



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE POSTGRADO EN QUÍMICA

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y COMPOSICIÓN
QUÍMICA DE ALGUNAS ESPECIES VEGETALES DE USO ETNOBOTÁNICO EN
LOS ESTADOS SUCRE Y ANZOÁTEGUI.

Lcda. Hellen Yandri Bruzual Villarroel

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al Título de Magíster
Scientiarum en Química

Cumaná, Octubre 2018

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y COMPOSICIÓN
QUÍMICA DE ALGUNAS ESPECIES VEGETALES DE USO ETNOBOTÁNICO EN
LOS ESTADOS SUCRE Y ANZOÁTEGUI.

Aprobado en nombre de la Universidad de Oriente por el siguiente Jurado Examinador:

Dr. Willian Henríquez
Tutor

Dra. Vilma Lanza

Dra. Isabel Campos

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme ver y vivir, por ser mi más fiel compañero a cada paso que doy, por fortalecer mi corazón, llenarme de sabiduría y por haber puesto en mi camino en el momento indicado a todas las personas que han sido mi soporte y compañía durante el tiempo transcurrido desde el inicio de la maestría hasta hoy.

A mi madre y hermanos que siempre han sido grandes compañeros y me han ayudado en la medida de lo posible, con sus consejos y orientaciones. En especial a mi mamá, a quien le estare eternamente agradecida por todo lo que ha sido conmigo desde siempre.

A mi padre, que aunque no está físicamente siempre ha estado conmigo y lo estará por siempre tanto en mi corazón como en cada uno de mis pensamientos.

A mi sobrino Leandro, para que éste proyecto sea una muestra de que cuando se quiere se puede y no hay límites para lograr las cosas mas allá de los que se impone uno mismo.

A mi persona, por haber superado todos los obstáculos que se presentaron en el camino durante todo este trayecto y poder cumplir con la meta propuesta.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Oriente por brindarme sus instalaciones y permitirme llevar con orgullo el honor de ser egresada de La Casa más Alta del Oriente venezolano.

Al Dr. Willian Henríquez, por los conocimientos brindados, que han sido muchos, durante todos estos años que ha sido mi asesor y guía durante mi estancia en el Laboratorio de Productos Naturales EC-412, desde el pregrado hasta la maestría, por ser mi padre en la UDO, por brindarme su confianza, su dedicación y toda su paciencia para lograr culminar con este proyecto de investigación.

A mis hermanas, hermanos y primas de laboratorio (Maria Cova, Maria Lista, Hebert, Rosibel, Daniela, Pedro, Veriuska, Laila) quienes fueron un gran apoyo durante este proceso y una fuente de aprendizaje mutuo que nos permitió avanzar en muchos proyectos, en especial éste.

Al cuasi Dr Juan Carlos Fuentes y al Max Planck Institute for Biophysical Chemistry – Göttingen en Alemania, por su muy valiosa colaboración en este proyecto en la realización de los análisis de RMN de varias de las muestras y su apoyo desde la distancia.

Al personal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) por toda su colaboración para llevar a cabo el muestreo con los ratones, en especial a los técnicos Lesme y Julio.

A los laboratorios de Resonancia Magnética Nuclear y Espectrometría de Masas del IVIC, por el apoyo brindado en la realización de los análisis de RMN mono y bidimensionales y los análisis ESI-MS.

A los profesores Euclides Velasco, Edgar Marquez y la profesora Shailili Moreno, que me acompañaron durante esta maestría, brindándome siempre su orientación con profesionalismo ético en la adquisición de conocimientos y afianzando mi formación.

A todos mis compañeros de la maestría por formar parte de este logro en conjunto para adquirir nuevos conocimientos, aplicar y mejorar lo aprendido y convertirnos en Magisters en el mismo departamento de Química que nos formó como licenciados tiempo atrás.

A todos aquellos familiares y amigos que no recordé al momento de escribir esto, gracias por su apoyo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁG.
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
ÍNDICE DE CONTENIDO	V
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	XI
RESUMEN	XIII
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	11
OBTENCION DEL MATERIAL VEGETAL	11
OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES	11
ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR	12
Alcaloides	12
Taninos y Polifenoles.....	12
Saponinas.....	13
Esteroles insaturados y Triterpenos pentacíclicos	13
Flavonoides.....	13
BIOENSAYOS	14
Actividad antibacteriana	14
Actividad antifúngica.....	14
Determinación del efecto anti-hiperlipidémico	15
Distribución de la población de animales y condiciones de estudio.	16
Inducción de hiperlipidemia.	16
Dosificación de los animales con los extractos	16
Toma y procesamiento de las muestras sanguíneas	17
FRACCIONAMIENTO	18
Extracto metanólico de la corteza de <i>Guazuma Ulmifolia</i>	18
Extracto metanólico de las hojas de <i>Terminalia catappa</i>	20
Extracto metanólico de la corteza de <i>Genipa americana</i>	21

SÓLIDO EC2, obtenido de <i>Erythroxylum cumanense</i> Kunth	21
CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS:.....	22
Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN– ¹³ C) y Protones (RMN– ¹ H)	22
Resonancia Magnética Nuclear bidimensional (HSQC, HMBC, H2BC, COSY, TOCSY)	23
Espectrometría de masas mediante ionización por electronebulización (EM-ESI)	24
Análisis Estadístico.....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
Rendimiento de los extractos y fracciones primarias obtenidos de <i>Guazuma ulmifolia</i>	25
Rendimiento de los extractos y fracciones primarias obtenidos del extracto metanólico de corteza de <i>Genipa americana</i> L. y hojas de <i>Terminalia catappa</i> L.	26
Familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos y fracciones primarias obtenidas de <i>Guazuma ulmifolia</i>	27
Familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos y fracciones primarias obtenidos de <i>Genipa americana</i> L. y <i>Terminalia catappa</i> L.	28
Actividad antimicrobiana de los extractos y fracciones primarias obtenidos de <i>Guazuma ulmifolia</i>	30
Actividad antimicrobiana de los extractos y fracciones primarias obtenidos de corteza de <i>Genipa americana</i> L. y hojas de <i>Terminalia catappa</i> L.	33
Rendimiento en masa y punto de fusión del Sólido STC	35
Rendimiento en masa y punto de fusión del Sólido SGA.....	35
Efecto anti-hiperlipidémico del sólido SGA de <i>Genipa americana</i> L (caruto).....	36
Masa promedio de los grupos de animales	36
Valores de triglicéridos obtenidos.	37
Cuantificación de colesterol total	38
Determinación del riesgo aterogénico	41
Determinación de la estructura química de los compuestos aislados:	43
Análisis espectroscópico del SÓLIDO STC, obtenido del EMHA de <i>Terminalia catappa</i> :.....	43
Análisis de RMN ¹ H del sólido STC.....	43
Análisis de RMN ¹³ C del sólido STC.....	44

Análisis de RMN bidimensional heteronuclear HSQC del sólido STC	45
Análisis de Espectrometría de masas del sólido STC	47
Análisis espectroscópico del SÓLIDO SGA, obtenido del EMC de <i>Genipa americana</i> :	47
Análisis de RMN ^1H del sólido SGA	47
Análisis de RMN ^{13}C del sólido SGA	48
Análisis de RMN ^1H de correlación homonuclear COSY del sólido SGA	49
Análisis de RMN ^1H - TOCSY del sólido SGA.....	50
Análisis de RMN de correlación directa heteronuclear HSQC del sólido SGA	52
Análisis de RMN de correlación heteronuclear a múltiples enlaces HMBC del sólido SGA.....	52
Análisis espectroscópico del SÓLIDO EC2, obtenido de <i>Erythroxylum cumanense</i> Kunth:.....	54
Análisis de RMN ^1H , ^1H -COSY y ^1H -TOCSY del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6)	54
Análisis de RMN ^{13}C - DEPTQ del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6).....	57
Análisis de RMN HSQC (pure shift) del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6).....	58
Análisis de HMBC del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6).....	60
Análisis de H2BC del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6)	61
Espectrometría de masas mediante electronebulización (ESI-MS) del sólido EC2	64
CONCLUSIONES	65
BIBLIOGRAFÍA	68

