usados para indicar una respuesta positiva a las pruebas empleadas.

Determinación del contenido total de fenoles: La cuantificación de fenoles totales de cada extracto se realizó mediante el método colorimétrico empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu [30]. 1 mL de cada extracto previamente diluido en etanol, fue mezclado con 0,5 mL de una solución del reactivo de Folin-Ciocalteu a una concentración $6,0 \times 10^{-5}$ mM, dos minutos después se añadió 8 mL de una solución de carbonato de sodio 0,7 M. La mezcla fue dejada en reposo a temperatura ambiente por 30 minutos. La absorbancia fue medida empleando un espectrofotómetro UV-visible marca Genesys 10 Bio a 760 nm. La curva de calibración se realizó preparando una solución standard de ácido gálico a 10, 20, 25, 40, 50 mg/mL. Los resultados fueron expresados en mg/equivalentes de ácido gálico (EAG) / 100 g de peso seco del extracto a partir del uso de la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido} = \frac{\text{Cex} * \text{Vex}}{\text{Pm}} * 1000$$

Donde: Pm es el peso de la muestra utilizado, Vex es el volumen de extracto utilizado y Cex la concentración encontrada en el extracto. Estos ensayos fueron realizados por duplicado.

Actividad antioxidante: La capacidad antioxidante de cada extracto fue medida empleando el método descrito por Lai [31]. 2,8 mL de una solución metanólica de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) a 6×10^{-2} mM fue adicionado a 200 µL de las diluciones a 15, 30, 60, 125, 250 y 500 µg/mL, de cada extracto preparadas a partir de una solución stock de 4 mg/mL. Cada mezcla fue agitada empleando un vortex y mantenida en oscuridad por 30 minutos. La absorbancia fue medida empleando un espectrofotómetro

UV-visible marca Genesys 10 Bio a 517 nm. Como control negativo se empleó una solución de 2,8 mL de DPPH en 200 µL de metanol; mientras que como referencia estándar de sustancia antioxidante, se empleó una solución de ácido ascórbico a una concentración de 176 mg/mL. Los resultados fueron expresados en porcentaje de inhibición (% I) y fueron calculados siguiendo la siguiente ecuación [31]:

$$\%I = \frac{Abs_{DPPH} - Abs_{Muestra}}{Abs_{DPPH}} * 100$$

La concentración necesaria para obtener el 50% de la capacidad máxima de captación de radicales libres (IC₅₀) se calculó mediante regresión lineal. Los datos se reportan por triplicado

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos etanólicos de las especies *Manilkara achras* (Mill.) Fosberg, *Averrhoa carambola* L. y *Spondias mombin* L., se muestran en la Tabla 1.

Como se puede apreciar en la Tabla 1, los taninos, alcaloides, glicósidos y flavonoides se observaron en todos los extractos de forma abundante y moderada. Así, un precipitado negro azulado cuando se agregó una solución de cloruro férrico al 5%, indicó la presencia de taninos en todas las muestras, lo cual se confirmó con la formación de un precipitado copioso blanco cuando se empleó una solución de gelatina al 1%. Aunque poco frecuente en frutos, las pruebas utilizadas para la determinación de alcaloides resultaron positivas en todas las muestras. Los frutos de *Averrhoa carambola* han dado positivo a la prueba de alcaloides en otras investigaciones previamente reportadas en la literatura [18]. El test para triterpenos empleando el reactivo Salkowski mostró la positividad en todos los casos con la formación de una coloración rojiza en todas las muestras; mientras que las antraquinonas estuvieron presente en *Spondias mombin* y *Averrhoa carambola*; y las cumarinas solo se observaron en el extracto de *Spondias mombin*. No se evidenció la presencia de saponinas en ninguno de los extractos analizados.

TABLA 1.

Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos de los frutos de *Manilkara achras*, *Averrhoa carambola* y *Spondias mombin*

| Muestras | Alcaloides | | | Flavonoides | | Saponinas | Cumarinas |
|---------------------------|------------|--------------------------|------|----------------------|----------|---------------|--------------------------------|
| | RD | RM | RW | RS | NaOH 10% | Espuma | NH ₄ OH/UV |
| <i>Averrhoa carambola</i> | ++ | ++ | ++ | - | +++ | - | - |
| <i>Manilkara achras</i> | ++ | + | ++ | + | +++ | - | - |
| <i>Spondias mombin</i> | ++ | ++ | + | - | +++ | - | + |
| Muestras | Glicósidos | Triterpenos y esteroides | | Taninos | | Antraquinonas | |
| | RK-K | RS* | RL-B | FeCl ₃ 5% | RG | RB | H ₂ SO ₄ |
| <i>Averrhoa carambola</i> | +++ | + | - | ++ | +++ | - | ++ |
| <i>Manilkara achras</i> | +++ | + | - | +++ | +++ | - | - |
| <i>Spondias mombin</i> | +++ | + | - | ++ | +++ | +++ | + |

(-): ausente; (+): escaso; (++): moderado; (+++): abundante

RD: Reactivo de Dragendorff; RM: Reactivo de Mayer; RW: Reactivo de Wagner; RB: Reactivo de Bortrager; RS*: Reactivo de Salkowski; RL-B: Reactivo Lieberman-Bouchard; RG: Solución de Gelatina 1%; RK-K: Reactivo Keller-Killiani

Contenido total de fenoles: El contenido total de compuestos fenólicos en cada extracto fue determinado usando la ecuación de regresión lineal empleando ácido gálico como patrón estándar ($y=0,0251x-0,1211$) $r^2=0,9944$. Los resultados se muestran en la Tabla 2. Todos los extractos

mostraron presencia de sustancias tánicas tal como se evidenció en las pruebas de tamizaje fitoquímico empleando una solución de cloruro férrico al 10% y una solución de gelatina al 1%. Llama la atención que las tres muestras mostraron un contenido fenólico muy similar en el rango de

100,2 y 103,7 mg equivalente de ácido gálico (GAE)/100 g de extracto seco.

TABLA 2.

Contenido total de fenoles de los extractos alcohólicos de los frutos de *Manilkara achras*, *Averrhoa carambola* y *Spondias mombin*

| Muestra | FT mg EAG/100 g peso seco de extracto |
|---------------------------|---------------------------------------|
| <i>Averrhoa carambola</i> | 102,7 ±0,001 |
| <i>Manilkara achras</i> | 100,2 ±0,009 |
| <i>Spondias mombin</i> | 103,7± 0,027 |

Haciendo una revisión bibliográfica sobre la cuantificación del contenido total de fenoles (**CTF**) presentes en estos frutos que crecen en países tropicales, se encontraron algunas similitudes, y en otros casos, diferencias significativas con respecto a los hallados en nuestra investigación. Por ejemplo; los valores del **CTF** en los frutos de *Achras sapota* L.(syn. *Manilkara sapota*) que crece en la India fueron 134,6 ±4,5 [12b] y 115,14±3,2 [32]; mostrando similitud a los encontrados en nuestra investigación; mientras que los hallados en aquellos frutos provenientes de Malasia fue de tan solo 23,01 ± 0,09 mgEAG/100g [12^a], significativamente más bajos a los encontrados en el caso de frutos que crecen en Venezuela.

Cuando se revisó el **CTF** reportados para los frutos de *A. carambola*, pudimos observar que el valor hallado para el extracto etanólico de los frutos recolectados en Venezuela son significativamente mayores que los encontrados en los extractos etanólicos de los frutos recolectados en Brasil (33,39±0,35 mgEAG/100 g) [33] y que los recolectados en Malasia (72,42 ±2,98 mgEAG/100g) [18], pero mucho menor que el reportado también en otra región de Malasia (234,89±19,85 mgEAG/100g) [34]. En relación a este último resultado, es importante resaltar que los autores analizaron la variación del contenido total de fenoles de los frutos en relación al tiempo desde que se preparan los extractos y el momento del análisis cuantitativo del contenido de fenoles totales, y pudieron determinar cambios importantes en el valor del **CTF**, ya que la concentración inicial de fenoles totales (234,89±19,85 mgEAG/100g) disminuyó un 44% a la novena semana y un 63% hasta la semana número 13 después de haberse preparado dicho extracto. Estos resultados sugieren que la cuantificación de esta clase de metabolitos

debería realizarse durante los siguientes primeros días después de recolectados los frutos para tener un valor más aproximado al que realmente contienen dichos frutos.

Con respecto a los valores del **CTF** de los frutos de *S. mombin* reportados en la literatura, se evidenció que los valores obtenidos en la presente investigación fueron significativamente diferentes a los reportados por Reyes-Munguía y colaboradores a partir de los frutos recolectados en San Potosí (México), (57,92±0,05 mg EAG/L) [35], Tiburski en Brasil (260 mg EAG/100 g) [27]; Abiodum y colaboradores en Nigeria (239,50 ±7,9 mg EAG/g) [28] y Silva y colaboradores en Ceará, Brasil quienes reportaron valores que oscilan entre 34 ±0,4 y 128 ±0,5 mg EAG/g dependiendo de la época de recolección del fruto [36].

Existen factores medio ambientales tales como la temperatura, clima, tipo de suelos, entre otros; que puede influir en la cantidad de compuestos fenólicos encontrados en los frutos recolectados en las diferentes localidades. Pero además; existen también otros elementos tales como el estado fisiológico del fruto al momento de la recolección, lo cual repercute en la cantidad de compuestos fenólicos cuantificados. Una evidencia de este hecho fue demostrada por Silva y colaboradores, en un análisis fitoquímico realizado sobre los frutos de *S. mombin* recolectados en diferentes periodos de madurez de los frutos. Se observó que la cantidad de fenoles decae a medida que el fruto va madurando y adquiere una consistencia más blanda. Esto mismo ha sido observado para el contenido total de vitamina C en la pulpa de *S. mombin* [36]. El contenido de fenoles suele ser mayor en frutos inmaduros ya que este tipo de metabolitos está relacionado el mecanismo de defensa para la protección de los frutos inmaduros que permitan su crecimiento y maduración [37]. Por otro lado, una disminución del contenido total de fenoles en los frutos mejora las características sensoriales de los mismos ya que se percibiría menor astringencia al momento de ser consumidos [38].

Actividad antioxidante: La evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de *A. carambola*, *S. mombin* y *M. achras* se desarrolló empleando el reactivo DPPH

(2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3. Los valores de inhibición de los extractos fueron expresados a la concentración de 4 mg/mL.

TABLA 3.

Porcentajes de inhibición y valores de IC_{50} de los extractos alcohólicos de los frutos de *Manilkara achras*, *Averrhoa carambola* y *Spondias mombin*

| Muestra | %I | IC_{50} |
|---------------------------|-------|-------------|
| <i>Averrhoa carambola</i> | 90,79 | 2,807±0,053 |
| <i>Manilkara achras</i> | 97,69 | 1,030±0,032 |
| <i>Spondias mombin</i> | 92,38 | 1,366±0,054 |

Como se puede observar, la mejor actividad antioxidante se observó en el extracto etanólico de los frutos de *Manilkara achras* con un valor de IC_{50} de 1,030±0,032 mg/mL; seguido de *Spondias mombin* 1,366±0,054 mg/mL y finalmente *Averrhoa carambola* con 2,807±0,053 mg/mL.

Estudios previos reportan valores de IC_{50} para los extractos alcohólicos de *S mombin* entre 12,5 ±1,2 mg/mL [36] y 5,86 ±1,49 mg/mL [28]; *A carambola* 66,37±2,44 mg/mL [18]; 9,082 mg/mL [33], y *M achras* 0,309±0,08 mg/mL [12^a]; 8,75±4,5 mg/mL [12b].

Haciendo una análisis comparativo con los resultados obtenidos en otras investigaciones en las que se han realizado análisis del poder antioxidante de los frutos frescos de *M achras*, *S mombin* y *A carambola*, algunas diferencias fueron halladas. Algunos estudios indican que particularmente en los frutos, un conjunto de compuestos químicos con propiedades antioxidante están presentes (vitamina A, ácido ascórbico, betacarotenos, flavonoides y taninos), pero son los compuestos polifenólicos (catequinas y pirocatequinas) los que mostraron una mejor capacidad secuestradora de radicales libres [12b, 39]. Es importante señalar que la presencia de compuestos polifenólicos decrece con la maduración de los frutos y por lo tanto la capacidad antioxidante de los frutos también va disminuyendo con el paso del tiempo observándose valores significativamente menores en frutos muy maduros. Aunque no es fácil determinar con exactitud la capacidad antioxidante ni el contenido total de compuestos fenólicos en los frutos debido a que pueden haber variaciones

importantes por las condiciones de los cultivos, etapas de las cosechas y al grado de maduración de los frutos al momento de adquirirlos en el supermercado; se observó una acción antioxidante importante en los frutos examinados, por lo que se puede asumir que el consumo de los mismos brinda un beneficio importante para la salud humana. Es importante tomar en cuenta que los frutos deben ser consumidos lo más pronto posible después de la recolección de los mismos para aprovechar mejor el contenido de compuestos nutraceuticos capaces de disminuir el efecto de radicales libres en el organismo y así poder aprovechar mejor los beneficios del consumo de estas frutas.