ÍNDICE DE TABLAS

		PÁG.
1	Microorganismos empleados para evaluar la actividad antibacteriana.....	14
2	Microorganismos empleados para evaluar la actividad antifúngica.....	15
3	Contenido nutricional del alimento comercial para ratones (PROTINAL®)	16
4	Separación de ratones en grupos para la administración de tratamiento con una dosis diaria o no del sólido SGA de <i>Genipa americana</i> L.....	17
5	Rendimiento de los extractos y fracciones primarias obtenidos de los diferentes órganos de <i>Guazuma ulmifolia</i>	25
6	Rendimiento de los extractos y fracciones primarias obtenidos de corteza de <i>Genipa americana</i> L. y hojas <i>Terminalia catappa</i> L.....	26
7	Familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos y fracciones primarias obtenidos de los diferentes órganos de <i>Guazuma ulmifolia</i>	27
8	Familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos y fracciones primarias obtenidos de <i>Genipa americana</i> L. y <i>Terminalia catappa</i> L.....	29
9	Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos y fracciones primarias obtenidos de <i>Guazuma ulmifolia</i>	30
10	Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos y fracciones primarias obtenidos de <i>Genipa americana</i> L. y <i>Terminalia catappa</i> L.....	34
11	Rendimiento en masa y punto de fusión del sólido STC.....	35
12	Rendimiento en masa y punto de fusión del sólido SGA.....	35
13	Masa promedio de los grupos de animales hiperlipidémicos tratados o no con el sólido SGA obtenido de <i>Genipa americana</i> L (caruto).....	36
14	Rango del perfil lipídico normal en ratones albinos.....	37
15	Contenido de triglicéridos en suero de los grupos de ratones albinos hiperlipidémicos tratados o no con el sólido SGA.....	37
16	Contenido de colesterol total en suero en ratones albinos hiperlipidémicos tratados con el sólido SGA y el fármaco comercial rosuvastatina.....	39
17	Índice de riesgo aterogénico para los ratones albinos hiperlipidémicos tratados con el sólido SGA y el fármaco comercial rosuvastatina.....	42
18	Desplazamientos químicos de RMN del sólido STC y del manitol. Biological Magnetic Resonance Data Bank (BMRDB, 2016).....	45
19	Desplazamientos químicos de RMN de la cadena lateral del sólido EC2 y de la hexanamida.	62
20	Desplazamientos químicos y correlaciones homo- y heteronucleares para el sólido EC2 obtenidos por análisis de RMN (900 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁG.
1	Hojas, ramas y fruto de <i>Guazuma ulmifolia</i> por R. Pérez en BONPLANDIA (1989).....	2
2	Estructura química de la procianidina B2.....	3
3	Estructura química de la genipina, aislada de <i>Genipa americana</i> L.....	4
4	<i>Genipa americana</i> en Biotrade (2011).....	5
5	<i>Terminalia catappa</i> L.....	7
6	Estructura química de la punicalagina.....	7
7	<i>Erythroxylum cumanense</i> Kunth (De Carvalho, 2016)	8
8	Localización del área de muestreo. Google maps®, 2016.....	11
9	Fraccionamiento del extracto crudo de corteza de guásimo	19
10	Fraccionamiento primario del extracto metanólico de las hojas de almendrón.....	20
11	Diagrama de purificación del sólido obtenido del extracto metanólico de <i>Genipa americana</i> L.....	21
12	Diagrama de obtención del sólido obtenido del extracto metanólico de hojas de <i>Erythroxylum cumanense</i> Kunth.....	22
13	Espectros RMN ¹ H del sólido STC (800 MHz, D ₂ O): a) RMN ¹ H y b) ampliación de la zona con δ_H entre 3,5 – 3,8 ppm.....	43
14	Espectro de RMN ¹³ C del sólido STC (800 MHz, D ₂ O): a) RMN ¹³ C y b) DEPT 135.....	44
15	Espectro de RMN HSQC del sólido STC (800 MHz, D ₂ O).....	45
16	Estructura química del manitol. Biological Magnetic Resonance Data Bank (BMRDB, 2016).....	45
17	Espectro de masas, mediante electronebulización ESI-MS, del sólido STC, en modo de ion negativo.....	46
18	Espectro de RMN ¹ H del sólido SGA (800 MHz, DMSO <i>d</i> ₆).....	47
19	Espectro de RMN ¹³ C del sólido SGA (800 MHz, DMSO <i>d</i> ₆).....	47
20	Espectros de RMN ¹³ C del sólido SGA (800 MHz, DMSO <i>d</i> ₆): b) DEPT-90 y c) DEPT 135.....	48
21	Espectro de RMN ¹ H-COSY del sólido SGA (800 MHz, DMSO <i>d</i> ₆).....	49
22	Correlaciones homonucleares entre protones, para la estructura del sólido SGA, determinados mediante análisis de RMN ¹ H - COSY.....	49
23	Espectro de RMN ¹ H-TOCSY del sólido SGA (800 MHz, DMSO <i>d</i> ₆).....	50
24	Correlaciones homonucleares entre protones, para la estructura del SGA, determinados mediante análisis de RMN ¹ H TOCSY.....	50
25	Espectro de RMN HSQC del sólido SGA (800 MHz, DMSO <i>d</i> ₆).....	51

26	Espectro de RMN de correlación Heteronuclear a multiple enlace HMBC del sólido SGA (800 MHz, DMSO d_6).....	52
27	Correlaciones heteronucleares entre protones, para la estructura del sólido SGA, determinados mediante análisis de RMN HMBC.....	52
28	Estructura química del 2,3,5-triazabicyclo[2.2.0]hexano	53
29	Comparación de espectros de RMN ^1H (900 MHz, DMSO- d_6) en la región entre 2,5 – 5,0 ppm obtenidos aplicando experimentos de supresión de señal del solvente: a) espectro normal, b) experimento de presaturación y c) experimento WATERGATE.....	54
30	Espectro de RMN ^1H del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6).....	55
31	Espectro RMN ^1H -TOCSY del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6)*.....	56
32	Espectro RMN ^{13}C -DEPTQ 135 del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6).....	57
33	Espectro RMN HSQC- pure shift del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6).....	59
34	Espectro RMN HMBC del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6).....	60
35	Espectro RMN H2BC del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6).....	61
36	Estructura química de la hexanamida. Spectral Database for Organic Compounds, SDBS (2018).....	62
37	Espectro de masas ESI-MS del sólido EC2.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS

I.R.B.R: Herbario “Isidro Ramón Bermúdez Romero”.

ATCC: *American Type Culture Collection*, por sus siglas en inglés.

PDA: agar papa dextrosa.

msnm: metros sobre el nivel del mar.

EMHG: Extracto Metanólico Hojas de Guásimo.

EMFG: Extracto Metanólico Frutos de Guásimo.

EMCG: Extracto Metanólico Corteza de Guásimo.

FHCG: Fracción Hexánica de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo.

FCCG: Fracción en Cloroformo de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo.

FAcCG: Fracción en Acetato de etilo de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo.

FECEG: Fracción Etanólica de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo.

FMCG: Fracción Metanólica del extracto metanólico de Corteza de Guásimo.

EMHA: Extracto Metanólico Hojas de Almendrán.

FHHA: Fracción Hexánica de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrán.

FCHA: Fracción en Cloroformo de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrán.

FAcHA: Fracción en Acetato de etilo de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrán.

FAHA: Fracción Acuosa de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrán.

EMC: Extracto metanólico de Corteza de Caruto.

SGA: Sólido obtenido del extracto EMC.

CC: Cromatografía de columna.

CCFP: Cromatografía de capa fina preparativa.

RMN: Resonancia magnética nuclear.

RMN – ¹³C: Resonancia magnética nuclear de carbono 13.

RMN – ¹H: Resonancia magnética nuclear de protones.

J: Constante de acoplamiento espín-espín.

δ: Desplazamiento químico en ppm.

uma: Unidad de masa atómica.

WATERGATE: Supresión de agua por gradiente de excitación adaptada.

COSY: Análisis RMN - ^1H de correlación homonuclear.

DEPTQ: Análisis RMN - ^{13}C de correlación homonuclear incluidos los carbonos cuaternarios.

HMQC: Análisis RMN de correlación heteronuclear C-H a un enlace.

HMBC: Análisis RMN de correlación heteronuclear C-H a más de un enlace.

H2BC: Análisis RMN de Correlación Heteronuclear entre un carbono -CH y un protón vecino a dos enlaces.

CG/EM: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

HDL: *High density lipoprotein*, siglas en inglés para lipoproteínas de alta densidad.

LDL: *Low density lipoprotein*, siglas en inglés para lipoproteínas de baja densidad.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ALGUNAS ESPECIES VEGETALES DE USO ETNOBOTÁNICO EN LOS ESTADOS SUCRE Y ANZOÁTEGUI.

RESUMEN

Se seleccionaron especies vegetales de uso etnobotánico, reportadas con efectos biológicos por habitantes de los estados Sucre y Anzoátegui, para obtener extractos de sus órganos y evaluar su actividad antibiótica, antimicótica y antilipidémica. Los extractos obtenidos a partir de hojas, frutos y corteza de *Guazuma ulmifolia* (guásimo); hojas de *Terminalia catappa* L. (almendrón), hojas de *Erythroxylum cumanense* K. y corteza de *Genipa americana* L. (caruto); fueron purificados en la medida de lo posible por medio de técnicas de extracción líquido-líquido y cromatografía de columna hasta obtener algunos compuestos presentes en los extractos con mayor bioactividad y se caracterizó químicamente los componentes aislados, mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear mono y bidimensional (RMN-¹H y RMN-¹³C), además de espectrometría de masas mediante ionización por electronebulización (EM/ESI). Luego de evaluarse la actividad antibiótica y antimicótica de los extractos se determinó que los extractos de guásimo EMHG, EMFG y FHCG inhibieron el crecimiento de la bacteria *Micrococcus luteus* mientras que EMHG, FECG y FHCG ejercieron acción contra el hongo fitopatógeno *Trichoderma viride*. El extracto metanólico de corteza de caruto, EMC, ejerció un leve efecto antibacteriano sobre *M. luteus* y antifúngico contra la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. El extracto metanólico de hojas de almendrón, EMHA, ejerció actividad antibacteriana sobre *E. coli*, *B. cereus* y *M. luteus*, y actividad antifúngica sobre *T. viride* y *R. orizae*. Se cuantificó el contenido de triglicéridos y colesterol total en suero de ratones albinos hiperlipidémicos tratados con el sólido SGA aislado de la corteza de caruto, así como con rosuvastatina como control hipolipidémico, mediante reacción con los reactivos Stanbio Triglicéridos Liquicolor® (triglicéridos) y el reactivo Helfa® (colesterol). Estos experimentos permitieron establecer que la dieta suplementada con grasa de pollo induce aumento en el contenido lipídico en los ratones, así como el tratamiento de estos animales con el sólido SGA reduce los niveles de triglicéridos y colesterol total, comparado con los valores de los animales hiperlipidémicos y los valores establecidos como normales para ratones albinos. Al determinar el índice aterogénico se destaca la eficacia del sólido SGA como posible coadyuvante en la prevención del riesgo coronario. Mediante análisis espectroscópicos de RMN de los sólidos STC, SGA y EC2, y datos bibliográficos reportados, se determinó que la estructura molecular para el sólido STC obtenido de las hojas de almendrón se corresponde con la estructura química del poliol manitol; mientras que para el sólido SGA, precipitado del extracto metanólico de la corteza de *Genipa americana*, se corresponde con la estructura química del 2,3,5-triazabicyclo[2.2.0]hexano y el sólido EC2 aislado de las hojas de *Erythroxylum cumanense* es una sal alcaloidal que posee dos sistemas de espín, uno de los cuales es una cadena lateral tipo hexanamida.

INTRODUCCIÓN

Los productos naturales desempeñan un papel importante en el desarrollo de fármacos, base de las primeras medicinas, permitiendo el descubrimiento de diferentes productos, entre ellos los antibacterianos, antifúngicos y antiparasitarios (Gamboe *et al.*, 2008). En los últimos treinta años (1981-2014), de los 1562 nuevos productos farmacéuticos aprobados por la FDA y comercializados, más de la mitad (aproximadamente el 51%) son productos naturales sin modificar, mezclas botánicas, derivados de fuentes naturales o tienen una estrecha relación con la estructura química de algún producto natural (Newman y Cragg, 2016).

Numerosas son las investigaciones enfocadas a la búsqueda de sustancias antibacterianas y antifúngicas en extractos de plantas, en parte debido a la resistencia que desarrollan dichos microorganismos frente a fármacos que se utilizan en la práctica médica. Esta situación ha llevado a la búsqueda de nuevos compuestos de origen natural con el fin de potenciar el arsenal antibacteriano. Para ello se han empleado técnicas *in vitro*, dada la sencillez y la reproducibilidad de las mismas (Ravaschino, 2007; Muñoz, 2008).

En la industria farmacéutica se hace notable la incorporación de nuevos medicamentos con los que se busca mejorar el nivel y la calidad de vida de las personas, estimulando de tal forma la industrialización de plantas medicinales y el aprovechamiento al máximo de los recursos vegetales. Los productos elaborados a base de plantas tienen menos efectos secundarios y, en general, causan menos reacciones adversas en comparación con los productos farmacéuticos sintéticos, y su empleo en la atención médica primaria puede conllevar a que se hagan ahorros económicos en la preservación de la salud de la población (Kubinyi, 1995; Franco *et al.*, 2009; Newman y Cragg, 2016).

La importancia de los productos naturales como medicinas, se fundamenta no solamente en sus efectos farmacológicos, sino en la posibilidad que ofrecen para desarrollar a partir de estas estructuras relacionadas, nuevas drogas, las cuales deben ser menos tóxicas para el ser humano que contra el blanco a tratar (Franco *et al.*, 2009; Ruiz, 2013).

En cuanto a usos tradicionales de especies vegetales, el Guásimo (*Guazuma ulmifolia*) ocupa un lugar en la medicina herbaria de muchos países tropicales; de esta planta se utilizan principalmente la corteza y las hojas. En Belice, un té de la corteza se emplea para contrarrestar la disentería y la diarrea, también para los problemas de próstata y como un estimulante uterino para ayudar en el parto. En la medicina herbaria brasileña, la decocción de la corteza se utiliza para fiebres, tos, bronquitis, asma, neumonía, sífilis y problemas hepáticos. La decocción de la corteza también se prepara y se usa tópicamente para promover el crecimiento del cabello, para combatir parásitos del cuero cabelludo y para tratar diversas afecciones de la piel (Sharapin y Pinzón, 2000; Barajas *et al.*, 2014).