CONCLUSIONES

La presente investigación contribuye con la búsqueda de fuentes naturales de compuestos polifenólicos con potencial antioxidante. Con los resultados obtenidos, se reporta por primera vez el análisis fitoquímico, contenido total de fenoles y capacidad antioxidante de los frutos de *M. achras*, *S mombin* y *A carambola* que crecen en Venezuela, los cuales pueden ser considerados como alimentos promotores de la salud ya que todo mostraron un efectivo poder antioxidante por lo cual puede contribuir al atrapamiento de radicales libres responsables del desarrollo de numerosas enfermedades degenerativa y graves en los seres humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Robles-Agudo F, Sanz-Segovia F, López-Arrieta JM, Beltrán de la Ascensión M. Alimentación y Cáncer. Rev Esp Geriatr Gerontol. 2005; 40 (3): 184-194.
- [2] Zhao CN, Meng X, Li Y, Li S, Liu Q, Tang GY, Li HB. Fruits for prevention and treatment of cardiovascular diseases. Nutrients. 2017; 9(6): 598-627. doi: 10.3390/nu9060598.
- [3] Basu A, Schell J, Scofield RH. Dietary fruits and arthritis. Food Funct. 2018; 9 (1): 70-77. doi: 10.1039/c7fo01435j.
- [4] Hung HC, Joshipura KJ, Jiang R, Hu FB, Hunter D, Smith-Warner SA, Colditz GA, Rosner

- B, Spiegelman D, Willett WC. Fruit and Vegetable Intake and Risk of Major Chronic Disease. *J Nat Cancer Inst.* 2004; 96(21): 1577-1584.
- [5] Wang H, Cao G, Prior RL. Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem.* 1996; 44, 701-705.
- [6] **a)** World Health Organization: Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 2003:916; **b)** Más fruta y hortalizas-Departamento de Agricultura y Protección del Consumidor. [acceso: 01 de Marzo de 2022]. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/esp/revista/0606sp2>.
- [7] Roark RA, Niederhauser VP. Fruit and vegetable: issues with definition and measurement. *Public Health Nutr.* 2013; 16(1): 2-7. doi: 10.1017/S1368980012000985
- [8] Takhtadzhian AL, Takhtajan A. Diversity and classification of flowering plants. Columbia University Press. 1997.
- [9] Schultes RE, Raffauf RF. The healing forest: medicinal and toxic plants of the Northwest Amazonia. Oregon (United States): Dioscorides Press; 1990.
- [10] Hokche O, Berry PE, Huber O. Trópicos.org [27 de enero de 2022]. Disponible en: <https://www.tropicos.org/name/28700370>
- [11] Pravin K, Shashikant D. *Manilkara zapota* (L.) Royen fruit Peel: A phytochemical and pharmacological review. *Sys Rev Pharm.* 2019; 10(1): 11-14
- [12] **a)** Shafii ZA, Basri M, Malek EA, Ismail M. Phytochemical and Antioxidant Properties of *Manilkara zapota* (L.) P Royen Fruit Extracts and its Formulation for Cosmeceutical Application. *Asian J Pant Scien Res.* 2017; 7(3): 29-41. **b)** Kulkarni AP, Policegoudra RS, Aradhya SM. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Sapota (*Achras sapota* Linn) Fruit. *J Food Biochem.* 2007; 31(3): 399-414.
- [13] Kaneria M, Chanda S. Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of *Manilkara zapota* L. (chiku) leaves by sequential soxhlet extraction method. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012, 2(3): 1526-1533.
- [14] Leelarungrayub J, Sriboonreung T, Pothasak Y, Kaju J, Puntumetakul R. Anti-oxidant and Anti-inflammatory Activities of *Manilkara zapota* (Sapodilla) *In vitro* and Efficiency in Healthy Elderly Persons. *Biomed J Sci Tech Res.* 2019; 15(2): 11294-11306
- [15] Khalek MA, Ziasmin KM, Rowshanul H, Rezaul KM. Antitumor Activity of *Manilkara zapota* (L.) fruits against ehrlich ascites carcinoma in mice. *Biologija.* 2015, 61(3-4): 12-22.
- [16] Aguirre MV. Usos de Chicozapote (*Manilkara zapota*) en México. [Tesis pregrado]. Ciudad de México. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional; 2016.
- [17] Laxminarayana S, Subramanyam H. Physical chemical and physiological changes in Sapota fruit (*Achras sapota* Linn.) (Sapotaceae) during development and ripening. *J Food Sci Technol.* 1966; 3(4):151-4.
- [18] Asna AN, Noriham A. Antioxidant activity and bioactive components of Oxalidaceae fruit extract. *Malaysian J Anal Sci.* 2014; 18(1): 116-126.
- [19] Luan F, Peng L, Lei Z, Jia Z, Zou J, Yang Y, He X, Zeng N. Traditional uses, phytochemical constituents and pharmacological properties of *Averrhoa carambola* L.: A Review. *Front Pharmacol.* 2021; 12:699899 doi: 10.3389/fphar.2021.699899
- [20] Yang Y, Xie, H, Jiang Y, Wei X. Flavan-3-ols and 2- Diglycosyloxybenzoates from the leaves of *Averrhoa carambola*. *Fitoterapia.* 2020; 140, 104442. doi: 10.1016/j.fitote.2019.104442
- [21] Abeysekera RA, Wijetunge S, Nanayakkara N, Wazil AW, Ratnatunga NV, Jayalath T. Star fruit toxicity: a cause of both acute kidney injury and chronic kidney disease: a report of two cases. *BMC Res Notes.* 2015; 8(1): 796-799. doi: 10.1186/s13104-015-1640
- [22] Vasconcelos CML, Araújo MS, Conde-García EA. Electrophysiological effects of the aqueous extract of *Averrhoa carambola* L. leaves on the Guinea Pig Heart. *Phytomedicine.* 2006; 13 (7): 501-508. doi:10.1016/j.phymed.2005.01.013
- [23] Vasant RA, Narasimhacharya AVR. Antidotal activity of *Averrhoa carambola* (Star Fruit) on fluoride induced toxicity in rats. *Interdiscip Toxicol.* 2014; 7(2): 103-110. doi: 10.2478/intox-2014-0014
- [24] Lakmal K, Yasawardene P, Jayarajah U, Seneviratne SL. Nutritional and medicinal properties of star fruit (*Averrhoa carambola* L.): A review. *Food Sci Nutr.* 2021; 9(3): 1810-1823. doi:10.1002/fsn3.2135.

- [25] Crane JH. The Carambola (star fruit). Florida Cooperative Extension Service. [acceso: 27 de febrero de 2022]. Disponible en: http://university.uog.edu/cals/people/PUBS/Carambol/MG_26900.
- [26] Bosco J, Soares KT, Aguiar-Filho SP, Barros RV. A cultura da cajazeira. Sao Paulo (Brasil): João Pessoa: EMEPA-PB; 2000. 1-29.
- [27] Tiburski JH, Rosenthal A, Deliza R, de Oliveira RL, Pacheco S. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. *Food Res Int*. 2011; 44 (7): 2326-2331.
- [28] Abiodun OO, NNoruka ME, Tijani RO. Phytochemical constituents, antioxidant activity and toxicity assessment of the seed of *Spondias mombin* L (Anacardiaceae). *Turk J Pharm Sci*. 2020; 17(3): 343-348. doi: 10.4274/tjps.galenos.2020.38801
- [29] Harbone JB. *Phytochemical Methods. An Guide to modern techniques of plant analysis*. Londres (Reino Unido): Chapman and Hall: 1973. 49-188.
- [30] Singleton VL, Orthofer R, Lamanuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 1999; 299: 152-178.
- [31] Murillo EO, Lombo M, Tique M, Méndez MM. Potencial antioxidante de *Bauhinia kalbreyeri* Harms (Fabaceae). *Inf Tecnol*. 2007; 18(6): 65-74.
- [32] Singh JP, Kaur A, Shevkani K, Singh N. Composition bioactive compounds and antioxidant activity of common Indian fruits and vegetables. *J Food Sci Tech*. 2016; 53(11): 4056-4066.
- [33] Henrique H, Moresco GS, Queiroz MG, Pizzolatti I, Brighente MC. Chemical constituents and evaluation of the toxic and antioxidant activities of *Averrhoa carambola* leaves. *Braz J Pharmacog*. 2012; 22(2): 319-324.
- [34] Zainudin MAM, Hamida AA, Anwar F, Osman A, Saari N. Variation of bioactive compounds and antioxidant activity of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit at different ripening stages. *Sci Hortic*. 2014; 172 325–331.
- [35] Reyes-Munguía A, Delgado-González P, Martini-Morales SE. Antioxidant activity Jobo's pulp (*Spondia mombin* L). *Ecorfan J*. 2016; 2(2): 1-11.
- [36] Silva TL, da Silva EP, Asquieri E, Vieira EC, Silva J, da Silva FA, Damiani C. Physicochemical characterization and behavior of biocompounds of caju-manga fruit (*Spondias mombin* L.). *Food Sci. Technol*. 2018; 38(3): 399-406. doi: 10.1590/fst.03717
- [37] Fennema OR. *Food Chemistry*. New York (United States): Marcel Dekkan; 1996. 1125.
- [38] Degáspari CH, Waszczyński N, Prado M R. Actividad antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Cienc Agrotec*. 2005; 29(3): 617-622. doi: 10.1590/S 1413-70542005000300016
- [39] Shui G, Wong SP, Leong LP. Characterization of antioxidants and change of antioxidant levels during storage of *Manilkara zapota* L. *J Agric Food Chem*. 2004; 52(26): 7834-7841. doi: 10.1021/jf0488357

Toloza Luis, Orcid ID: 0000-0002-7374-3695

Ramírez Jesús, Orcid ID: 0000-0003-0733-4401

Rondón María, Orcid ID: 0000-0003-2393-751X

Artículo original

Derivados hemisintéticos del *ent*-kaurenol y evaluación de su actividad antimicrobiana.

Hemisynthetic derivatives of *ent*-kaurenol and evaluation of their antimicrobial activity.

Hamdan-Sánchez Mager¹, †Rojas-Fermín Luis¹, Obregón-Díaz Ysbelia^{1*}, Aparicio-Zambrano Rosa¹, Pérez-Colmenares Alida¹, Cordero Yndra², Díaz Clara³, Da Silva-Rojas Jossblerys⁴, Usubillaga Alfredo¹.

¹Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. ²Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. ³Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, C.P. 5101 Venezuela. ⁴Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científica (IVIC), Miranda, C.P. 1221 Venezuela.

Recibido: marzo de 2022–Aceptado: junio de 2022

RESUMEN

La obtención de seis nuevos derivados hemisintéticos a partir de *ent*-kaurenol (**I**), se realizó mediante la reacción de esterificación de Steglich empleando los ácidos *p*-cloro-fenil-acético, *o*-cloro-fenil-acético, *m*-cloro-fenil-acético, *p*-bromo-fenil-acético, nicotínico y salicílico; utilizando la combinación de dicitohexilcarbodiimida (DCC, agente de acoplamiento), 4-dimetilaminopiridina (DMAP, catalizador nucleofílico) y como solvente el diclorometano. Todos los compuestos fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas de IR y RMN uni y bidimensionales, lográndose identificar como *ent*-kaur-19-O-[2'-(*p*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**II**), *ent*-kaur-19-O-[2'-(*o*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**III**), *ent*-kaur-19-O-[2'-(*m*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**IV**), *ent*-kaur-19-O-[2'-(*p*-bromo-fenil)-carboximetil]-16-eno (**V**), *ent*-kaur-19-O-(*m*-piridil-carboxil)-16-eno (**VI**) y *ent*-kaur-19-O-(*o*-hidroxi-fenil-carboxil)-16-eno (**VII**). Estos compuestos no presentaron actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en

agar en pozo frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* a una concentración de 2 mg/mL.

PALABRAS CLAVE

Diterpenos, *ent*-kaureno, *ent*-kaurenol, esterificación de Steglich, actividad antimicrobiana.

ABSTRACT

Six new hemisynthetic derivatives were obtained from *ent*-kaurenol (**I**), this was performed by the Steglich esterification reaction using *p*-chloro-phenyl-acetic acid, *o*-chloro-phenyl-acetic acid, *m*-chloro-phenyl-acetic, *p*-bromo-phenyl-acetic, nicotinic and salicylic; using the combination of dicyclohexylcarbodiimide (DCC, coupling agent), 4-dimethylaminopyridine (DMAP, nucleophilic catalyst) and dichloromethane as solvent. All compounds were characterized by one- and two-dimensional NMR,

IR spectroscopic techniques and were identified as *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-chloro-phenyl)-carboxymethyl]-16-ene (**II**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*o*-chloro-phenyl)-carboxymethyl]-16-ene (**III**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*m*-chloro-phenyl)-carboxymethyl]-16-ene (**IV**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-bromo-phenyl)-carboxymethyl]-16-ene (**V**), *ent*-kaur-19-*O*-(*m*-pyridyl-carboxyl)-16-ene (**VI**) and *ent*-kaur-19-*O*-(*o*-hydroxy-phenyl-carboxyl)-16-ene (**VII**). These compounds did not exhibit antimicrobial activity by the well agar diffusion method against ATCC strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* at the concentration of 2 mg/mL.

KEY WORDS

Diterpenes, *ent*-kaurene, *ent*-kaurenol, Steglich esterification, hemisynthetic derivatives.

INTRODUCCIÓN

El *ent*-kaur-16-en-19-ol denominado *ent*-kaurenol es un diterpeno tetracíclico que fue sintetizado por primera vez por Mori y cols. (1966), este compuesto se detectó inicialmente en el endospermo de *Echinocystis macrocarpa* Greene (Cucurbitaceae), como uno de los productos intermediarios en la bioconversión del *ent*-kaureno en ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico en la biosíntesis de las giberelinas [1,2]. El aislamiento y caracterización como producto natural lo realizaron por primera vez Piozzi y cols. (1971) a partir de *Espeletia grandiflora*, posteriormente fue obtenido de *Anona squamosa* L. [3,4].

Por ser el *ent*-kaurenol uno de los precursores de las giberelinas, está presente en todas las plantas [3]; en tal sentido, se ha reportado en *Euphorbiaceae xerophilic* (*Ricinocarpus*, *Beyeria*) y en especies de la subtribu *Espeletiinae* como *Espeletia semiglobulata*, *Espeletia nana* y *Espeletopsis angustifolia* de las cuales existen estudios que indican que la fracción neutra de los extractos apolares de diferentes partes de estas plantas contiene un 30,0%, 7,1%; y 5,7% de *ent*-kaurenol, respectivamente [5-7]. Investigaciones preliminares reportan interesantes actividades

farmacológicas del *ent*-kaurenol como es la actividad antiparasitaria frente al *Trypanosoma cruzi* al inhibir la enzima transcriptasa inversa [8,9], otros estudios señalan que este diterpeno estimula la producción de corticosterona y aumenta el efecto estéreo diogénico en células adrenales y granulosa de ratas y de aves [10-12].

Existe un número importante de derivados hemisintéticos del *ent*-kaurenol, Baptista y cols. (2007) lograron obtener derivados epoxidados y glicosilados como *ent*-16,17-epoxi-19 α -hidroxi-kaurano, *ent*-19 α -acetoxi-kaur-16-eno, *ent*-19 α -acetoxi-16,17-epoxi-kaurano y el 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosido de *ent*-kaurenilo [13]. Asimismo, Aparicio y cols. (2007) reportan la preparación del *ent*-15 α ,19 α -dihidroxi-kaur-16-eno y *ent*-15,16-epoxi-17,19 α -dihidroxi-kaurano al tratar el *ent*-kaurenol con SeO₂/H₂O₂ [14]. De igual modo, Hueso y cols. (2011) realizaron esterificaciones del *ent*-kaurenol obteniendo dos derivados hemisintéticos: *ent*-19 α -acetoxi-kaur-16-eno y el dímero del ácido *ent*-kaur-19 β -(19 α -hidroxi-16-kaurenil)-16-en-sulfínico [15].

La presente investigación reporta la obtención y caracterización de seis nuevos derivados a partir de *ent*-kaurenol mediante la reacción de esterificación de Steglich empleando los ácidos *p*-cloro-fenil-acético, *o*-cloro-fenil-acético, *m*-cloro-fenil-acético, *p*-bromo-fenil-acético, nicotínico y salicílico. Siendo este un método muy conveniente para la síntesis de una amplia variedad de ésteres, además de ser una reacción versátil que puede ser aplicada a una amplia variedad de ácidos y alcoholes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedimientos generales: Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Fisher Johns y no están corregidos. Los espectros infrarrojo (IR) se realizaron en un espectrófotometro Perkin Elmer Spectrum versión 10.03.06. Modelo de instrumento: Spectrum two, sobre celdas de NaCl. Los experimentos de resonancia magnética nuclear (¹H, ¹³C, DEPT-135, H-H-COSY, HMQC y HMBC) se realizaron en un espectrómetro Bruker-Ascend TM Biospin de 600 MHz en soluciones de CDCl₃. Para cromatografía en capa fina se usaron

placas de gel de sílice Merck 60 F254 y para cromatografía de columna gel de sílice Merck de 230-400 Mesh, la elución se llevó a cabo con una mezcla de Hexano:CH₂Cl₂ (80:20). Los ácidos *p*-cloro-fenil-acético, *o*-cloro-fenil-acético, *m*-cloro-fenil-acético, *p*-bromo-fenil-acético, nicotínico y salicílico se adquirieron de la compañía Aldrich (Milwaukee, USA). Otros reactivos como diciclohexilcarbodiimida (DCC) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) se adquirieron de la compañía Merck y no se purificaron antes de usarlos. Se utilizó hexano, diclorometano, acetona y acetato de etilo grado técnico previa destilación.