Guazuma ulmifolia (Sterculiaceae) es un árbol de aproximadamente 15 m de alto, su corteza es olivácea-pardusca; presenta muchas ramas arqueadas y ramillas lepidotas. Las hojas tienen entre 5 a 15 cm de largo, y 1,5 a 7 cm de ancho. Las flores son amarillas, abundantes y olorosas. El fruto es elipsoide, de color café oscuro, entre 1,5 a 4 cm de largo y entre 1 a 2,5 cm de ancho, con pequeñas tuberosidades rugulosas; cavidades que guardan numerosas semillas grises. Se encuentra en estado nativo desde México hasta Suramérica y el Caribe, en pastos y bosques secundarios hasta los 1200 msnm (metros sobre el nivel del mar) y ha sido introducido en los trópicos de Asia y África. Es una especie de clima cálido, semihúmedo o húmedo, que crece en suelos ácidos, calizos y bien drenados (Conabio, 2014).



Figura 1. Hojas, ramas y fruto de *Guazuma ulmifolia* por R. Pérez en BONPLANDIA (1989)

La corteza del Guásimo, de acuerdo a la literatura consultada, contiene bufadienólidos, cardenólidos, esteroides insaturados, flavonoides, leucoantocianinas, beta-sitosterol y terpenoides. También contiene ácido kaurenóico ampliamente documentado a través de los años como antibacterial y antifúngico (Magos, 2008). Además de ser una fuente rica en taninos y proantocianidinas, una en particular, la procianidina B2, ayuda a validar el uso de larga data de esta planta en varios países contra la alopecia (Magos *et al.*, 2008; Barajas *et al.*, 2014). Los resultados obtenidos por Barajas *et al.* (2014) demuestran que el extracto hidroalcohólico de corteza de guásimo pulverizada (*Guazuma ulmifolia*), a la concentración de 4 mg/ml, ejerce actividad antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*.

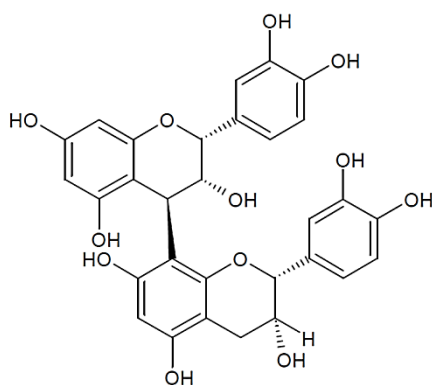


Figura 2. Estructura química de la procianidina B2.

En otro orden de ideas, el colorante azul oscuro – violeta (dependiente del pH) que se produce a partir del jugo del fruto del árbol *Genipa americana* L. (Rubiaceae), conocido con los nombres comunes de huita, jagua, caruto, tapaculo, etc. (español), *genipa* (inglés), *bois de fer* (francés) y *genipapo* (portugués), es atribuido a un principio activo denominado genipina, el cual ha sido estudiado desde diversas perspectivas, incluyendo la formulación de pigmentos de diversos colores (amarillos, azules, rojos, etc.) para la industria alimentaria y de cosméticos decorativos, como entrecruzante atóxico para la formulación de hidrogeles basados en biopolímeros con grupos amino, para la preparación de bioadhesivos usados en el tratamiento de heridas y como soporte a base de proteínas para la regeneración de nervios, como reactivo forense para el levantamiento de huellas dactilares latentes en productos de papel, etc. (Lárez *et al.*,

2014).

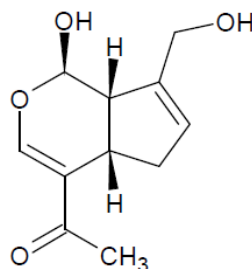


Figura 3. Estructura química de la genipina, aislada de *Genipa americana* L.

La especie *Genipa americana* (Rubiaceae) cuyo nombre deriva de *tupi-guarani* que significa mancha oscura o fruto que sirve para pintar; americana: procedente de América. Es un árbol de tamaño pequeño a mediano, de 8 a 20 m de altura, sin embargo se encuentran especímenes de hasta 30 metros. El diámetro del tronco es de 30 a 80 cm y tiene una corteza gruesa y suave. Cuenta con una copa densa y las ramas más bajas crecen más o menos en forma horizontal, con 10 a 35 hojas en los extremos. Su fruto es grande, tipo baya, de 9 a 15 cm de largo, 7 a 9 cm de ancho, con una masa entre 200 y 400 g; tiene una capa delgada y correosa de 1 a 2 cm de espesor, y su pulpa es de color amarillo-marrón. Las semillas son duras, planas y de color marrón oscuro. Son de 10 a 12 mm de longitud. Crece naturalmente a lo largo de ambas costas en México y a través del norte de América del Sur hasta Paraguay y el norte de Argentina. Esta especie también se puede encontrar en las Antillas Mayores (a excepción de Jamaica) y en muchas de las islas de las Antillas Menores. (Francis, 1993; Biotrade, 2011).

A esta especie se le atribuye una amplia variedad de usos medicinales. La decocción de las hojas tiene potencial antidiarreico y antisifilico (Corrêa, 1984). Souza *et al.* (2013) le atribuyen propiedades antianémicas, depurativas y como coadyuvante para tratar contusiones y dislocaciones. Además de los iridoides característicos de la familia Rubiaceae, se ha identificado en *Genipa americana* la presencia de taninos (Revilla, 2001), monoterpenos (Ono *et al.*, 2007) y esteroides (Conceição *et al.*, 2011).

Diferentes estudios han indicado el potencial de *Genipa americana* para su uso en el tratamiento del asma (Deng *et al.*, 2013), padecimientos oftálmicos (Koriyama *et al.*,

2013; Son g *et al.*, 2013), acción antiviral (Lin *et al.*, 2013), desórdenes cardiovasculares (Zhang *et al.*, 2013), antidepresivo (Tian *et al.*, 2010), en tratamientos para el Alzheimer (Wang *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2012; Nam *et al.*, 2013; Gao *et al.*, 2014) y potencial antiinflamatorio (Fu *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2012) (Kim *et al.*, 2012; Dando *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2013).



Figura 4. *Genipa americana* en Biotrade (2011)

La especie vegetal conocida como almendrón (*Terminalia catappa* L.), es una combretácea ampliamente distribuida en zonas tropicales y subtropicales. Las hojas de esta planta han sido empleadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la dermatitis y la hepatitis en Taiwan, India, Filipinas, Malasia e Indonesia (Hernández *et al.*, 2003). En el sudeste asiático, las hojas y cortezas son ampliamente utilizadas por sus pobladores como una medicina popular para tratamientos contra dermatosis, hepatitis, candidiasis y otras infecciones orales, y enfermedades intestinales en niños (Venkatalakshmi *et al.*, 2016).

Etnobotánicamente se utiliza el cocimiento de las hojas para bajar la presión arterial, mezcladas con aceite alivian los dolores de pecho, cuando adquieren coloración roja se usan como vermífugas y secas son usadas para el tratamiento de los patógenos que afectan a los peces como una alternativa a los antibióticos (Venkatalakshmi *et al.*, 2016). La corteza raspada o molida se toma para calmar la diarrea y los cotiledones de las

semillas secas se comen crudo para bajar el colesterol. Tiene un fruto alimenticio, antidiarreico, útil contra las migrañas y los cólicos (Muhammad y Mudi, 2011).

En la medicina moderna, se han reportado muchos estudios farmacológicos sobre varios extractos de las hojas y cortezas, a los cuales se les atribuyen ciertos efecto anti-cáncer (Zhai, 2001), antioxidante (Masuda *et al.*, 1999; Kinoshita *et al.*, 2007; Kotti y Anand, 2014), anti-HIV transcriptasa inversa (Tan, 1991), hepatoprotector (Masuda *et al.*, 1999, Jing, 2004; Kinoshita *et al.*, 2007), antiinflamatorio y analgésico (Vijaya *et al.*, 2015) antidiabético (Berry *et al.*, 2007).

De igual manera, a *Terminalia catappa*, se le han atribuido propiedades antifúngicas contra *Pythium ultimum*, *Phytophthora parasítica*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus*, *Curvularia lunata*, *Aspergillus niger* y *Penicillium chrysogenum* (Goun, 2003; Mandloi *et al.*, 2013; Venkatalakshmi *et al.*, 2016), y las propiedades antibacterianas frente a *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *S. subflava*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. testosteroni*, *P. pseudoalcaligenes*, *Citrobacter freundii*, *Micrococcus flavus*, *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *S. cremoris* y *S. agalactiae* (Pawar y Pal, 2002; Kloucek, 2005; Nair y Chanda, 2008; Akharaiyi *et al.*, 2011; Ladokun y Ojezele, 2011; Venkatalakshmi *et al.*, 2016).

Terminalia es un género de grandes árboles de la familia combretácea, con 100 especies distribuidas en regiones tropicales del mundo. Este género trae su nombre del latín *terminalis-e*, en los extremos, aludiendo a la forma de crecer sus hojas en los extremos de las ramas. *Catappa*, de su nombre popular malayo *katappan*. *Terminalia catappa* es un árbol de 4 a 5 metros de altura poco ramificado, hojas verde claro con tinte rojizo en el ápice, coriáceas glabras y bastantes grandes, flores pequeñas hermafroditas con espigas amarillentas, fruto ovado-elíptico que contiene una semilla. Los frutos jóvenes tienen un pericarpio blando, afieltrado, cuya parte interna va haciéndose gradualmente esclerenquimatosa a medida que el fruto madura, para formar un endocarpio hueco o

cáscaras. Las cáscaras se componen fundamentalmente de células esclerenquimatosas, a veces se muelen para adulterar drogas pulverizadas (Alvez, 2008).



Figura 5. *Terminalia catappa* L.

Según Muhammad y Mudi (2011), Ruiz (2013) y Venkatalakshmi *et al.* (2016), las hojas de *Terminalia catappa* contienen varios flavonoides (apigenina, isovitexina, rutina, kamferol o quercetina), varios taninos (ácido gálico, ácido elágico, punicalina y punicalagina), saponinas y fitosteroles.

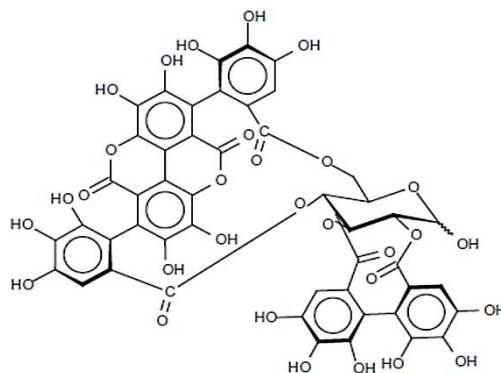


Figura 6. Estructura química de la punicalagina.

En otro orden de ideas, *Erythroxylum cumense* Kunth (Erythroxylaceae), es una especie perteneciente al género *Erythroxylum*, que se encuentra distribuida por el Caribe, Colombia, Guyana, Surinam y Venezuela. El género *Erythroxylum* comprende especies de porte arbustivo o arbóreo, siendo el mayor entre los cuatro géneros de la familia

Erythroxylaceae, teniendo sus principales centros de diversidad y endemismo en Venezuela, Brasil y Madagascar (Plowman, 2001; Wanderley *et al.*, 2002 y Daly, 2004). Químicamente, este género se caracteriza por la presencia de alcaloides del grupo tropano, dentro de los que se destaca la cocaína, un alcaloide natural que es producido, principalmente por *Erythroxylum coca* y *Erythroxylum novogranatense* (Zuanazzi *et al.*, 2001; De Carvalho, 2016), diterpenos (Ansell *et al.*, 1993; Santos *et al.*, 2005), flavonoides (Chaves *et al.*, 1988; Zuanazzi *et al.*, 2001; Johnson *et al.*, 2003), taninos (Bonefeld *et al.*, 1986) y triterpenos con esqueleto oleanano y lupano (Chaves *et al.*, 1996; Barbosa *et al.*, 2014).



Figura 7. *Erythroxylum cumanense* Kunth (De Carvalho, 2016).

Especies de *Erythroxylum* son utilizadas en la medicina popular como antiinflamatoria, antibacteriana, laxante, diurético, tónico estimulante, contra hemorragias, disfunciones hepáticas, renales, vesiculares y respiratorias como neumonía, tuberculosis y bronquitis asmática (Barreiros *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2006; De Carvalho, 2016). Las plantas de este género han sido largamente usadas para el tratamiento de infecciones bacterianas (*Erythroxylum catuaba*, *argentinum*, *suberosum*, *caatingae* y *delagoense*), amenorrea, hemorragia, molestias renales (*Erythroxylum havanense*) y respiratorios, gripes, sinusitis, tuberculosis (*Erythroxylum havanense*, *sideroxyloides* y *lucidum*), dolores de estómago, para combatir la fatiga, como antiinflamatorio (*Erythroxylum argentinum*),

estimulante (*Erythroxylum catuaba*, *vacciniifolium* y *coca*), antitumoral (*Erythroxylum zeylanicum* y *lucidium*), antihelmíntica (*Erythroxylum moonii*, *zeylanicum*, *pervillei* y *rotundifolium*) y antifúngico (*Erythroxylum Suberosum*, *caatingae* y *daphnites*) (Silva *et al.*, 2001; Barreiros *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2006; Rodeiro *et al.*, 2008; Barbosa *et al.*, 2014; De Carvalho, 2016).

Se ha comprobado la actividad biológica de *Erythroxylum catuaba* contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e inhibe el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y contra infecciones oportunas en pacientes con VIH (Manabe *et al.*, 1991). *E. vacciniifolium* también ejerce efecto contra infecciones oportunas en pacientes con VIH y está constituida por alcaloides tropánicos de la serie catuabina (A, B y C) (Zanolari *et al.*, 2003). *E. lucidium* presenta actividad anti herpes viral y el extracto metanólico provoca inhibición tumoral (Brachet *et al.*, 1997). *E. argentinum* posee actividad analgésica y antiinflamatoria (Chaves *et al.*, 1988).

Segun Rahman *et al.* (1998) y Santos *et al.* (2013) *E. moonii* posee actividad anti-helmíntica y también es usada para controlar la supuración de furúnculos y abscesos. *E. zeylanicum* es utilizada como anti-helmíntica (Brigmann *et al.*, 2000). Los alcaloides obtenidos de *E. pervillei*, pervilleinas A y B, sirven para tratar dolor abdominal y tumores (Silva *et al.*, 2001). La pervilleinas obtenidas de *E. rotundifolium* también inhiben el crecimiento de carcinoma en células KB-VI (Chavez *et al.*, 2002). Estudios realizados a *E. suberosum* mostraron que la especie presenta eficiente actividad antimicrobiana contra los hongos *Candida Krusei*, *Candida glabrata* y *Criptococcus neoformans* y bacterias de la especie *Staphylococcus aureus* (Violante, 2008). Según Maia *et al.*, 2014, un extracto de *E. caatingae* presentó actividad anticonceptiva; *E. tortuosum* posee actividad laxante natural (Castro, 2009); *E. anguifugum* tiene en su raíz sustancias eficaces contra la picada de cobra (Martis, 2014).

Estudios futuros que deriven de resultados demostrados en algunas de las investigaciones ya mencionadas, pueden ser realizados con la finalidad de comprobar la actividad y composición química de los extractos de ciertas especies vegetales y validar

sus usos en la medicina tradicional para los diferentes padecimientos a los cuales causa efecto. Adicionalmente, la implementación de métodos experimentales que permitan un efectivo aislamiento de las moléculas responsables de dicha bioactividad en cada extracto, permitirá establecer el verdadero potencial medicinal de las plantas, que puede deberse a complementos sinérgicos entre sustancias del extracto crudo o interacciones con otras sustancias presentes en el mismo (Campos *et al*, 2005; Valencia *et al*, 2011).