Obtención del *ent*-kaur-16-en-19-ol (I): El compuesto **I**, denominado comúnmente *ent*-kaurenol fue obtenido de las partes aéreas de *Espeletia semiglobulata* recolectada en el páramo de Piedras Blancas, a 13 Km del Pico de El Águila en la vía de Piñango, Estado Mérida, según lo descrito previamente por Baptista y cols. (2007), pf 141-142°C, idéntico a una muestra auténtica (pf, CCF, IR, EM, RMN-¹H, RMN-¹³C) [13].

Procedimiento general de reacción para la obtención de los derivados del *ent*-kaur-16-en-19-ol (I): Para obtener los derivados esterificados del *ent*-kaur-16-en-19-ol, se procedió a colocar 10 mL de CH₂Cl₂ anhidro a una temperatura de 0 °C, luego se agregó 1 equivalente los siguientes ácidos *p*-cloro-fenil-acético (295,60 mg, 1,733 mmol), *o*-cloro-fenil-acético (295,60 mg, 1,733 mmol), *m*-cloro-fenil-acético (295,60 mg, 1,733 mmol), *p*-bromo-fenil-acético (372,70 mg, 1,733 mmol), nicotínico (213,30 mg, 1,733 mmol) y salicílico (239,40 mg, 1,733 mmol) respectivamente para la obtención de cada derivado, y se agitó hasta completa disolución, posteriormente se adicionó 1 equivalente del *ent*-kaurenol (**I**) (500,00 mg, 1,733 mmol) y se continuó agitando durante aproximadamente 30 minutos para luego añadir 0,1 equivalentes de N,N-dimetilaminopiridina (DMAP, 21,1 mg, 0,17 mmol) y 1,1 equivalentes de diciclohexilcarbodiimida (DCC, 238,30 mg, 1,90 mmol), seguidamente la mezcla de reacción se colocó bajo una atmósfera de argón (Ar) y se dejó en agitación durante 24 horas, a temperatura ambiente. La mezcla resultante se lavó con ácido clorhídrico (0,5 N) y con una solución saturada de bicarbonato de sodio (15 mL), consecutivamente se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). La fase orgánica

se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se llevó a sequedad en un rotavapor. Los residuos de cada reacción se purificaron sobre una columna de gel de sílice utilizando como fase móvil una mezcla de Hexano:CH₂Cl₂ (80:20), hasta la obtención de los compuestos puros.

Obtención del *ent*-kaur-19-O-[2'-(*p*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (II): El compuesto **II** se presentó como un sólido blanco cristalino (444,00 mg, 58,09% de rendimiento), p.f. 77-79°C; IR (Celda NaCl, ν_{\max} cm⁻¹) 3065 (-C-H sp²), 1732 (C=O), 1606 y 1492 (C=C), 1249 (-C-O); RMN-¹H (CDCl₃, 600 MHz, Tabla 1); RMN-¹³C (CDCl₃, 150 MHz, Tabla 2).

Obtención del *ent*-kaur-19-O-[2'-(*o*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (III): El derivado **III** se presentó como un sólido blanco cristalino con un peso de 604,00 mg lo que representó un 79,02% del rendimiento de la reacción, p.f. 96-98°C; IR (Celda NaCl, ν_{\max} cm⁻¹) 3152 (-C-H sp²), 1734 (C=O), 1597 y 1402 (C=C), 1249 (-C-O); RMN-¹H (CDCl₃, 600 MHz, Tabla 1); RMN-¹³C (CDCl₃, 150 MHz, Tabla 2).

Obtención del *ent*-kaur-19-O-[2'-(*m*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (IV): El compuesto **IV** se obtuvo 639,00 mg (83,60% del rendimiento) como un líquido viscoso amarillo; IR (Celda NaCl, ν_{\max} cm⁻¹) 3152 (-C-H sp²), 1733 (C=O), 1592 y 1405 (C=C), 1250 (-C-O); RMN-¹H (CDCl₃, 600 MHz, Tabla 1); RMN-¹³C (CDCl₃, 150 MHz, Tabla 2).

Obtención del *ent*-kaur-19-O-[2'-(*p*-bromo-fenil)-carboximetil]-16-eno (V): El compuesto **V** (254,00 mg, 30,18% del rendimiento) como sólido blanco cristalino, p.f. 70-72°C; IR (Celda NaCl, ν_{\max} cm⁻¹) 3093 (-C-H sp²), 1718 (C=O), 1591 y 1402 (C=C), 1291 (-C-O); RMN-¹H (CDCl₃, 600 MHz, Tabla 1); RMN-¹³C (CDCl₃, 150 MHz, Tabla 2).

Obtención del *ent*-kaur-19-O-(*m*-piridil-carboxil)-16-eno (VI): El compuesto **VI** se presentó como un sólido blanco cristalino, obteniendo 356,00 mg (52,19% del rendimiento), p.f. 97-100°C; IR (Celda NaCl, ν_{\max} cm⁻¹) 3070 (-C-H sp²), 1670 (C=O), 1611 y 1588 (C=C), 1399 (C=N), 1248 (-C-O); RMN-¹H (CDCl₃, 600 MHz, Tabla 1); RMN-¹³C (CDCl₃, 150 MHz, Tabla 2).

Obtención del *ent*-kaur-19-*O*-(*o*-hidroxi-fenil-carboxil)-16-eno (VII): El compuesto VII se presentó como un sólido blanco cristalino, con un peso de 49,00 mg (6,92% del rendimiento), p.f. 96-98 °C; IR (Celda NaCl, ν_{\max} cm⁻¹) 3515 (Ar-O-H), 3065 (-C-H sp²), 1770 (C=O), 1613 y 1468 (C=C), 1248 y 1211 (-C-O); RMN-¹H (CDCl₃, 600 MHz, Tabla 1); RMN-¹³C (CDCl₃, 150 MHz, Tabla 2).

Actividad antimicrobiana: Las cepas utilizadas fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29219), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y *Candida albicans* B-385 proporcionadas por el Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

La actividad antimicrobiana fue evaluada de acuerdo al método de difusión en agar en pozo [16], el ensayo se realizó con un cultivo de 18 horas de cada microorganismo en 2,5 mL de caldo Müeller-Hinton a 37 °C. El inóculo bacteriano fue ajustado con solución salina fisiológica al patrón de turbidez de Mac Farland N° 0,5 (10⁶⁻⁸ UFC/mL). Se prepararon las placas con 20 mL de agar Müeller-Hinton, se mezcló el inóculo preparado con el medio de cultivo, y se agregó a la placa. Se dejó solidificar el medio para luego abrir los pozos con una pipeta Pasteur invertida, luego se colocaron 10 µL de cada compuesto (2 mg/mL), el control negativo (dimetilsulfóxido) y el estándar del antimicrobiano de referencia (Amikacina®, Ampicilina®, Fluconazol®) como control positivo para cada uno de los microorganismos.

Posteriormente, las placas se dejaron en la nevera a temperatura de 4°C aproximadamente durante 30 min (pre-incubación), para que las muestras difundieran a través del agar, luego se llevó a la estufa durante 24 h (bacterias) 48 h (hongos) a temperatura de 37°C en posición invertida en atmósfera aeróbica. Transcurrido el tiempo de incubación, se procedió a examinar la placa, de acuerdo a la sensibilidad o resistencia de la cepa. Se consideró como resultado positivo cuando un halo de inhibición de crecimiento se observó alrededor del disco. En el caso contrario, la ausencia de halo se interpretó como resultado negativo o resistente. El diámetro de la zona de

inhibición, producto de la actividad antimicrobiana de las muestras se expresó en milímetros (mm).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Derivados hemisintéticos: El tratamiento del *ent*-kaurenol (I) con los ácidos *p*-cloro-fenil-acético, *o*-cloro-fenil-acético, *m*-cloro-fenil-acético, *p*-bromo-fenil-acético, nicotínico y salicílico, mediante las condiciones experimentales antes descritas permitió la obtención de seis derivados hemisintéticos (Fig 1): *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (II), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*o*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (III), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*m*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (IV), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-bromo-fenil)-carboximetil]-16-eno (V), *ent*-kaur-19-*O*-(*m*-piridil-carboxil)-16-eno (VI) y *ent*-kaur-19-*O*-(*o*-hidroxi-fenil-carboxil)-16-eno (VII), los cuales no han sido reportados previamente en la literatura como productos naturales ni como derivados hemisintéticos.

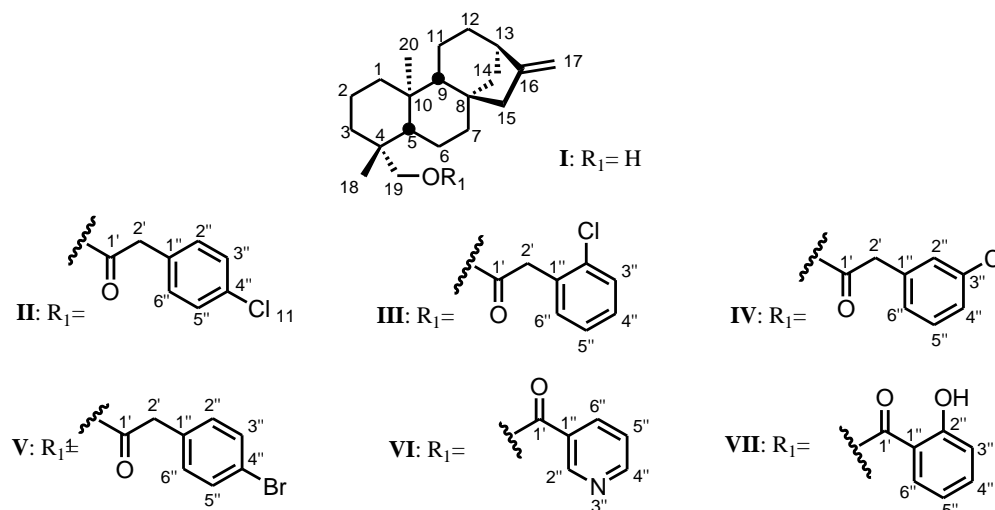
En el espectro de IR de los compuestos obtenidos (II-VII) destaca la desaparición de la vibración de tensión OH del compuesto de partida (I), y se observan las señales características del grupo éster debido a una banda intensa correspondiente al grupo carbonilo con una frecuencia de 1732 cm⁻¹ (II), 1734 cm⁻¹ (III), 1733 cm⁻¹ (IV), 1718 cm⁻¹ (V), 1670 cm⁻¹ (VI) y 1770 cm⁻¹ (VII), esta señal se confirmó con la vibración de tensión de los enlaces -C-O a 1249,68 cm⁻¹ (II), 1249 cm⁻¹ (III) 1250 cm⁻¹ (IV), 1291 cm⁻¹ (V), 1248 cm⁻¹ (VI) y 1248 cm⁻¹ (VII), respectivamente.

La asignación de los desplazamientos químicos tanto protónicos como de carbono 13 de todos los compuestos, se realizó con ayuda de experimentos ¹H-¹H-COSY, DEPT, HMQC y HMBC. En los espectros de resonancia protónica (Tabla 1) se visualizaron las señales correspondientes al núcleo del *ent*-kaurenol (I) y los derivados hemisintéticos (II-VII), entre las cuales destacan los dobletes de los protones H-19 que se encuentran desplazados a campo más bajo en comparación con el compuesto de partida (I), por el efecto desapantallante del grupo carbonilo del éster (δ H19a: 3,90 ppm d $J=11$ Hz; δ H19b: 4,20 ppm d $J=11$ Hz). Adicionalmente se visualizó la aparición de un singulete (2H)

desapantallado que fue asignado a H-2' en los derivados II-V.

De igual manera, se observaron las señales características de los sistemas aromáticos disustituídos (1,2; 1,3 y 1,4). El compuesto II presentó un patrón de sustitución 1,4 representado por dos dobletes que fueron asignados a H-2'' y H-6'' (δ H: 7,19 ppm d $J=8,3$ Hz), H-3'' y H-5'' (δ H: 7,28 ppm d $J=8,3$ Hz). Por otra parte, en el compuesto III se evidenció un sistema 1,2-

disustituído con la aparición de dos dobletes y dos tripletes característicos de este esquema de sustitución: H-3'' (δ H: 7,35 ppm d $J=8,6$), H-4'' y H-5'' (δ H: 7,20 ppm t) y H-6'' (δ H: 7,26 ppm d $J=8,6$). Asimismo en el compuesto IV se determinó una sustitución 1,3 ya que presentó un singulete: H-2'' (δ H: 7,27 ppm s), dos dobletes: H-4'' (δ H: 7,21 ppm d $J=8,6$), H-6'' (δ H: 7,13 ppm d $J=8,6$) y un multiplete H-5'' (δ H: 7,22 ppm).



Leyenda: I: *ent*-kaurenol. II: *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno. III: *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*o*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno. IV: *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*m*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno. V: *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-bromo-fenil)-carboximetil]-16-eno. VI: *ent*-kaur-19-*O*-(*m*-piridil-carboxil)-16-eno. VII: *ent*-kaur-19-*O*-(*o*-hidroxi-fenil-carboxil)-16-eno.

Fig. 1. Derivados hemisintéticos del *ent*-kaurenol

De igual modo, en el compuesto V se evidenció un sistema 1,4-disustituído establecido por la aparición de dos dobletes que integran para 2H cada uno (δ : 7,12 ppm H-2'' y H-6'' d J : 9,0 Hz y δ : 7,43 ppm H-3'' y H-5'' d J : 9,0 Hz).

En relación al compuesto VI, se apreciaron señales características de un sistema aromático, entre las cuales destacan, la aparición de un singulete a campo bajo (δ : 9,20 ppm), por el efecto desapantallante del grupo carbonilo y al átomo de nitrógeno, fue asignado a H-2'', adicionalmente, se evidenciaron dos dobletes que integran para 1H, con un desplazamiento de δ : 8,75 ppm (d J : 8,8 Hz) y δ : 8,27 ppm (d J : 8,8 Hz) que corresponden a H-4'' y H-6'', respectivamente, mientras que H-5'' se correlaciona con un multiplete a δ : 7,37 ppm.

En el compuesto VII se apreciaron señales características de un sistema aromático, entre las cuales destacan, la aparición de un singulete a campo bajo (δ : 10,83 ppm) correspondiente al hidrógeno del grupo hidroxilo del anillo aromático (H-7''), asimismo, se evidenciaron dos dobletes que integran para 1H, con un desplazamiento de δ : 6,95 ppm (d J : 8,8 Hz) y δ : 7,80 ppm (d J : 8,8 Hz) que corresponden a H-3'' y H-6'', respectivamente. Por otra parte, H-4'' y H-5'' generaron unos tripletes que integran para 1H, con unos desplazamientos de δ : 7,45 ppm y 6,85 ppm. El resto de las señales corresponden con la estructura del compuesto de partida *ent*-kaurenol (I).

TABLA 1.