En este sentido, se hace necesario encontrar nuevas sustancias con actividad biológica, con menores efectos colaterales, que permitan la aplicación de tratamientos más efectivos contra padecimientos humanos, y el campo de los productos naturales es una valiosa elección para la búsqueda de sustancias que mejoren el perfil de seguridad y efectividad, además de ser económicamente accesibles, representando así una alternativa promisorio en el avance de nuevas y eficaces estrategias terapéuticas para ciertas enfermedades. Razón por la cual, se pretendió como objetivo general el estudio químico biodirigido de extractos obtenidos a partir de plantas de uso etnobotánico recolectadas en algunas localidades de los estados Sucre y Anzoátegui.

Lo cual condujo a seleccionar especies vegetales de uso etnobotánico empleadas por los habitantes de los estados Sucre y Anzoátegui. Para obtener extractos de los órganos de las especies vegetales previamente reportadas con efectos biológicos, evaluar la actividad antibiótica y antimicótica de los extractos de las plantas recolectadas, purificar en la medida de lo posible algunos compuestos presentes en los extractos con mayor bioactividad y caracterizar químicamente los componentes aislados, mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN- ^1H y RMN- ^{13}C), además de espectrometría de masas mediante ionización por electronebulización (EM/ESI).

METODOLOGÍA

OBTENCION DEL MATERIAL VEGETAL

Las hojas, frutos y corteza de *Guazuma ulmifolia* se recolectaron en la localidad de Cumanacoa – municipio Montes – estado Sucre; las hojas de *Terminalia catappa* L. y *Erythroxylum cumanaense* K. se recolectaron en los jardines de la Universidad de Oriente Núcleo Sucre – Cumana – municipio Sucre – estado Sucre, y las muestras de corteza de *Genipa americana* L. en la localidad de Onoto – municipio Juan Manuel Cajigal – estado Anzoátegui. Luego, se trasladaron al Laboratorio de Productos Naturales EC-412 del Departamento de Química, Núcleo de Sucre, de la Universidad de Oriente para su procesamiento. La identificación de todo el material vegetal se realizó por comparación con especímenes depositados en el Herbario I.R.B.R del Departamento de Biología, Núcleo de Sucre de la UDO.

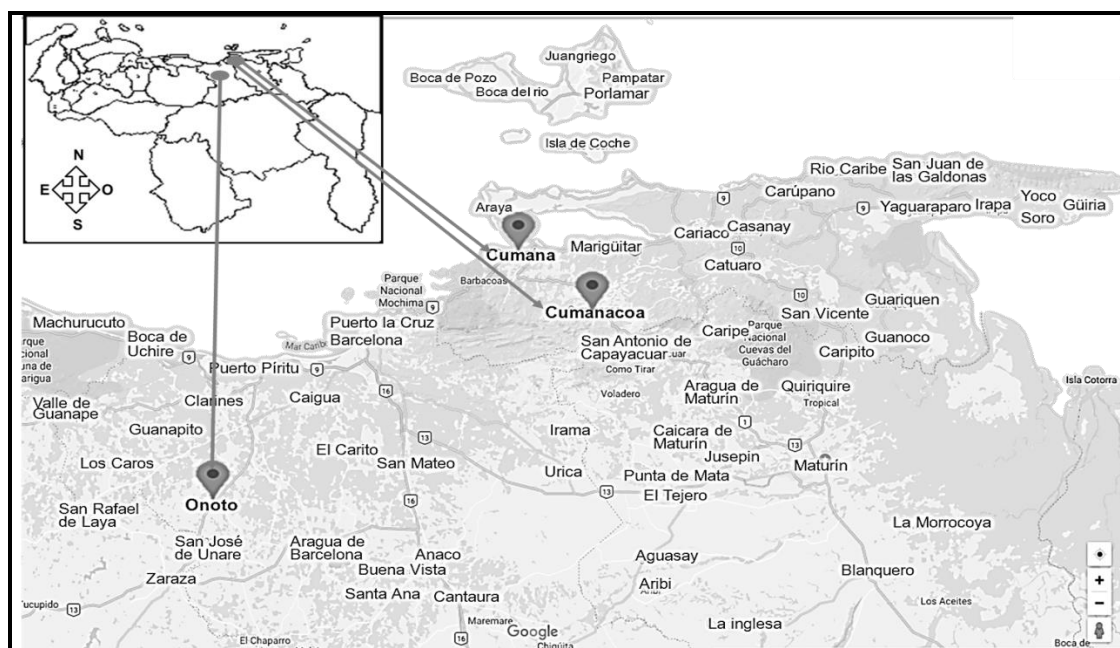


Figura 8. Localización del área de muestreo. Google maps®, 2016.

OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Los órganos de los especímenes recolectados se dejaron secar en la sombra, a temperatura ambiente. Fueron pulverizados por separado, utilizándose un molino

eléctrico. El material orgánico obtenido se maceró con metanol, con el fin de extraer el mayor número de metabolitos secundarios, hasta agotamiento. Posteriormente, las soluciones se concentraron bajo presión reducida, utilizándose un rotaevaporador marca Büchi 461, para eliminar el solvente, para, así, obtener los extractos crudos, por separado, a los cuales se les evaluó su actividad biológica y se les realizaron pruebas químicas y fraccionamientos cromatográficos.

ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

Se realizaron pruebas químicas para detectar familias de compuestos presentes en los extractos obtenidos, siguiendo los procedimientos descritos por Marcano y Hasegawa (2002), para detectar la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, taninos, polifenoles, saponinas, esteroides insaturados, triterpenos pentacíclicos y flavonoides.

Alcaloides

La muestra a evaluar fue resuspendida en ácido clorhídrico al 10% y particionada con cloroformo. La fase acuosa fue alcalinizada con hidróxido de amonio y extraída posteriormente con cloroformo. Las tres fases fueron ensayadas con los reactivos de Dragendorff, Wagner y Meyer, para detectar alcaloides básicos, débilmente básicos y sales cuaternarias de amonio, por la formación de productos de adición insolubles entre el nitrógeno del alcaloide y el reactivo a emplear, precipitado de coloración rojo-naranja (reactivo Dragendorff), sólido blanco (reactivo Mayer) y precipitado marrón (reactivo de Wagner).

Taninos y Polifenoles

Los compuestos fenólicos en las muestras ensayadas fueron detectados por producir una coloración parda, en presencia de una solución etanólica de cloruro de hierro (III) al 1%. Para ello, el extracto seco fue resuspendido en agua y filtrado antes de que ocurriera la reacción con cloruro de hierro (III). La presencia de taninos generó la formación de un precipitado blanco al tratar la muestra con una solución de gelatina al 1% en cloruro de sodio al 1%.

Saponinas

La presencia de saponinas se evidenció por la formación de por lo menos 1 cm de espuma por encima de la solución que permanece estable al menos 15 min, cuando se agitó la muestra luego de agregársele agua destilada. También se llevó a cabo la prueba para saponinas con el reactivo de Rosenthaler, que consistió en agregarle a una pequeña cantidad de muestra, en un tubo de ensayo, 1 gota del reactivo de vainillina en etanol y 1 gota de ácido sulfúrico, asumiéndose positiva la presencia de saponinas al presenciar una coloración violeta.

Esteroles insaturados y Triterpenos pentacíclicos

La muestra a probar fue hidrolizada con ácido clorhídrico al 10% v/v y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se mezcló con el reactivo de Liebermann-Burchard (1 ml de anhídrido acético frío mezclado con dos o tres gotas de ácido sulfúrico concentrado), una coloración rojiza se consideró positiva para triterpenos, mientras que coloraciones azul-verdosa, indicaron la presencia de esteroides, por la formación de un cromóforo ácido colestano-hexano-sulfónico.

Flavonoides

Una solución del extracto crudo se trató con: ácido clorhídrico concentrado y virutas de magnesio; al producirse una coloración roja luego de 20 min, se asumió la presencia de flavonoides debido a que éstos producen coloraciones rojizas con el núcleo benzopirona cuando a sus disoluciones acuosas o alcohólicas se les adiciona magnesio seguido de HCl concentrado por la formación de complejos organometálicos con el magnesio. Adicionalmente, una gota del extracto, se absorbió sobre papel de filtro y se roció con una solución etanólica de cloruro de aluminio al 1%. La aparición de una mancha fluorescente amarilla bajo luz ultravioleta indica la posible presencia de flavonoides, por la formación de quelatos entre el núcleo flavonoidal (flavonoides dihidroxilados en posición orto e hidroxilados en las posiciones 3 y 5) y los iones aluminio en solución.

BIOENSAYOS

Actividad antibacteriana

Se evaluó el efecto antibacteriano de los extractos, fracciones y/o compuestos aislados de las especies vegetales en estudio, utilizándose algunas cepas bacterianas suministradas por la Sociedad Venezolana de Microbiología y otras de origen comercial ATCC (Colección Americana de Cultivos Tipo, según sus siglas en inglés). La actividad antibacteriana se determinó mediante la técnica de difusión en agar llamada antibiograma, la cual consiste en impregnar discos estériles de papel de filtro Whatman N° 3 de 6 mm de diámetro con una solución, de concentración conocida (40 mg/ml) de los extractos o fracciones obtenidos, además de un disco control impregnado con el solvente en el cual se disolvieron las muestras.

Estos discos fueron colocados sobre la superficie de placas de Petri, previamente servidas con agar Müeller – Hinton e inoculadas con una suspensión bacteriana estandarizada por comparación con un patrón MacFarland 0,5 (Cona, 2003). Luego, las placas se preincubaron a 5°C durante 12 horas en una nevera y, seguidamente, se colocaron a 37°C durante 24 horas, en una estufa eléctrica de temperatura regulable marca “P-Selecta”. Finalmente, se verificó el efecto antibacteriano producido por los extractos sobre las cepas de las diferentes especies de microorganismos, midiéndose los diámetros de los halos de inhibición alrededor de los discos, con una regla milimetrada.

Tabla 1. Microorganismos empleados para evaluar la actividad antibacteriana.

Microorganismos	Origen	Tinción de Gram
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	+
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 10240	+
<i>Bacillus cereus</i>	IBE (DOC-16)	+
<i>Escherichia coli</i>	SU 3912-41	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	-

Actividad antifúngica

El efecto antifúngico de los extractos, fracciones y compuestos aislados se evaluó sobre cepas de hongos patógenos y fitopatógenos. La actividad fue valorada utilizando el

método de difusión en agar, llamado antibiograma, en el cual las cepas de hongos se incubaron durante una semana a temperatura ambiente en tubos de vidrio inclinados que contenían cuñas de agar papa dextrosa (PDA). Seguidamente, se les añadió a cada tubo 10 ml de agua destilada estéril, se agitó fuertemente y se filtró sobre gasa estéril. Las suspensiones obtenidas contenían esporas de las cepas de hongos, las cuales fueron inoculadas posteriormente. Cada suspensión fue inoculada sobre cápsulas de Petri, previamente servidas con agar PDA.

Finalmente, se colocaron sobre las placas los discos de papel de filtro, Whatman N° 3, de 6 mm de diámetro impregnados con una solución, de concentración conocida (40 mg/ml), de los extractos o fracciones a ensayar, y un disco control impregnado con el solvente en el cual se diluyeron las muestras a ensayar. Finalmente, las placas se dejaron incubar durante 48 horas a temperatura ambiente, para, luego, medirse la actividad antifúngica como el diámetro de halo de inhibición de crecimiento fúngico (Cona 2003).

Tabla 2. Microorganismos empleados para evaluar la actividad antifúngica.

Microorganismos	Origen
<i>Aspergillus niger</i>	Lab. Micología
<i>Rhizopus oryzae</i>	Lab. Micología
<i>Penicillium hirsutum</i>	Lab. Micología
<i>Trichoderma viridis</i>	Lab. Micología
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CVCM 1422

Determinación del efecto anti-hiperlipidémico

El procedimiento para la determinación del efecto anti-hiperlipidémico del sólido SGA obtenido del extracto crudo de *Genipa americana* L., fue determinado usando ratones albinos en condiciones normales de salud, suministrados por el Instituto Nacional de Investigaciones Acuáticas (INIA-Cumaná), durante 60 días, dividido en dos etapas: la primera fase consistió en la preparación del alimento rico en grasa (20% m/m) e inducción de hiperlipidemia en los ratones mediante alimentación durante 30 días y una segunda fase donde se aplicó el tratamiento con la muestra para determinar la acción sobre los ratones hiperlipidémicos, que consistió de 30 días continuos de tratamiento con una solución de la muestra vía oral.

Distribución de la población de animales y condiciones de estudio.

Se utilizaron 12 ratones albinos machos, con edad de 4 semanas y una masa ~ 24 g, en el momento de inicio del experimento; los roedores fueron mantenidos en jaulas de metal especial para cría de ratones 43x23x22cm, con capacidad para cinco animales. Los animales fueron mantenidos bajo condiciones estándar a temperatura promedio de 25°C, humedad relativa de 75% y ciclos luz/oscuridad de 12 h. Los ratones fueron separados en grupos de tres animales por jaula; tres grupos de tres ratones fueron mantenidos con alimento rico en grasa para garantizar el aumento del contenido lipídico en su organismo y el otro grupo fue alimentado sólo con alimento estándar (PROTINAL®) para roedores (Fan *et al.*, 2004).

Inducción de hiperlipidemia.

La dieta suministrada consistió en un alimento convencional estándar para roedores, con un contenido nutricional balanceado, presentado en la tabla 3; el cual fue suplementado con grasa de pollo en una relación de 80% de alimento estándar para roedores y 20% de grasa de pollo. Se prepararon porciones de 2 kg de alimento para asegurar preservación del mismo, para ello los pellet del alimento fueron sumergidos en aceite de la grasa de pollo por un lapso de tiempo de 2 horas, luego los pellet fueron separados y almacenados para que se escurriera el remanente de aceite no absorbido, finalmente pesados para cuantificar el contenido de grasa absorbida, relación que fue determinada en $\sim 20\%$ de grasa absorbida.

Tabla 3. Contenido nutricional del alimento comercial para ratones (PROTINAL®).

Nutrientes	%
Proteínas	19,53
Fibra	3,24
Cenizas	4,73
Energía bruta (kcal/g)	3,99
Energía metabolizable (kcal/g)	3,30
Grasa	1,0

Dosificación de los animales con los extractos

En base a la metodología descrita por Nagarajan (2005), en la segunda fase de la

investigación se llevó a cabo la administración del tratamiento a base del fármaco comercial Rosuvastatina (8,3 mg extracto/kg ratón por día) y del sólido SGA (25 mg extracto/kg ratón por día), administrado vía oral en una dosis diaria de 200 µl, tomando en consideración que los animales tenían masa promedio de 30 g, después del periodo de inducción de la hiperlipidemia. Adicionalmente, al grupo de ratones alimentados con dieta estándar y al otro grupo hiperlipidémico, denominados como control normal y control hiperlipidémico, respectivamente, fueron tratados sólo con 200 µl de agua destilada, para asegurar que no hubo ninguna perturbación en el contenido lipídico en los animales por agentes externos y así tener una buena relación de este parámetro entre los animales tratados o no con la muestra SGA. El tratamiento fue administrado durante 30 días, una dosis diaria y a la misma hora (10 am), aplicado de forma oral a cada animal con una jeringa para insulina y así garantizar la ingesta de la dosis estipulada. En la tabla 4 se presentan los grupos formados para esta fase. Durante esta etapa de tratamiento fue suspendida la alimentación rica en grasa y se usó el alimento para roedores en la condición nutricional indicada en la tabla 3.