Desplazamientos químicos de ^1H del *ent*-kaurenol (**I**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**II**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*o*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**III**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*m*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**IV**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-bromo-fenil)-carboximetil]-16-eno (**V**), *ent*-kaur-19-*O*-(*m*-piridil-carboxil)-16-eno (**VI**) y *ent*-kaur-19-*O*-(*o*-hidroxi-fenil-carboxil)-16-eno (**VII**).

| H | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|-----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 1a | 0,76 dt | 0,75 dt | 0,76 dt | 0,75 dt | 0,78 dt | 0,82 dt | 0,80 dt |
| 1b | 1,85 m | 1,79 m | 1,80 m | 1,80 m | 1,81 m | 1,83 m | 1,88 m |
| 2a | 1,40 m | 1,37 m | 1,31 m | 1,38 m | 1,32 m | 1,60 m | 1,42 m |
| 2b | 1,75 m | 1,53 m | 1,55 m | 1,50 m | 1,57 m | 1,70 m | 1,58m |
| 3a | 0,93 m | 1,48 m | 1,50 m | 1,55 m | 0,95 m | 1,08 m | 1,10 m |
| 3b | 1,74 td | 1,57 td | 1,52 td | 1,57 td | 1,57 td | 1,76 td | 1,80 td |
| 5 | 0,93 dd | 0,87 dd | 0,85 dd | 0,88 dd | 0,90 d | 1,00 dd | 1,02 d |
| 6a | 1,70 m | 1,54 m | 1,42 m | 1,54 m | 1,53 m | 1,40 m | 1,70 m |
| 6b | 1,92 m | 1,58 m | 1,58 m | 1,58 m | 1,58 m | 1,73 m | 1,75 m |
| 7a | 1,55 t | 1,45 t | 1,38 t | 1,44 t | 1,42 t | 1,51 t | 1,42 t |
| 7b | 1,68 t | 1,78 t | 1,76 t | 1,78 t | 1,78 t | 1,78 t | 1,78 t |
| 9 | 1,08 m | 1,03 m | 1,01 m | 1,02 m | 1,03 m | 1,10 m | 1,10 m |
| 11a | 1,31 m | 1,33 m | 1,38 m | 1,58 m | 1,38 m | 1,42 m | 1,63 m |
| 11b | 1,66 m | 1,63 m | 1,62 m | 1,60 m | 1,60 m | 1,59 m | 1,72 m |
| 12a | 1,58 m | 1,44 m | 1,42 m | 1,43 m | 1,43 m | 1,47 m | 1,45 m |
| 12b | 1,48 m | 1,60 m | 1,60 m | 1,61 m | 1,60 m | 1,56 m | 1,63 m |
| 13 | 2,63 s.a | 2,63 s.a | 2,63 s.a | 2,60 s.a | 2,61 s.a | 2,60 s.a | 2,62 s.a |
| 14a | 2,12 m | 1,88 m | 1,88 m | 1,82 m | 1,82 m | 1,96 m | 1,95 m |
| 14b | 1,05 m | 1,84 m | 1,83 m | 1,05 m | 1,05 m | 1,08 m | 1,12 m |
| 15a | 2,06 m | 2,03 m | 2,01 m | 2,00 m | 2,00 m | 2,00 m | 2,03 m |
| 15b | 2,06 m | 2,03 m | 2,01 m | 2,00 m | 2,00 m | 2,00 m | 2,03 m |
| 17a | 4,73 s | 4,70 s | 4,70 s | 4,70 s | 4,70 s | 4,72 s | 4,72 s |
| 17b | 4,79 s | 4,77 s | 4,77 s | 4,77 s | 4,77 s | 4,79 s | 4,77 s |
| 18 | 0,96 s | 0,84 s | 0,81 s | 0,87 s | 0,84 s | 1,05 s | 1,03 s |
| 19a | 3,44 d | 3,90 d | 3,93 d | 3,90 d | 3,90 d | 4,14 d | 4,14 d |
| 19b | 3,74 d | 4,20 d | 4,18 d | 4,20 d | 4,20 d | 4,52 d | 4,52 d |
| 20 | 1,01 s | 0,96 s | 1,00 s | 0,95 s | 0,95 s | 1,08 s | 1,08 s |
| 1' | - | - | - | - | - | - | - |
| 2' | - | 3,57 s | 3,76 s | 3,57 s | 3,55 s | - | - |
| 1'' | - | - | - | - | - | - | - |
| 2'' | - | 7,19 d | - | 7,27 d | 7,12 d | 9,20 s | - |
| 3'' | - | 7,28 d | 7,35 d | - | 7,43 d | - | 6,95 d |
| 4'' | - | - | 7,20 t | 7,21 m | - | 8,75 d | 7,45 t |
| 5'' | - | 7,28 d | 7,20 t | 7,22 m | 7,43 d | 7,37 m | 6,85 t |
| 6'' | - | 7,19 d | 7,26 d | 7,13 m | 7,12 d | 8,27 d | 7,80 d |
| 7'' | - | - | - | - | - | - | 10,83 s |

Abreviaturas: singulete (s), singulete ancho (s.a), doblete (d), doblete de triplete (dt), triplete (t), multipléte (m).

El análisis de los espectros de RMN- ^{13}C y DEPT-135 permitió identificar las señales de los carbonos del *ent*-kaurenol (**I**) así como de los derivados hemisintéticos (**II-VII**), clasificándolos en metilos, metilenos, metinos y cuaternarios, las señales más destacadas corresponden a los carbonos aromáticos, olefínicos y carbonílicos (Tabla 2).

A través de los espectros HMQC se identificaron las correlaciones de todos los carbonos con sus protones, las señales más interesantes fueron las correspondientes a los carbonos C-19 con H-19a y H-19b, C-17 con H-17a y H-17, C-2' con H-2' y las del sistema aromático

de cada derivado (**II-VII**). Por otra parte, en los espectros HMBC destacaron las correlaciones entre los protones H-19a y H-19b con los carbonos cuaternarios del grupo carbonilo señalado como C-1' de cada compuesto (**II-VII**), permitiendo de esta manera reafirmar que la molécula de partida se encontraba unida por medio de un enlace éster, de igual modo estos protones se correlacionan con los carbonos asignados como C-18, C-4 y C-5, del núcleo de partida. Se apreciaron las señales de H-2' con los carbonos C-1'', C-2'', C-3'', C-5'' y C-6'' correspondientes de los anillos aromáticos de cada molécula.

TABLA 2.

Desplazamientos químicos de ^{13}C del *ent*-kaurenol (**I**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**II**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*o*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**III**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*m*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**IV**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-bromo-fenil)-carboximetil]-16-eno (**V**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*m*-piridil-carboxil)-16-eno (**VI**) y *ent*-kaur-19-*O*-(*o*-hidroxi-fenil-carboxil)-16-eno (**VII**).

| C | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 40,5 | 40,3 | 40,3 | 41,2 | 40,3 | 40,3 | 40,2 |
| 2 | 18,3 | 18,2 | 18,1 | 18,1 | 18,1 | 18,2 | 18,2 |
| 3 | 35,3 | 36,5 | 36,7 | 36,5 | 36,5 | 36,6 | 36,5 |
| 4 | 39,3 | 39,5 | 39,1 | 39,1 | 39,1 | 39,2 | 39,2 |
| 5 | 56,9 | 56,7 | 56,6 | 56,7 | 56,7 | 56,8 | 56,7 |
| 6 | 20,5 | 20,5 | 20,4 | 20,5 | 20,5 | 20,6 | 20,5 |
| 7 | 41,7 | 41,5 | 41,5 | 41,5 | 41,5 | 41,5 | 41,5 |
| 8 | 44,0 | 44,1 | 44,1 | 44,1 | 44,1 | 44,1 | 44,1 |
| 9 | 56,2 | 56,1 | 56,1 | 56,1 | 56,1 | 56,1 | 56,1 |
| 10 | 38,7 | 37,1 | 37,0 | 37,0 | 37,1 | 37,4 | 37,4 |
| 11 | 18,2 | 18,2 | 18,2 | 18,2 | 18,2 | 18,3 | 18,3 |
| 12 | 33,2 | 33,1 | 33,1 | 33,1 | 33,1 | 33,1 | 33,1 |
| 13 | 44,2 | 43,9 | 43,9 | 43,9 | 43,9 | 43,9 | 43,9 |
| 14 | 39,7 | 39,1 | 39,5 | 39,5 | 39,6 | 39,6 | 39,6 |
| 15 | 49,1 | 48,9 | 48,9 | 49,0 | 49,0 | 49,0 | 49,9 |
| 16 | 155,9 | 155,8 | 155,8 | 155,8 | 155,8 | 155,8 | 155,7 |
| 17 | 103,0 | 102,9 | 102,9 | 102,9 | 102,9 | 103,0 | 103,0 |
| 18 | 27,1 | 27,6 | 27,6 | 27,5 | 27,6 | 27,7 | 27,7 |
| 19 | 65,6 | 68,1 | 68,5 | 68,2 | 68,2 | 68,3 | 68,0 |
| 20 | 18,1 | 17,8 | 17,8 | 17,8 | 17,8 | 18,1 | 18,1 |
| 1' | - | 171,3 | 170,7 | 171,1 | 171,2 | 165,4 | 170,3 |
| 2' | - | 40,9 | 39,6 | 40,3 | 41,1 | - | - |
| 1'' | - | 132,7 | 132,6 | 134,3 | 121,1 | 126,4 | 112,7 |
| 2'' | - | 130,7 | 134,6 | 129,5 | 131,0 | 150,8 | 161,6 |
| 3'' | - | 128,7 | 129,5 | 136,0 | 131,6 | - | 117,6 |
| 4'' | - | 132,9 | 128,6 | 129,7 | 133,1 | 153,3 | 135,5 |
| 5'' | - | 128,7 | 126,8 | 127,2 | 131,6 | 123,3 | 119,1 |
| 6'' | - | 130,7 | 131,5 | 127,5 | 131,0 | 137,0 | 129,7 |

Actividad antimicrobiana: La actividad antimicrobiana del *ent*-kaurenol (**I**) y los derivados hemisintéticos obtenidos (**II-VII**) fue evaluada a través del método de difusión en agar en pozo, determinándose que los compuestos no fueron activos frente a los microorganismos ensayados, demostrando que la esterificación del grupo hidroxilo en C19 no mejora la actividad y que las modificaciones químicas realizadas no tienen influencia frente a estos microorganismos. Estos resultados tienen relación a los obtenidos por Peña y cols. (2015) quienes señalan que los derivados sulfóxidos obtenidos de la esterificación del ácido *ent*-kaurénico no presentaron actividad antibacteriana por el método de difusión en disco y de microdilución en caldo [17]. De igual modo, Cordero de Rojas y cols. (2017) evaluaron la actividad antibacteriana del *ent*-kaurenol (**I**) por el

método de microdilución en caldo y determinaron que es inactivo frente a *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, sin embargo presentó actividad sobre *Bacillus subtilis* (CIM 40 µg/mL) [18]. Considerando que los ésteres obtenidos (**II-VII**) son compuestos nuevos, es importante resaltar que estos resultados reportan por primera vez la evaluación de la actividad antimicrobiana.

CONCLUSIONES

Las reacciones de esterificación del *ent*-kaurenol (**I**) con los ácidos *p*-cloro-fenil-acético, *o*-cloro-fenil-acético, *m*-cloro-fenil-acético, *p*-bromo-fenil-acético, nicotínico y salicílico; permitieron la obtención de seis derivados hemisintéticos denominados como:

ent-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**II**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*o*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**III**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*m*-cloro-fenil)-carboximetil]-16-eno (**IV**), *ent*-kaur-19-*O*-[2'-(*p*-bromo-fenil)-carboximetil]-16-eno (**V**), *ent*-kaur-19-*O*-(*m*-piridil-carboxil)-16-eno (**VI**) y *ent*-kaur-19-*O*-(*o*-hidroxi-fenil-carboxil)-16-eno (**VII**), los cuales no han sido reportados previamente en la literatura como productos naturales ni como productos de hemisíntesis.

Se evaluó la actividad antimicrobiana del *ent*-kaurenol (**I**) y los derivados hemisintéticos obtenidos (**II-VII**) a través del método de difusión en agar en pozo frente a seis cepas de referencia internacional: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*; determinándose que los compuestos no fueron activos frente a las cepas ensayadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científica (IVIC) por los espectros uni- y bi-dimensionales realizados, y al Cepario del Laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Mori K, Wtsui M, Ikekwa H, Sumiki Y. Total synthesis of the racemates of kaur-16-en-19-ol monogynol and some oxygenated kauranes. *Tetrahedron Lett.* 1966; 29: 3395-3400.

[2] Fujita E, Fujita, T. The Chemistry on Diterpenoids in 1967. *Bull. Inst. Chem. Res.* 1969; 47: 522-551.

[3] Piozzi F, Passannanti S, Paternostro M. Kauranoid diterpenes in *Espeletia grandiflora*. *Phytochemistry.* 1971; 10: 1164-1166.

[4] Bohlmann F, Rao N. Naturally occurring terpene derivatives. XXI. Constituents of *Annona squamosa*. *Chem. Ber.* 1973; 106: 841-844.

[5] Aparicio A, Villasmil T, Peña A, Rojas J, Usubillaga A. Estudio fitoquímico de las hojas de *Espeletia semiglobulata* Cuatrec. *Rev. Fac. Farm.* 2013; 55: 2-5.

[6] Meccia G, Quintero P, Rojas L, Usubillaga A, Carmona, J. Análisis de los ácidos kaurénicos presentes en *Espeletiopsis angustifolia* Cuatrec. de los Andes venezolanos. *Av. Qui.* 2010; 5 (1): 45-49.

[7] Peña A, Alarcón L, Baptista J, Aparicio R, Villasmil T, Usubillaga, A. A Phytochemical Analysis of *Espeletia nana* Cuatrec. A Midget Espeletiinae from Paramo Ortiz, Venezuela. *Av. Qui.* 2012; 7 (3): 187-192.

[8] Costa F, Albuquerque S, Vichnewski W. Diterpenes and synthetic derivatives from *Viguiera aspillioides* with Trypanomicidal Activity. *Planta Médica.* 1996; 62: 557-559.

[9] Chang F, Yang P, Lin J, Lee K, Wu Y. Bioactive kaurane from *Annona glabra*. *J. Nat. Prod.* 1988; 61: 437-439.

[10] Moriwaki K, Gomi M, Itoh Y, Iida S, Tsuqawa M, Tarui S, Fuji K, Node M, Kajimoto T. Steroidogenic effect of *ent*-kaur-16-en-15-ol (kaurenol) on isolated rat adrenal cells. *Life. Sci.* 1986; 38: 453-458.

[11] Asem E, Tsang B. Effect of kaurenol on steroidogenesis and cyclic adenosine monophosphate production in rat granulosa cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1988; (1-2): 149-156.

[12] Hertelendy F, Asem E. Influence of kaurenol on basal, LH- and forskolin-stimulated progesterone and cAMP production in avian granulosa cells. *J. Steroid. Biochem.* 1989; 33: 53-57.

[13] Baptista J, Monsalve M, Alonso M, Ávila J, Usubillaga A. Ensayos de actividad antialimentaria sobre *Tribolium castaneum* y *Sitophilus oryzae* de algunos derivados del *ent*-kaurenol. *Ciencia.* 2007; 15 (2): 248- 258.

[14] Aparicio R, Bahsas A, Usubillaga A. Allylic oxidation of *ent*-Kaurenic acid, *ent*-Kaurenic acid Methyl Ester and *ent*-Kaurenol. *Av. Qui.* 2007; 2: 3-8.

[15] Hueso I, Cuadrado I, Cidre F, Amaro L, Ravelo A, Estévez A, De Las Heras B, Hortelano S. Synthesis and anti-inflammatory activity of *ent*-

kaurene derivatives. Eur. J. Med. Chem. 2011; 46: 1291-1305.

[16] Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing, 30th. 2020. [Página Web] 2020 [acceso: 5 de noviembre de 2020]. Disponible en:

https://www.clsi.org/media/2663/m100ed29_sample.pdf

[17] Peña A, Usubillaga A, Alarcón L, Velasco J, Aparicio R. Obtención de derivados azufrados del ácido kaurénico y de otros kaurenos substituidos en la posición C-15 y su actividad antibacteriana. Rev. Fac. Farm. 2015; 57: 3-8.

[18] Cordero de Rojas Y, Lucena de Ustáriz M, Araujo L, Usubillaga A, Rojas-Fermín L, Moujir L. Actividad antibacteriana de diterpenos del kaurano aislados de *Coespeletia moritziana* (Sch. Bip. ex Wedd.) Cuatrec. Rev. Fac. Farm. 2017; 59: 3-7.

Hamdan-Sánchez Mager, Orcid ID: 0000-0002-4354-8688

†**Rojas-Fermín Luis**, Orcid ID: 0000-0003-4508-1927

Obregón-Díaz Ysbelia, Orcid ID: 0000-0001-6152-6696

Aparicio-Zambrano Rosa, Orcid ID: 0000-0002-5020-0954

Pérez-Colmenares Alida, Orcid ID: 0000-0001-8910-4663

Cordero Yndra, Orcid ID: 0000-0001-7015-2796

Díaz Clara, Orcid ID: 0000-0002-1287-8326

Da Silva-Rojas Jossblerys, Orcid ID: 0000-0002-6883-9465

Usubillaga Alfredo, Orcid ID: 0000-0002-2913-5684

Artículo original

Análisis químico cualitativo y actividad ecotóxica de la especie *Tristerix longibracteatus* (Desr.) Barlow & Wiens (Loranthaceae) colectada en Chimborazo, Ecuador.

Cualitative chemical analysis and ecotoxyc activity of *Tristerix longibracteatus* species (Desr.) Barlow & Wiens (Loranthaceae) collected in Chimborazo, Ecuador.

Espinoza Carlos¹, Rojas Janne^{2*}, Buitrago-Díaz Alexis^{2,3}, Morillo Marielba⁴, Visbal Tomas⁴.

¹Odontología, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba-Ecuador. ²Grupo de investigación "Biomoléculas Orgánicas", Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis Universidad de Los Andes, ³Departamento de Análisis y Control, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, ⁴Grupo de investigación "Ecología y Nutrición", Departamento de Ciencia de Los Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. 5101, Mérida-Venezuela.

Recibido: abril de 2022 –Aceptado: junio de 2022

RESUMEN

La familia Loranthaceae comprende aproximadamente 71 géneros y 1400 especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales a nivel mundial. El género *Tristerix* consta de 11 especies las cuales se encuentran exclusivamente en Sudamérica donde habitan desde sectores adyacentes a la Cordillera de Los Andes en Chile y Argentina hasta el sub-páramo de Colombia y Ecuador. Las especies del género *Tristerix* son conocidas en la medicina popular principalmente, por su efecto hipotensor, pero, además se usan como agentes antioxidantes, para tratar úlceras estomacales y para bajar el colesterol, entre otros. El propósito de la presente investigación es realizar el análisis químico cualitativo y determinar la actividad ecotóxica del extracto etanólico de la especie *Tristerix longibracteatus* sobre nauplios de *Artemia salina*. El tamizaje fitoquímico reveló abundante presencia de antraquinonas, glicósidos, triterpenos, esteroides, xantonas, flavonas y taninos pirocatecólicos; presencia moderada de flavanonas, dihidrochalconas y taninos y, baja presencia de

alcaloides y compuestos fenólicos, sin embargo, no se evidenció la presencia de cumarinas, saponinas y mucílagos. Por otro lado, la evaluación ecotoxicológica del extracto etanólico sobre nauplios de *Artemia salina* mostró que dicho extracto presenta una toxicidad moderada con un valor de CL_{50} de 350,70 $\mu\text{g/mL}$. Es importante destacar que hasta la presente fecha no se han encontrado reportes de la actividad ecotóxica de la especie *T. longibracteatus* sobre nauplios de *A. salina* por lo que se considera como un aporte al estudio de esta especie.

PALABRAS CLAVES

Tristerix longibracteatus, tamizaje fitoquímico, actividad ecotóxica, toxicidad moderada

ABSTRACT

Family Loranthaceae comprises approximately 71 genera and 1400 species distributed in tropical and subtropical areas around the world. genus *Tristerix* includes about 11 species found

exclusively in South America where these inhabit from areas nearby to Andean mountain range from Chile and Argentina to subparamo of Colombia and Ecuador. Species of *Tristerix* genus are known in traditional medicine mainly by its hypotensive effect; however, these are also used as antioxidant agents, to treat stomach ulcers and to lower cholesterol, among others. The aim of present investigation is to perform the qualitative chemical analysis and to determine the ecotoxic activity of *Tristerix longibracteatus* ethanolic extract against *Artemia salina* nauplii. Phytochemical screening revealed abundant presence of anthraquinone, glycosides, triterpenes, steroids, xanthonas, flavones, and pyrocatecholic tannins; moderate presence of flavanones, dihydrochalcones and tannins, low presence of alkaloids and phenolic compounds. However, cumarins, saponins and mucilages were not observed. On the other hand, ecotoxicological analysis of ethanolic extract against *Artemia salina* nauplii revealed that this extract showed a moderate toxicity with LC_{50} value of 350.70 $\mu\text{g/mL}$. It is important to stand out that to present date there are no reports of ecotoxic activity of *T. longibracteatus* against *A. salina* nauplii, thus, it is considered as a contribution to the study of this species.

KEY WORDS

Tristerix longibracteatus, phychemistry screening, ecotoxic activity, moderate toxicity

INTRODUCCIÓN

La utilización ancestral de las plantas con propósitos medicinales forma parte del conocimiento tradicional de los pueblos. Enseñanzas milenarias transmitidas entre los habitantes de las tribus indígenas ha propiciado un incremento en el interés de las organizaciones científicas y empresas farmacéuticas en la búsqueda de nuevas moléculas bioactivas con propiedades antimicrobianas, antineoplásicas, antiparasitarias, antiinflamatorias, entre otras [1-4].

Loranthaceae es una extensa familia de Santalales constituidas por 71 géneros y alrededor de 1400 especies de plantas hemiparásitas,

distribuidas principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de América, África, Asia y Australia, de igual manera, se ha observado la presencia de ciertas especies en las zonas templadas de Europa y Asia Oriental. La mayoría de los miembros de la familia de Loranthaceae conocidos como muérdagos, pertenecen a la tribu Psittacanthaceae que incluye al género *Tristerix*, una especie vegetal autóctona de la cordillera andina que se encuentra en Colombia, Ecuador, Perú, Argentina y Chile. Estas plantas de flores llamativas y frutos con forma de ovoides, parasitan las partes aéreas del huésped incubando sus semillas que se adhieren a las ramas para luego germinar y formar conexiones haustoriales [5-7].

Los estudios fitoquímicos reportados para las especies del género *Tristerix* relacionan los metabolitos secundarios aislados del tipo flavonas, xantonas, flavonoles, esteroides, quinonas, antocianinas y taninos, así mismo algunos alcaloides de núcleo isoquinolínicos con los árboles huéspedes *Ephedra andina*, *Quillaja saponaria*, *Acacia caven*, *Berberis montana*, *Aristolelia chilensis*, *Rhaphitammus spinosus*, *Populus nigra*, entre otros [8-10].

El propósito de esta investigación es determinar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la especie *T. longibracteatus* colectada en Chambo, provincia de Chimborazo, Ecuador, así como evaluar su ecotoxicidad frente a nauplios de *A. salina*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del material botánico: la especie *T. longibracteatus* se recolectó en el sector Chambo, parroquia Llucut a 3400 m s. n. m ($1^{\circ}43'22''\text{S}$ - $78^{\circ}33'15''\text{W}$), provincia de Chimborazo, Ecuador.

Determinación taxonómica: la identificación de la especie vegetal recolectada fue realizada por el Ingeniero Jorge Caranqui. Una muestra testigo con el código 13389, fue depositada en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

Selección y tratamiento del material vegetal: el material vegetal recolectado, (hojas 1000 g), se sometió a un proceso de selección para eliminar las

impurezas y partes en descomposición. Luego se procedió a secarlo utilizando un horno eléctrico a una temperatura constante de 40°C durante 72 horas. Transcurrido este tiempo, la muestra libre de humedad y quebradiza al tacto fue molida, obteniéndose 626,38 g de material vegetal molido y seco, el cual, fue colocado en un envase de vidrio rotulado y almacenado en un lugar apartado de la luz solar y de humedad.

Extracción por maceración: el material molido y seco se sometió a extracción sólido-líquido por maceración en frío utilizando como solvente etanol durante un periodo de diez días, divididos en dos ciclos de cinco días. La solución resultante se filtró por gravedad y concentró destilando el solvente a presión reducida utilizando un rotavapor y manteniendo una temperatura máxima de 40°C. El extracto (15,60 g) fue colocado en un frasco color ámbar identificado y conservado bajo refrigeración hasta el momento del análisis.

Tamizaje Fitoquímico: el ensayo preliminar del extracto de las hojas de la especie en estudio se realizó mediante una serie de reacciones colorimétricas y separaciones cromatográficas que permitieron identificar de forma cualitativa la presencia de alcaloides, antraquinonas, glicósidos, saponinas, flavonoides, cumarinas, mucilagos, taninos, esteroides y fenoles. Este procedimiento, consistió en tomar tres porciones del extracto colocados por separado en tubos de ensayo para luego disolverlos utilizando un solvente adecuado con la ayuda de un agitador tipo vortex. El contenido de cada tubo fue filtrado y su pH ajustado añadiendo gotas de ácido o base según los requerimientos para cada ensayo. Finalmente, se le adicionó a la solución resultante el correspondiente reactivo y luego de algunos minutos de reacción, se verificó la aparición de un color característico indicativo de la presencia de los metabolitos secundarios [11-13]. Los resultados para cada ensayo se describen a continuación:

Prueba para alcaloides: reactivo de Dragendorff: precipitado rojo-pardo.

Pruebas para antraquinonas: ácido sulfúrico concentrado: rojo (quinonas). Hidróxido de amonio concentrado: rojo (antraquinonas).

Pruebas para glicósidos y glicósidos cardiotónicos: solución de hidróxido de sodio 2N:

amarillo (glicósidos). Reactivo de Keller-Killiani interfase marrón (azúcares 2-desoxigenados).

Pruebas para saponinas: altura de la espuma entre 8-10 mm estable por 30 minutos. Bicarbonato de sodio con formación de espuma con estructura en forma de panal de abeja (saponinas).

Pruebas para flavonoides: reacción de Shinoda: rojo (auronas, flavonas, flavonoles y/o chalconas), anaranjado a rojo, (flavonas) y magenta (flavononas). Reacción de Pew's: rojo púrpura o rojo cereza (dihydroflavonas), rosa o café (flavanonas y/o dihydrochalconas). Solución de hidróxido de sodio 10%: amarillo a rojo (xantonas y/o flavonas), café a púrpura rojizo (chalconas) y azul (antocianinas).

Prueba para cumarinas: hidróxido de amonio concentrado: fluorescencia de color azul, verde o amarillo a una longitud de onda de 365 nm.

Pruebas para taninos: solución de gelatina al 1% y solución de gelatina 1% con cloruro de sodio al 10%: precipitado blanco (taninos). Solución de tricloruro férrico al 10%: rojo-vino (compuestos fenólicos), verde intenso (taninos pirocatecólicos) y azul (taninos pirogalactánicos). Solución de ferricianuro de potasio al 1%: azul (compuestos fenólicos).

Prueba para mucilagos: enfriamiento a 0-5°C: consistencia gelatinosa.

Pruebas para esteroides y triterpenoides: reacción de Lieberman Bouchard: interfase azul o verde (esteroides), interfase amarillo-anaranjado (triterpenoides). Reacción de Rosenthaler vainillina: Interfase violeta (triterpenoides). Ensayo de Salkowski: interfase marrón-rojizo (anillo esteroideo).

Prueba para fenoles: solución de tricloruro de hierro en cloruro de sodio 0,9% m/v: rojo vino, verde o azul.

Toxicidad del extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* sobre *A. salina*: La evaluación de toxicidad sobre nauplios (larvas) de *A. salina* del extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* se realizó en el Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA. Este método estándar se basa en la determinación de la dosis letal 50 (**DL₅₀**), es decir, concentración que causa la muerte al 50% de una población de nauplios, en 24 h.

Reactivos: Los reactivos utilizados para evaluar la toxicidad del extracto etanólico frente a *A. salina*, de marca Sigma-Aldrich y Merck fueron: cloruro de sodio (NaCl), sulfato de magnesio hexahidratado ($MgSO_4 \cdot 6H_2O$), cloruro de magnesio hexahidratado ($MgCl \cdot 6H_2O$), cloruro de potasio (KCl), bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$), carbonato de sodio (Na_2CO_3), cloruro de calcio ($CaCl_2$) y dodecil sulfato de sodio, levadura comercial y quistes del crustáceo *A. salina* (Brine Shrimp Egg. Artemia cysts O.S.I. Pro 100. Ocean Star International. INC. Snowville. UT 84336. EE.UU.). En el desarrollo del bioensayo, primero se preparó una solución marina de aproximadamente 1000 mL (agua de mar artificial), que proporcionó las condiciones necesarias para el desarrollo de los nauplios de *A. salina*. Esta solución se mantuvo en aireación constante (burbujeo) 72 h previas al bioensayo, con la finalidad de oxigenar la misma [14].

Eclosión de los quistes: Al finalizar el tiempo de aireación de la solución marina (72 h), ésta se dividió en dos recipientes (fiolas) con 500 mL aproximadamente en cada una. En una de las fiolas se añadieron alrededor de 250 mg de quistes, manteniendo una temperatura constante de $28 \pm 2^\circ C$ por 48 h. En la otra fiola se colocó solución marina libre de nauplios, la cual, se utilizó como disolvente para preparar las diferentes diluciones del extracto etanólico y llenado de las placas [14].

Desarrollo de la prueba: Primero, se colocaron 130 μL de solución salina (aireada) en cada pozo de una placa de microtitulación, posteriormente, se agregaron a cada pozo 10 μL de solución que contenían entre 10 y 15 nauplios de *A. salina*, luego se le adicionó 10 μL de una solución de levadura comercial marca Fleischmann (5 mg/mL) a cada pozo y se incubaron las placas en un área con iluminación permanente por 24 h para estimular su actividad metabólica. Finalmente, se colocaron 50 μL del extracto etanólico, a distintas concentraciones (5, 25, 150, 500, 750, 1250 y 2500 ppm). El extracto se diluyó en solución salina: DMSO (9:1). Se incluyó, además, un grupo control negativo (con todos los elementos del ensayo, excepto la muestra a ensayar) y un grupo control positivo (Dodecil sulfato de sodio, DDSS 10%) con 6 réplicas para cada grupo. Se registraron el número de nauplios presentes inicialmente en cada

pozo (NV), y al cabo de 24 h de contacto con los extractos se realizó el conteo del número de nauplios muertos (NM). Se calculó el porcentaje de letalidad mediante la siguiente ecuación [15]:

$$\% \text{ letalidad} = \frac{NM}{NV} * 100$$

Se determinó la dosis letal 50 (DL50) con un intervalo de confianza del 95%, se usó el método de análisis Probit y el programa estadístico SPSS, 21.0 para Windows. Se clasificó la DL₅₀ del extracto evaluado según la toxicidad, tomando como referencia las recomendaciones del Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el desarrollo (CYTED) [15].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto metanólico obtenido de las hojas de la especie *T. longibracteatus* fue sometido a una serie de reacciones químicas con el propósito de identificar la presencia de los posibles metabolitos secundarios. Los resultados que se presentan en la Tabla 1, establecen la presencia principalmente de compuestos aromáticos oxigenados; en ese sentido, la adición del NH_4OH reveló una elevada proporción de antraquinonas y quinonas. Las reacciones de Lieberman Bouchard y Komarowsky indican abundante cantidad de compuestos triterpénicos y esteroidales. Igual comportamiento se observó para los flavonoides al reaccionar con NaOH, de igual manera, el proceso de óxido reducción originado por el cloruro férrico en contacto con los taninos. Por otra parte, los ensayos correspondientes demostraron mínimas cantidades de alcaloides y compuestos fenólicos, así como, la ausencia de cumarinas, saponinas y mucílagos.

Algunos estudios sugieren que las estructuras químicas identificadas en los muérdagos provienen de su relación con el hospedero, debido a la conexión haustorial que favorece el paso de nutrientes, agua y toxinas, así como flavonoides, iridoides, alcaloides, glicósidos cardiotónicos, entre otros [10,16].

El tamizaje fitoquímico realizado por Torres y cols. (2019), con los extractos en diferentes polaridades para las hojas y flores obtenidos de *Tristerix corymbosus*, especie nativa de la región

indígena Mapuche de Chile y Argentina y que parasita los árboles *Aristolelia chilensis*, *Rhaphitamnus spinosus* y *Populus nigra*, demostró la presencia, para todos los extractos, de compuestos oxigenados del tipo flavonas,

xantonas, flavonoles, esteroides, quinonas y taninos, destacando la presencia de glicósidos cardiotónicos y saponinas para los extractos de menor polaridad con el muérdago proveniente de la especie *R. spinosus* [9].

TABLA 1.
Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de la especie *Tristerix longibracteatus*

| Metabolitos secundarios | Ensayo | Resultado |
|--------------------------|---|-----------|
| Alcaloides | Dragendorff | + |
| Quinonas y Antraquinonas | Reacción con NH ₄ OH | +++ |
| | Reacción con H ₂ SO ₄ | ++ |
| Glicósidos | Reacción con NaOH | +++ |
| | Reacción de Lieberman Bouchard | +++ |
| | Reacción de Rosenthaler Vainillina | - |
| | Prueba de Salkowski | - |
| Flavonoides | Prueba de Komarowsky | +++ |
| | Reacción de Pew's | ++ |
| Cumarinas | Reacción de NaOH | +++ |
| | Reacción con NH ₄ OH | - |
| Saponinas | Prueba de la altura de la espuma | - |
| | Prueba de NaHCO ₃ | - |
| Taninos | Gelatina 1% | ++ |
| | Gelatina (1%) Sal (10%) | + |
| | FeCl ₃ 10% | +++ |
| Mucílagos | Enfriamiento a 0.5°C | - |
| Compuestos fenólicos | Prueba de FeCl ₃ | + |

bajo: +, moderado: ++, alto:+++; no hay presencia: -

La separación de los componentes químicos presentes en el extracto alcohólico de las partes aéreas del muérdago endémico chileno *Tristerix tetrandus* por UHPLC-PDA-HESI-Orbitrap realizada por Simirgiotis y cols. (2016), logró identificar los derivados de la antiocidina 3-*O*-glucósido de delfinidina y cianidina. De igual manera, los ácidos fenólicos feruloilquinico, feruloil glucosa, ácido clorogénico, así como, los flavonoles luteolina, quercetina, apigenina, isorhamnetina [8].

Por otra parte, Cabezas y cols. (2009), estudiaron la presencia en el extracto metanólico de *Tristerix verticillatus* de algunos compuestos alcaloidales probablemente biosintetizados por la planta hospedera, *Berberis montana*. En ese sentido, lograron identificar la (-)-pronuciferina como el alcaloide principal encontrado en esa especie. De igual manera, demostraron la

inhabilidad de *T. verticillatus* para biosintetizar y obtener por vía translocación, los compuestos proaporfirina, (+)-9-hidroxiciferina y (+)-orientina. Cabe destacar que el derivado isoquinolínico (+)-glaucina fue observado únicamente en *T. verticillatus* [10].

Por otro lado, en la Tabla 2 se muestran los resultados del bioensayo de letalidad en *A. salina*, aplicado al extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* y los controles, además, en la Fig. 1 se muestra el % de letalidad del extracto sobre *Artemia salina*.

De acuerdo con la clasificación de toxicidad según el CYTED [15] y los intervalos de confianza allí establecidos, el extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus*, es moderadamente tóxico ya que la concentración a la cual murieron el 50% de nauplios de *A. salina*, fue de 350,70 ppm. Con respecto al porcentaje de letalidad, el extracto

etanólico de las hojas de *T. longibracteatus*, ocasionó el 56,9% de mortalidad a la concentración de 500 ppm, y 100% de mortalidad entre 750 a

2500 ppm lo que refleja la moderada toxicidad observada, como se muestra en la Fig. 1.

Tabla 2
Cuantificación de la DL₅₀ y DL₉₅ del extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* y los controles sobre *A. salina*.

| Análito | DL (ppm) | | Límite de confianza (95% ppm) | | Categoría según el CYTED |
|--------------------------|------------------|--------|-------------------------------|-----------------|--------------------------|
| | | | Límite inferior | Límite superior | |
| Extracto etanólico hojas | DL ₅₀ | 350,70 | | | moderadamente tóxico |
| | DL ₉₅ | 793,37 | | | moderadamente tóxico |
| DMSO | - | - | - | - | Inocuo |
| DDSS | DL ₅₀ | 28,026 | 23,372 | 33,507 | Altamente tóxico |

DL₅₀: Dosis letal 50; DL₉₅: Dosis letal 95; signo (-) valores muy altos; DMSO: Dimetilsulfóxido DDSS: Dodecil sulfato de sodio.

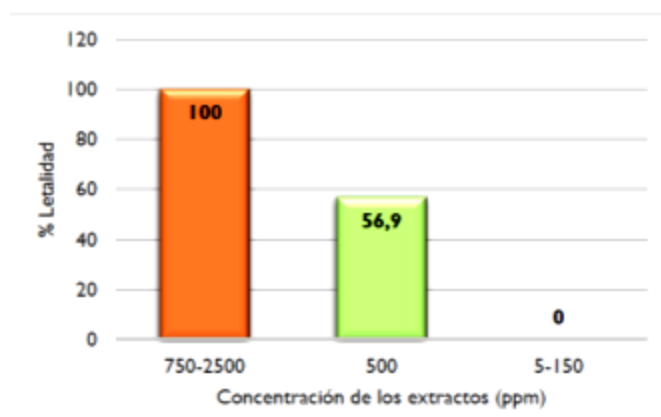


Fig. 1. Porcentaje (%) de letalidad del extracto metanólico de las hojas de *T. longibracteatus* sobre *A. salina* a las concentraciones probadas en unidades de ppm ($\mu\text{g/mL}$).

En cuanto a la toxicidad de la especie *T. longibracteatus* sobre *A. salina*, no se han encontrado estudios previos, considerándose los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación como un nuevo aporte, donde se muestra que el extracto etanólico de las hojas de la especie *T. longibracteatus* es moderadamente tóxico, según la tabla CYTED [19]. Este resultado muestra una relación directa con la presencia de metabolitos secundarios en el extracto etanólico donde fueron identificados cualitativamente, alcaloides, quinonas, antraquinonas, glicósidos, triterpenos, esteroides, flavonoides, taninos, fenoles y no se observó presencia de mucilagos ni saponinas (Tabla 1).

Las plantas medicinales contienen gran variedad de metabolitos secundarios, algunos de los cuales son responsables de sus propiedades

beneficiosas, sin embargo, otros pueden ser tóxicos, pudiendo provocar efectos graves en los organismos vivos [17]. Es así como, algunos investigadores determinaron que la presencia de alcaloides, fenoles totales, taninos, glucósidos cianogénicos, saponinas, cumarinas y lactonas terpenicas [18,19] en distintas especies vegetales están relacionadas con el efecto citotóxico sobre el crustáceo *Artemia salina*, observando que, a mayor concentración de alcaloides en los extractos estudiados, mayor toxicidad. Según, Sanabria y cols. (1997) [19], la letalidad sobre *A. salina* depende de la concentración de los metabolitos secundarios antes mencionados, aspecto que concuerda con lo reportado por Bun y cols. (2009) [20], quienes indicaron que altas concentraciones de alcaloides aumentan la toxicidad de las plantas. Por lo que se podría decir que, la toxicidad frente

a *A. salina* no solo depende de la presencia de ciertos metabolitos secundarios, sino además de la concentración y la posible interacción entre los mismos.

Por otra parte, Zhao y cols. (1999) [21], indicaron que las saponinas pueden ser letales para la *A. salina* incluso a bajas concentraciones. Cabe mencionar que en el extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus*, no se encontró presencia de saponinas, pero sí de taninos, alcaloides, glicósidos y fenoles (Tabla 1), esto podría explicar la moderada toxicidad mostrada por el extracto etanólico de esta especie sobre *A. salina*, en la presente investigación. Es importante señalar que, factores como el nivel de oxígeno, la temperatura y el valor promedio de salinidad durante la realización del bioensayo, también podrían influir en la toxicidad del extracto sobre los nauplios de *A. salina* [22].

CONCLUSIONES

El análisis químico cualitativo realizado a la especie en estudio reveló abundante presencia de antraquinonas, glicósidos, triterpenos, esteroides, xantonas, flavonas y taninos pirocatecólicos, así como presencia moderada de antraquinonas, flavanonas, dihidrochalconas, taninos y baja presencia de alcaloides y compuestos fenólicos. Además, el ensayo de letalidad en *A. salina* mostró que el extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* es moderadamente tóxico sobre este crustáceo, lo cual podría deberse a la presencia de metabolitos secundarios tales como taninos, alcaloides y fenoles que aunque se observaron en presencia entre media y baja podrían actuar de forma sinérgica causando este efecto tóxico moderado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo reconocen y agradecen al Instituto de Investigaciones y al Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Arias B. Diversidad de usos, prácticas de recolección y diferencias según género y edad en el uso de plantas medicinales en Córdoba, Argentina. *B Latinoam Caribe Pl.* 2009; 8(5): 389-401.
- [2] Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Plantas medicinales de uso en Chile: química y farmacología. 2^{da} Edición. Santiago de Chile (Chile): Editorial Universitaria; 2001. 15-16.
- [3] Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana. 2^{da} Edición. Lima (Perú): Editorial Tarea Asociación Gráfica Educativa; 2000. 8-11.
- [4] Castillo G, Zavala D, Carrillo M. Análisis Fitoquímico: Una herramienta para develar el potencial biológico y farmacológico de las plantas. Tlatemoani. *Revista académica de investigación.* 2017; 8(24): 71-86.
- [5] Lamilla LA, Robayo CA, Castaño F, Marquín X, Raz L. Floral anatomy of *Tristerix longibracteatus* (Loranthaceae). *Rev Biol Trop.* 2020; 68(1): 87-97. [dx.doi.org/10.15517/rbt.v68i1.36991](https://doi.org/10.15517/rbt.v68i1.36991)
- [6] Liu B, Le CT, Barrett RL, Nickrent DL, Chen Z, Lu L, Vidal-Russell R. Historical biogeography of Loranthaceae (Santalales): Diversification agrees with emergence of tropical forests and radiation of songbirds. *Mol Phylogenet Evol.* 2018; 124: 199-212. doi: 10.1016/j.ympev.2018.03.010
- [7] Mathiasen RL, Nickrent DL, Shaw DC, Watson DM. Mistletoes: Pathology, systematics, ecology, and management. *Plant Dis.* 2008; 92(7):988-1006. doi.org/10.1094/PDIS-92-7-0988
- [8] Simirgiotis MJ, Quispe C, Areche C, Sepúlveda B. Phenolic compounds in Chilean mistletoe (Quintral, *Tristerix tetrandus*) analyzed by UHPLC-Q/Orbitrap/MS/MS and its antioxidant properties. *Molecules.* 2016; 21(3):245. doi: 10.3390/molecules21030245.
- [9] Torres P, Saldaña C, Ortega R, González C. Determination of reducing power and phytochemical profile of the Chilean mistletoe "Quintral" (*Tristerix corymbosus* (L) Kuijt) hosted in "Maqui" (*Aristotelia chilensis*), "Huayún" (*Rhaphitammus spinosus*) and "Poplar" (*Populus*

- nigra). J. Chil. Chem. Soc. 2019; 64(4): 4645-4650. [dx.doi.org/10.4067/S0717-97072019000404645](https://doi.org/10.4067/S0717-97072019000404645).
- [10] Cabezas N, Urzúa A, Niemeyer H. Translocation of isoquinoline alkaloids to the hemiparasite, *Tristerix verticillatus* from its host, *Berberis montana*. Biochem Syst Ecol. 2009; 37(3): 225-227
- [11] Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: A review. Int Pharma Sci. 2011; 1: 98-106.
- [12] Trease GE, Evans WC. Pharmacognosy. London, England: Saunders Publishers; 2002.
- [13] Shyamala-Gowri S, Vasantha K. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Syzygiumcumini* (L.) (Myrtaceae) leaves extracts. Int J Pharm Tech Res. 2010; 2; 1569-1573.
- [14] Plaza, C. Identificación y estudio de actividades biológicas de nueve especies de líquenes, colectadas en el estado Mérida, Venezuela, Tesis doctoral, Universidad de Los Andes, Venezuela, 2015, p. 208.
- [15] Sánchez L, Neira A., Bioensayo general de Letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava* L. y *Psidium guineense*, Cultura Científica. 2005; 3: 39-45.
- [16] Scharenberg F, Zidorn C. Genuine and sequestered natural products from the genus *Orobanche* (Orobanchaceae, Lamiales). Molecules. 2018; 23(11): 2821. doi: 10.3390/molecules23112821.
- [17] Ochoa L, Sarmiento A. Estudio Fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (L.F.) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica. (Trabajo de Grado). Colombia. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales; 2018.
- [18] Jaramillo C, Jaramillo A, D' Armas, H, Troccoli L, Rojas L. Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. Rev. Biol. Trop. 2016; 64 (3): 1171-1184.
- [19] Sanabria-Galindo A, López SI, Gualdrón R. Estudio fitoquímico preliminar y letalidad sobre *Artemia salina* de plantas colombianas, Rev Colomb Cienc Quím Farm. 1997; 26(1): 15-19.
- [20] Bun S, Laget M, Chea A, Bun H, Ollivier E, Elias R. Cytotoxic activity of alkaloids isolated from *Stephania rotunda*. In Vitro cytotoxic activity of cepharanthine. Phytotherapy Research. 2009; 23: 587-590.
- [21] ZhaoW, Qin G, Lou L. Evaluation of toxicity of some saponins on *Brine shrimp*. J Asian Nat Prod Res. 1999; 1(1): 307-311.
- [22] Malave MJ, Mendoza Z, Morillo M, Visbal T, Rondón ME, Carmona J. Composición química y actividad biológica de los extractos de las partes aéreas de *Leonurus japonicus* (Houtt.). Rev Fac Farm. 2019; 61 (Número Especial): 25-35 33.
- Espinoza Carlos**, Orcid ID: 0000-0002-0932-6299
- Rojas Janne**, Orcid ID: 0000-0001-5161-6778
- Buitrago-Díaz Alexis**, Orcid ID: 0000-0001-6482-5907
- Morillo Marielba**, Orcid ID: 0000-0002-6048-0590
- Visbal Tomas**, Orcid ID: 0000-0003-1644-2228

NORMAS EDITORIALES

La Revista de la Facultad de Farmacia (Rev Fac Farm) es una publicación editada por la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, Mérida, República Bolivariana de Venezuela. La revista es arbitrada e indizada y tiene como objetivo publicar Trabajos Originales (inéditos producto de estudios terminados), Revisiones, Reporte de Casos Clínicos, Comunicaciones y Cartas al Editor, que versen sobre las siguientes áreas del conocimiento: Etnobotánica, Química Orgánica, Química Inorgánica, Química Analítica, Química Medicinal, Fitoquímica, Ciencias de los Alimentos, Galénica, Tecnología Industrial, Análisis de Medicamentos, Física, Fisicoquímica, Estadística Aplicada a las Ciencias de la Salud, Microbiología, Parasitología, Inmunología, Hematología, Farmacología, Toxicología, Fisiología, Citología, Farmacocinética, Mercadotecnia, Historia de la Farmacia y Bioanálisis, Farmacognosia, Nutrición en Salud Pública y Biotecnología. Los manuscritos deben ser concisos, correctos en su estilo y escritos en idioma español, inglés o portugués. El Comité Editorial (CE) tiene prevista la publicación de un volumen y dos números al año, con la extensión que se estime conveniente.

ENVÍO DEL MANUSCRITO

Los autores deben enviar el archivo del manuscrito en programa "Word for Windows" a través de los siguientes correos: revfarm@ula.ve o revfarmacia@gmail.com. Es necesario que el autor principal envíe una comunicación al Editor, en donde solicita la consideración del material adjunto para la publicación en alguna de las secciones de la Revista, con indicación expresa, de tratarse de un trabajo original, de no haber sido publicado excepto en forma de resumen y que sólo ha sido enviado a la Revista de la Facultad de Farmacia. Además, debe incluir la autorización, donde todos los autores aceptan con su firma, que han participado activamente en el desarrollo y ejecución de dicha investigación, y que conocen que está siendo enviado a publicación sin percibir remuneración alguna.

SISTEMA DE ARBITRAJE

Todos los trabajos serán sometidos a consideración del CE de la Revista, el cual decidirá si el trabajo debe ser enviado a arbitraje o es devuelto por no cumplir con las normas editoriales establecidas. El arbitraje de doble ciego será realizado por al menos tres expertos en el área objeto de la comunicación. Se cuenta con la participación de especialistas, provenientes de diferentes instituciones locales, nacionales, así como internacionales. En caso de existir sugerencias por parte de los evaluadores para mejorar la calidad de los trabajos, serán devueltos a sus autores para las debidas correcciones, las cuales deben cumplirse, siendo posible apelar con la debida justificación en cada caso. Para facilitar el proceso de arbitraje, los autores deberán enviar una lista de seis posibles árbitros (Nacionales e Internacionales) con sus respectivas direcciones de correo electrónico.

NORMAS EDITORIALES

Los textos deben estar compuestos por las siguientes secciones:

Revisiones: Según los criterios establecidos por el CE, para incluir revisiones en la Revista de la Facultad de Farmacia se debe cumplir con las siguientes condiciones:

- Al menos uno de los autores debe tener un mínimo de tres trabajos sobre el tema, publicados en revistas indexadas y arbitradas y por lo menos una de esas revistas debe ser Tipo A.

- Las revisiones pueden ser solicitadas al autor (es) por el CE o propuestas por el autor (es) al CE, sobre temas seleccionados. Estructura: Resumen, palabras clave, abstract, key words, introducción, cuerpo o desarrollo, conclusión (es), referencias bibliográficas, de acuerdo a las mismas instrucciones de los trabajos originales.

Trabajos originales: Se le da prioridad a los artículos originales. Estructura: Resumen, palabras clave, abstract, key words, introducción, material y métodos, resultados, discusión, conclusión (es), agradecimientos (prescindible) y referencias bibliográficas,

REGLAMENTO PARA EL ARBITRAJE

CAPÍTULO 1

Disposiciones Fundamentales

Artículo 1. El presente **REGLAMENTO** tiene por objeto normar los principios rectores del Arbitraje de los Trabajos de Investigación, enviados por autores al Editor para su aceptación en la Revista de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes.

Artículo 2. La recepción de un Trabajo de Investigación por parte del Editor, no implica por fuerza su aceptación para ser publicado en cualquiera de los volúmenes de la Revista de la Facultad que se editen en un año. Además, no se recibirán trabajos para arbitraje que no estén acompañados de un oficio dirigido al Editor de la Revista, firmado por el autor (o responsable de una publicación en caso de ser colectiva).

Artículo 3. El Editor podrá recibir trabajos de investigación para su Arbitraje de cualquier autor de algunas de las Facultades de la Universidad de Los Andes, en primera instancia. En segundo lugar, de cualquier autor adscrito a cualquier universidad pública o privada del país. En tercer lugar, de autores de universidades extranjeras con preeminencia de América Latina.

Artículo 4. El Editor se reserva el Derecho de Admisión de los trabajos con base en lo establecido en el presente **REGLAMENTO**, y en las Instrucciones para los Autores, publicada en cada volumen editado de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 5. El Editor no recibirá para su consideración de arbitraje trabajos divulgativos en cualquiera de las áreas de competencia de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 6. El Editor aceptará para su arbitraje trabajos de investigación documental con aportes sustanciales al conocimiento científico de cualquiera de las áreas de competencia de la Revista de la Facultad de Farmacia, y que se ajusten a lo estipulado en las Instrucciones para los autores.

CAPÍTULO 2

De los Árbitros y de su Competencia

Artículo 7. El número de miembros del Comité de Arbitraje estará supeditado a las áreas de

competencia de la Revista de la Facultad de Farmacia. En todo caso, algunos miembros del Comité podrán fungir como representantes hasta de tres áreas del conocimiento, de acuerdo con su formación y experiencia científica, y será potestad del Editor su designación.

Artículo 8. Los miembros del Comité de Arbitraje podrán ser miembros del personal docente y de investigación de la Universidad de Los Andes, o de cualquier otra universidad pública o privada de la República de reconocida actividad científica y académica, con estudios de cuarto nivel.

Artículo 9. Podrán ser miembros del Comité de Arbitraje reconocidos investigadores de universidades extranjeras, cuyas instituciones mantengan convenios de cooperación y de intercambio con la Universidad de Los Andes.

Artículo 10. Podrán ser miembros del Comité de Arbitraje de la Revista de la Facultad de Farmacia investigadores sin estudios de cuarto nivel, siempre que hayan sido reconocidos por su actividad de investigación dentro o fuera de la institución a la que estén adscritos.

Artículo 11. El Editor seleccionará con base en lo expuesto en los Artículos: 7, 8 y 9 del presente **REGLAMENTO**, a los investigadores que conformarán el Comité de Arbitraje de la Revista de la Facultad de Farmacia por un periodo no mayor de dos años consecutivos, pudiendo solicitar a motu proprio su reinscripción dentro del Comité a algunos de los miembros salientes o por iniciativa de éstos.

Artículo 12. Son funciones de los árbitros, las siguientes:

a) Evaluar los trabajos de investigación de sus áreas de competencia.

b) Enviar al Editor una respuesta por escrito del trabajo considerado, en un plazo no mayor de 30 días, contados a partir de la recepción del texto.

c) Aprobar o improbar los trabajos recibidos, con base a argumentos científicos proclives a ser revisados.

d) No establecer con los autores de los trabajos ninguna comunicación referida al texto que evalúa, que conlleve interferencias y subjetividades en el

proceso. Aplicar en la evaluación argumentos científicos objetivos que permita al Editor a posterior iniciar un proceso de retroalimentación positiva con los autores, a los fines de la excelencia y transparencia del trabajo científico, y de la proyección de la Revista de la Facultad de Farmacia.

e) Aplicar en la evaluación los parámetros especificados en la Guía para los Árbitros.

Artículo 13. Los árbitros tienen derecho a recibir a cambio de su trabajo de evaluación, una constancia expedida por el Editor, a los fines de su inclusión en procesos de reconocimiento de los méritos académicos y científicos de los miembros del personal docente y de investigación de las universidades representadas en el Comité de Arbitraje.

CAPÍTULO 3

Disposiciones Finales

Artículo 14. El Editor podrá sustituir en cualquier momento a algún miembro del Comité de Arbitraje, cuando éste no haya cumplido con lo dispuesto en el presente **REGLAMENTO**. El Editor procederá de inmediato a sustituir al miembro excluido con base a lo dispuesto en los Artículos: 7, 8 y 9 del presente **REGLAMENTO**, y a notificar de inmediato su remoción al saliente.

Artículo 15. Los autores tendrán derecho a solicitar reconsideración de la evaluación de su trabajo de investigación cuando haya resultado improbadado por un miembro del Comité de Arbitraje. A tales efectos, el Editor enviará el trabajo en cuestión a ser evaluado a otro árbitro. En caso de resultar positiva la segunda evaluación, el Editor se reservará el derecho de publicar o no el trabajo sin más opiniones de expertos, con base a la disponibilidad de espacio en la Revista en el volumen que juzgue conveniente, y así se lo hará saber al autor.

Artículo 16. Con base en lo dispuesto en el Artículo anterior, las decisiones de los árbitros son inapelables y de obligatorio acatamiento por parte del autor.

Artículo 17. Los miembros del Comité de Arbitraje no percibirán remuneración económica alguna por su trabajo.

Artículo 18. Los trabajos de investigación recibirán respuesta escrita a partir de los 60 días hábiles de su recepción.

Artículo 19. Si el informe de arbitraje es positivo para un trabajo en primera instancia, el Editor se compromete a incluirlo en el volumen inmediatamente próximo de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 20. El Editor se arroga la potestad de realizar observaciones de forma a los trabajos recibidos antes de ser enviados a arbitraje, de tal manera que el autor se compromete a acatarlas sin desmedro de la trascendencia o alcance científico del trabajo.

Artículo 21. El autor se hace responsable de cualquier errata de forma y de fondo que esté incluida en el original enviado al Editor; y éste no se compromete a dar Fe de Errata en tales circunstancias.

Artículo 22. El Editor se compromete a dar Fe de Errata en aquellas circunstancias en que por inadvertencia o fallas técnicas se haya incurrido en un error no incluido en el original (papel y electrónico) enviado para su consideración por el autor. Tal procedimiento se patentizará en el volumen inmediatamente siguiente a la emisión del error, siempre y cuando el autor se lo haga saber al Editor por escrito tres meses antes de la edición del siguiente volumen de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 23. El Editor no se compromete a expedir constancias de trabajos recibidos sin que haya finalizado el proceso de arbitraje y se cuente con un informe escrito y firmado por el árbitro.

Artículo 24. Lo establecido en el presente **REGLAMENTO** será difundido en la Revista de la Facultad de Farmacia, de tal forma, que tanto autores como árbitros se solidaricen con lo aquí expuesto.

ÍNDICE ACUMULADO

Volumen 57(1) Año 2015

Obtención de derivados azufrados del ácido kaurénico y de otros kaurenos substituidos en la posición C-15 y su actividad antibacteriana.

Peña Alexis, Usubillaga Alfredo, Alarcón Libia, Velasco Judith, Aparicio Rosa.

Estudio *in situ* por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier de la oxidación electroquímica del acetaminofén en medio acuoso.

Rivas Nieto Rebeca, Martínez Yris, Materán Jesús, Ortiz Reynaldo.

Study of the chemical composition of the essential oil from the hybrid Asteraceae *Carramboa tachirensis* (Aristeg.) Cuatrec.

Obrégón-Díaz Ysbelia, Rojas-Fermín Luis, Usubillaga Alfredo, Pouységu Laurent, Quideau Stéphane.

Secondary metabolites from *Chaptalia meridensis*.

Pinto Ana Andreina, Amaro-Luis Juan Manuel.

Volumen 57(2) Año 2015

Composición química del aceite esencial de hojas frescas de *Annona muricata* L., de Mérida, Venezuela.

Meccia C., Gina; Vit Olivier, Patricia; Rojas, Luis B.; Carmona Arzola, Juan; Santiago Silva, Bertha y Usubillaga, Alfredo.

Estudio del crecimiento bacteriano. Enfoque de análisis de datos con medidas repetidas.

Peña G. Jesús A; Rosales O., Yolima Beatriz y Orlandoni M., Giampaolo.

Validación de un método analítico por cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa para la cuantificación de hidroclorotiazida y clorhidrato de propranolol en formas farmacéuticas sólidas.

Guillén Guillén, Ana; Brunetto, Rosario; León Leal, Andrés; Gallignani, Maximo A.; Lobatón

Álvarez Robert; Colón U., Sarín y Calderón G., Laura M.

Extracción y caracterización de grasa y almidón de la almendra de mango variedad Alphonso (*Mangifera indica* L).

Gutiérrez, Carlos; Rivera, Yezabel; Gómez, Rubén; Bastidas, Vanessa y Izaguirre, César.

Volumen 58(1) Año 2016

Evaluación de la actividad antimicrobiana de plantas medicinales seleccionadas del Jardín Botánico del Orinoco, municipio Heres, Estado Bolívar.

Rojas, Janne; Velasco Carrillo, Judith; Buitrago D., Alexis A.; Mender, Tamara y Rojas, John.

Fasciolosis y parásitos gastrointestinales en becerros de la Estación Experimental "ElJoque" Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

González Ramírez, Luisa Carolina; Martínez, Asdrúbal; Assouad, Manuel; Álvarez, Janeth; Gil, Florimar; Castro Vera, Trino Alberto; Pérez De Pablos, Carlos y Dávila, Ciro.

Estudio fitoquímico y actividad antioxidante de los extractos de las partes aéreas de *Euphorbia laurifolia* Juss. ex Lam.

Mogollón, José Ángel; Rondón, María Eugenia; Morales Méndez, Antonio y Contreras Moreno, Billmary Z.

Comparación de los perfiles de disolución de cápsulas de cefadroxilo comercializadas en Venezuela.

Colón U., Sarín; Guillén, Ana; Peña, Jesus Alberto; Lobatón Álvarez, Robert; León, Andrés y Calderón G., Laura M.

Volumen 58(2) Año 2016

Composición química y perfil mineral de materias primas de origen animal y vegetal utilizadas en la formulación de dietas para la alimentación de alevines de *Colossoma macropomum*.

Morillo, Marielba; Visbal, Tomas; Vielma, Rosa Alba; Peña, Liz; González, Isbelia y Medina, Ana Luisa.

Estudio fitoquímico de la resina de *Protium carana* March (Burseraceae), derivados semisintéticos de los triterpenos α/β -amirinas, determinación de su actividad antioxidante y actividad antibacteriana.

Bracho Niño, Ismer; Rojas, Luis B.; Usubillaga, Alfredo; Carmona Arzola Juan; Carrero, José; Hernández, Johanna; Deffieux, Denis; Pouységu, Laurent y Quideau, Stéphane.

Uso de chachafruto (*Erythrina edulis*) y soya (*Glycine max*) como sustituto de la harina de pescado en la formulación de dietas para alevines de coporo (*Prochilodus mariae*).

Visbal, Tomas; Morillo, Marielba; Rial, Leandra; Altuve, Daisy; Betancourt, Carlos y Medina, Ana Luisa.

Evaluación sensorial de lonjas de jamón cocido y pechuga de pavo, recubiertas con películas antimicrobianas de alginato de sodio.

Rosales O., Yolima Beatriz; Raybaudi Massilia, Rosa; Medina, Ana Luisa; Mosqueda Melgar, Jonathan y Tomé, Elisabetta.

**Volumen 59(1)
Año 2017**

Composición química del aceite esencial de las hojas de *Artemisia absinthium* L. colectada en Tovar-Edo. Mérida, Venezuela.

Rojas Fermín, Luis; Rojas Vera, Janne; Cordero de Rojas, Yndra; Handan, Mager y Carmona Arzola, Juan.

Determinación voltamétrica de citrato de sildenafil en formulaciones farmacéuticas.

Ortiz, Reynaldo; Nava, Lismar; Martínez, Yris J.; Weinhold, Elkis y Paredes R., Andreina.

***In vivo* anti-inflammatory activity of grandiflorenic acid and kaurenic acid isolated from *Coespeletia moritziana* and *Espeletia semiglobulata*.**

Rios Tesch, Nurby Nahiely; Villalobos Osorio, Darly Coromoto; Rojas Fermín, Luis; Aparicio Z., Rosa L.; Usubillaga, Alfredo; Mitaine Offer, Anne Claire; Lacaille Dubois,

Marie Aleth; Denis, Deffieux; Peixoto, Philippe; Laurent, Pouységu y Stéphane, Quideau.

Composición química del aceite esencial de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC de los Andes Venezolanos.

Buitrago B., Diolimar; Morales M., Antonio; Rojas Fermín, Luis; Aparicio Z., Rosa L. y Meléndez G., Pablo.

**Volumen 59(2)
Año 2017**

Actividad antibacteriana de diterpenos del kaurano aislados de *Coespeletia moritziana* (Sch. Bip. ex Wedd.) Cuatrec

Cordero de Rojas, Yndra; Lucena de Ustáriz, María Eugenia; Araujo, Liliana; Usubillaga, Alfredo; Rojas Fermín, Luis y Moujir, Laila.

Actividad anti-inflamatoria del extracto alcohólico de *Astronium graveolens* Jacq.

Hernández Bastidas, Vanessa; Mora V., Flor D.; Nicola, Malafronte y Nunziatina De Tommasi.

Constituyentes volátiles de las hojas de *Lepechinia bullata* (Kunth) Epling de los Andes venezolanos.

Pérez Colmenares, Alida; Rojas Fermín, Luis y Usubillaga, Alfredo.

Actividad antiinflamatoria in vivo de extractos de hojas, tallos y frutos de *Ficus maitin* Pittier.

Villalobos Osorio, Darly Coromoto; Rios, Nurby, Ramírez González, Irama Judith y Meléndez, Pablo.

**Volumen 60(1)
Año 2018**

Evaluación del balance del contenido vaginal para el diagnóstico de la disfunción vaginal.

Muñoz, Jesús; Sánchez, Kiralba y Babino Cynthia.

Actividad antimicrobiana y perfil fitoquímico de las hojas de *Connarus venezuelanus* B. var. *venezuelanus* (Connaraceae R. BR.).

García Giovanni; Rodríguez Castillo Gabriela; Velasco Carrillo, Judith; Villalobos

Osorio, Darly Coromoto y Ramírez González, Irama Judith.

Valoración del efecto de la Erdosteina en cuadros de intoxicación con Paraquat en ratas BIOU: Wistar y comparación con la N-acetilcisteína mediante determinación de malondialdehído por Espectroscopia UV.

Di Bernardo, María L.; Zambrano de Dávila Thania; Morales Yasmin; Brito Sulay; Rojas de Marin, Tibisay del Carmen; Montero Yépsy; Osorio Andrés y Montoya Dubelia.

Perfil de textura instrumental y sensorial de pastas elaboradas con *Cajanus cajan* fermentada.

Vivas Odry y Sangronis Elba.

Volumen 60(2)

Año 2018

Fenoles totales, contenido de flavonoides y actividad antioxidante de los extractos etanólicos de plantas ecuatorianas.

Rondón, María; Moncayo, Shirley; Cornejo, Xavier y Plaza, Claudia.

Un modelo de supervivencia bivariante para eventos dependientes bajo el enfoque de funciones cópulas.

Peña G., Jesús A; Ramoni P., Josefa y Giampaolo, Orlandoni.

Estudio de la composición química de los aceites esenciales de las hojas y flores de *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br. (Lamiaceae).

Araque, Emmanuel; Urbina, Daniela; Morillo, Marielba; Rojas Fermín, Luis y Carmona Arzola, Juan.

Revista de la Facultad de Farmacia. Seis décadas de trayectoria.

Gil Otaiza, Ricardo.

Volumen 61(Edición Especial)

Año 2019

Análisis de supervivencia con interacción de diabetes e índice de masa corporal en pacientes en diálisis peritoneal.

Borges P., Rafael E.; Torres-Mantilla, Hugo Alexander y González-Villar, Andrea.

Evolución del error total en la determinación de glucosa en un laboratorio de bioquímica clínica.

Molina, Karla; Torres, Jeymmy; López, María; Hurtado, María; Guillén, Leidys y Dugarte, Freddy.

Actividad larvicida de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Lepechinia bullata* contra *Tecia solanivora* Povolny.

Ramírez, Rosslyn N.; Mora V., Flor D.; Domínguez, Ilka; Rojas Fermín, Luis; Ramírez, Wilson; Peña, José y Pérez Colmenares, Alida.

Composición química y actividad biológica de los extractos de las partes aéreas de *Leonurus japonicus* (Houtt.).

Malave, María José; Mendoza, Zulimar; Morillo, Marielba; Visbal, Tomas; Rondón, María Eugenia y Carmona Arzola, Juan.

Volumen 62(Edición Especial)

Año 2020

Perfil fitoquímico, actividad biológica y fotoprotectora de las flores de *Aldama dentata* La Llave et Lex.

Isla Marylenlid, Pérez Alida, Obregon Ysbelia, Aparicio Rosa, Cordero Yndra, Díaz Clara, Isla José, Chacón Carmen, Fernández Jhender, Rojas-Fermín Luis.

Análisis fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antibacteriana de fracciones de diferentes polaridades obtenidas de *Vismia baccifera* (L.) Triana & Planch y *Vismia macrophylla* Kunth.

Buitrago-Díaz Alexis Alberto, Rojas-Vera Janne, Velasco-Carrillo Judith.

Valoración de dietas a base de *Leucaena leucocephala* (Lam.), *Machaerium* sp y *Glycine max* (Soya) para la alimentación de alevines de *Colossoma macropomum* (cachama negra).

Visbal Tomas, Morillo Marielba, Rial Leandra, Betancourt Carlos, Medina Ana Luisa.

Actualización de la imagen de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Rojas-Vera Janne, Buitrago-Díaz Alexis, Meccia Gina, Rondón María Eugenia, Rojas Julio.

Volumen 63(1)

Año 2021

Actividad antioxidante y garrapaticida de los extractos de las hojas de *Bixa orellana* L.

Chacón Arian, Morillo Marielba, Rondón María, Hernández Vanessa, Carmona Juan, Visbal Tomás.

Composición química y actividad biológica de los aceites esenciales de *Piper marginatum* Jacq. y *Piper tuberculatum* Jacq. de Ecuador.

Moncayo Shirley, Rondón María, Araujo Liliana, †Rojas Luis, Comejo Xavier, Guamán Walter, Jaramillo Soraya.

Microbiología del agua perteneciente al lago cratérico volcánico Cuicocha. Imbabura. Ecuador: Estudio inicial.

González Marco, Alarcón Diego, Araque Judith, Viteri Francisco, Villacis Luis, Escobar Sandra, Araujo Liliana, Medina Gerardo, Andueza Félix.

Estudio preliminar de la calidad nutracéutica y autenticidad de la miel con base en parámetros bioquímicos y capacidad antioxidante.

Pérez-Pérez Elizabeth, Daboin María, Pérez Mariel, Peña-Vera María, Dávila Juan, Sulbarán-

Mora Miguel.

Volumen 63(2)

Año 2021

Informe de la citología mamaria.

Toro de Méndez Morelva.

Textura y análisis descriptivo cuantitativo de galletas elaboradas con harinas de granos fermentados de *Phaseolus vulgaris* o *Cajanus cajan*.

Vivas Odry, Sangronis Elba.

Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antibacteriana del extracto metanólico de los bulbos de *Crinum moorei* Hook F.

Rojas-Vera Janne, Buitrago-Díaz Alexis Alberto, Velasco-Carrillo Judith.

Calidad fisicoquímica de los lagos Colta y Cuicocha ubicados en la alta montaña del Ecuador.

González Marco, Vásquez Paola, Alarcón Diego, Araque Judith, Viteri Francisco, Villacis Luis, Pinto Gustavo, Escobar Sandra, Medina Gerardo, Andueza Félix.



CONSEJO DE DESARROLLO CIENTÍFICO HUMANÍSTICO, TECNOLÓGICO Y DE LAS ARTES Cdchta



El **Cdchta** es el organismo encargado de promover, financiar y difundir la actividad investigativa en los campos científicos, humanísticos, sociales y tecnológicos.

Objetivos Generales:

El **Cdchta**, de la Universidad de Los Andes, desarrolla políticas centradas en tres grandes objetivos:

- Apoyar al investigador y su generación de relevo.
- Vincular la investigación con las necesidades del país.
- Fomentar la investigación en todas las unidades académicas de la ULA, relacionadas con la docencia y con la investigación.

Objetivos Específicos:

- Proponer políticas de investigación y desarrollo científico, humanístico y tecnológico para la Universidad. Presentarlas al Consejo Universitario para su consideración y aprobación.
- Auspiciar y organizar eventos para la promoción y la evaluación de la investigación.
- Proponer la creación de premios, menciones y certificaciones que sirvan de estímulo para el desarrollo de los investigadores.
- Estimular la producción científica.

Funciones:

- Proponer, evaluar e informar a las

Comisiones sobre los diferentes programas o solicitudes.

- Difundir las políticas de investigación.
- Elaborar el plan de desarrollo.

Estructura:

- Directorio: Vicerrector Académico, Coordinador del **Cdchta**.
- Comisión Humanística y Científica.
- Comisiones Asesoras: Publicaciones, Talleres y Mantenimiento, Seminarios en el Exterior, Comité de Bioética.
- Nueve subcomisiones técnicas asesoras.

Programas:

- Proyectos.
- Seminarios.
- Publicaciones.
- Talleres y Mantenimiento.
- Apoyo a Unidades de Trabajo.
- Equipamiento Conjunto.
- Promoción y Difusión.
- Apoyo Directo a Grupos (ADG).
- Programa Estímulo al Investigador (PEI).
- PPI-Emeritus.
- Premio Estímulo Talleres y Mantenimiento.
- Proyectos Institucionales Cooperativos.
- Aporte Red Satelital.
- Gerencia.

Alejandro Gutiérrez
Coordinador General

www.ula.ve/cdcht / E-mail: cdcht@ula.ve
Telf. 0274-2402785 / 2402686

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS

Decano(e)

Dra. Angela Lugo

Director de la Escuela de Bioanálisis

Dra. Ana Carolina Ramírez

Director de la Escuela de Farmacia

MSc. Robert Lobatón

Director del Instituto de Investigaciones

Dra. Yndra Cordero

Director de la Oficina de Relaciones

Interinstitucionales

Dr. José Nelson Aranguren

La Revista de la Facultad de Farmacia, posee acreditación del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes. Universidad de Los Andes-Venezuela (CDCHTA-ULA).

Esta publicación está indizada en REVENCYT, Sistema de Publicaciones Scielo, Periódica (UNAM- México), IMBIOMED, Base de datos LILACS producida por BIREME y LIVECS, y Latindex México.

Incluida en el Registro de Publicaciones Científicas y Tecnológicas del FONACIT.

ISSN 0543- 517-X Depósito Legal pp 1958 02 ME 1003

ISSN 2244-8845 Electrónico Depósito Legal ppi 2012 02 ME 4102.

La Revista de la Facultad de Farmacia se exime de compromisos con la opinión y enfoques vertidos por los autores de los materiales publicados en ella. Queda prohibida, sin la autorización del Comité Editorial, la reproducción total o parcial de los trabajos incluidos en este volumen, por cualquier medio. La misma asegura que los editores, autores y árbitros cumplen con las normas éticas internacionales durante el proceso de arbitraje y publicación. Del mismo modo aplica los principios establecidos por el Comité de Ética en Publicaciones Científicas (COPE). Igualmente, todos los trabajos están sometidos a un proceso de arbitraje y de verificación por plagio.

COMITÉ EDITORIAL

EDITORA

Dra. Janne Rojas

Instituto de Investigaciones

EDITORES HONORARIOS

Dr. Alfredo Usubillaga

Instituto de Investigaciones

Dr. Ricardo Gil Otaiza

Dpto. de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos

Dra. Beatriz Nieves Blanco

Dpto. de Microbiología y Parasitología

CUERPO EDITORIAL

Dr. Alexis A Buitrago Díaz

(Diagramación)

Dpto. de Análisis y Control

Dr. Julio Rojas

Dpto. de Toxicología

Dra. María Eugenia Rondón

Dpto. de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos

MSc. Gina Meccia,

Instituto de Investigaciones

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

Dirección de Canje (Postal address)

Prolongación Av. Humberto Tejera, Sector Campo de Oro, detrás del IAHULA, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Edificio Carlos Edmundo Salas, 1er piso. ULA. Mérida. República Bolivariana de Venezuela. Código Postal 5101 Teléfono: +58-274-2403561. Fax: +58-274-2403568

Dirección electrónica:

revfarm@ula.ve o revfarmacia@gmail.com



REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Universidad de Los Andes Facultad de Farmacia y Bioanálisis Biblioteca "Ismael Valero"

Esta versión digital de la revista de la Facultad de Farmacia, se realizó cumpliendo con los criterios y lineamientos establecidos para la edición electrónica en el año 2020.

Publicada en el repositorio institucional SaberULA

Universidad de Los Andes-Venezuela

www.saber.ula.ve, info@saber.ula.ve.