Tabla 4. Separación de ratones en grupos para la administración de tratamiento con una dosis diaria o no del sólido SGA de *Genipa americana* L.

Grupo	Tratamiento	Dosis (mg muestra /kg ratón por día)
I Control Normal	Agua	-
II Control Hiperlipidémico	Agua	-
III Hiperlipidémico Tratado	Rosuvastatina	8,3
IV Hiperlipidémico Tratado	SGA	25

Toma y procesamiento de las muestras sanguíneas

Una vez culminado el tratamiento a los ratones con las dosis de SGA y el medicamento hipolipidémico Rosuvastatina, se realizó la toma de muestra de sangre para la cuantificación del contenido lipídico. Para ello, los animales fueron sedados con cloroformo, luego, a través de una incisión ventral con prolongación a la región pectoral permitió observar el corazón, y mediante una punción con una inyectadora en el ventrículo derecho del corazón se extrajo la muestra de sangre. Finalizada la extracción de sangre, las muestras fueron almacenadas bajo refrigeración en hielo y trasladadas al

laboratorio clínico María Sofía, del Centro de Diagnóstico Integral ubicado en el Peñón, Cumaná – Estado Sucre, para su procesamiento. Las diferentes muestras sanguíneas fueron centrifugadas en tubos de vidrio a 6000 rpm para extraerse el suero sobrenadante y con éste determinar los valores séricos de perfil lipídico. Para ello, se utilizó para determinar el contenido de colesterol un kit comercial marca Helfa[®] y para triglicéridos un kit comercial marca Stanbio Triglicéridos Liquicolor[®], siguiendo la metodología del punto final o equilibrio que se fundamenta en incubar la muestra y el reactivo durante 5 minutos a 37 °C, para completar la reacción del contenido lipídico en la muestra. Si no fuese así y quedase parte de la sustancia sin reaccionar, al realizar la medida del complejo formado, se estaría midiendo menor cantidad de la que realmente hay; por esta razón se mide al final de un tiempo fijo de incubación, establecido de tal forma que haya reaccionado todo el contenido lipídico. Las muestras se procesaron de forma manual en un equipo Millenium III Stat fax. Las lecturas de los valores del contenido lipídico se obtuvieron en concentraciones de mg/dl.

FRACCIONAMIENTO

Los procedimientos de separación de las fracciones para los extractos crudos de la corteza de *Guazuma Ulmifolia*, las hojas de *Terminalia catappa*, la corteza de *Genipa americana* y el sólido EC2 obtenido de *Erythroxylum cumanense* Kunth, se detallan a continuación:

Extracto metanólico de la corteza de *Guazuma Ulmifolia*.

El extracto metanólico de corteza de guásimo (EMCG) se obtuvo de la siguiente manera: en principio se realizó la maceración metanólica de la corteza seca de guásimo, luego se filtró la solución alcohólica y se procedió a la extracción de dicho solvente por evaporación a presión reducida, para así obtener el crudo EMCG que, posteriormente, fue biparticionado con solventes orgánicos de polaridad creciente. En principio, se redisolvió el EMCG en metanol y se le agregó hexano en varias porciones para extraer con él los compuestos menos polares hasta agotamiento y así obtener la Fracción Hexánica de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo (FHCG).

Luego, a la solución metanólica resultante, se le agregó cloroformo, repitiéndose el procedimiento anterior hasta obtener la Fracción en Cloroformo de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo (FCCG). Continuándose con la extracción, se añadió acetato de etilo a la solución metanólica, pero para lograr una buena separación en la interfase, hubo que agregársele una pequeña porción de agua destilada y lograr obtener así la extracción de la Fracción en Acetato de etilo de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo (FAcCG).

Para extraer la porción de agua añadida a la solución metanólica y continuar el proceso de extracción, se procedió a rotaevaporarla agregándosele varias porciones de butanol hasta su secado. Luego de este proceso, se disolvió el extracto obtenido en etanol y se extrajo la parte soluble en dicho solvente para obtener la Fracción Etanólica de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo (FECG). El sólido restante se disolvió en metanol y de la parte soluble se obtuvo la Fracción Metanólica del extracto en metanol de la Corteza de Guásimo (FMCG). El sólido restante, al final de todo el proceso, fue descartado.

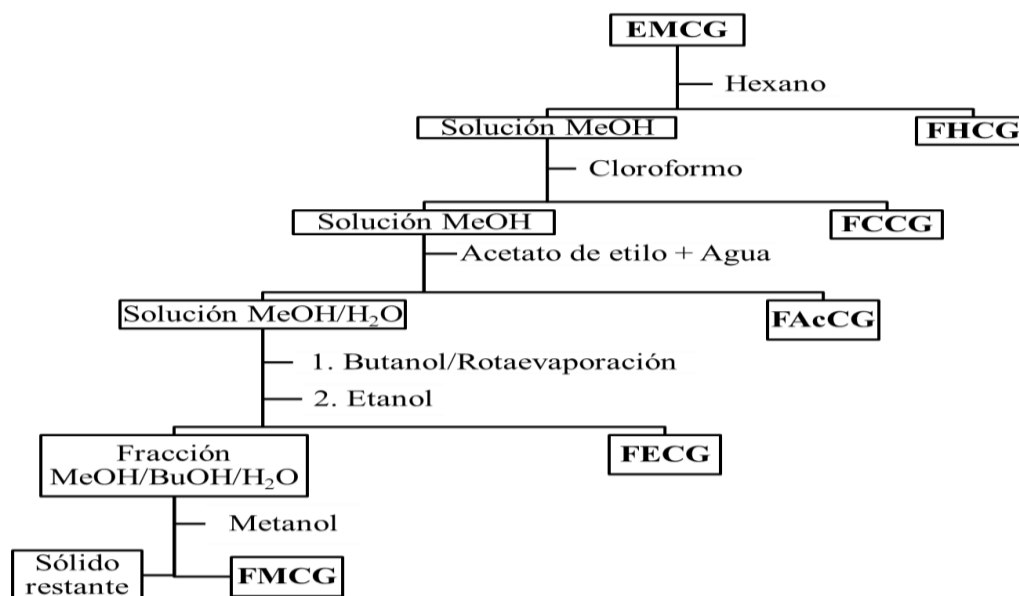


Figura 9. Fraccionamiento del extracto crudo de corteza de guásimo.

(EMCG: Extracto Metanólico Corteza de Guásimo; FHCg: Fracción Hexánica de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo; FCCG: Fracción en Cloroformo de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo; FAcCG: Fracción en Acetato de etilo de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo; FECG: Fracción Etanólica de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo; FMCG: Fracción Metanólica del extracto en metanol de la Corteza de Guásimo).

Corteza de Guásimo; FMCG: Fracción Metanólica del extracto metanólico de Corteza de Guásimo)

Extracto metanólico de las hojas de *Terminalia catappa*

Se realizó un proceso similar al llevado a cabo para el fraccionamiento primario del EMCG de guásimo, detallado anteriormente. El extracto metanólico de hojas de almendrán (EMHA) se obtuvo dejando las hojas secas de almendrán en maceración con metanol, luego se filtró la solución alcohólica y se procedió a la extracción de dicho solvente por evaporación a presión reducida, para así obtener el crudo EMHA que, posteriormente, fue biparticionado con solventes orgánicos de polaridad creciente. El fraccionamiento primario del extracto metanólico de las hojas de *Terminalia catappa*, se muestra a continuación:

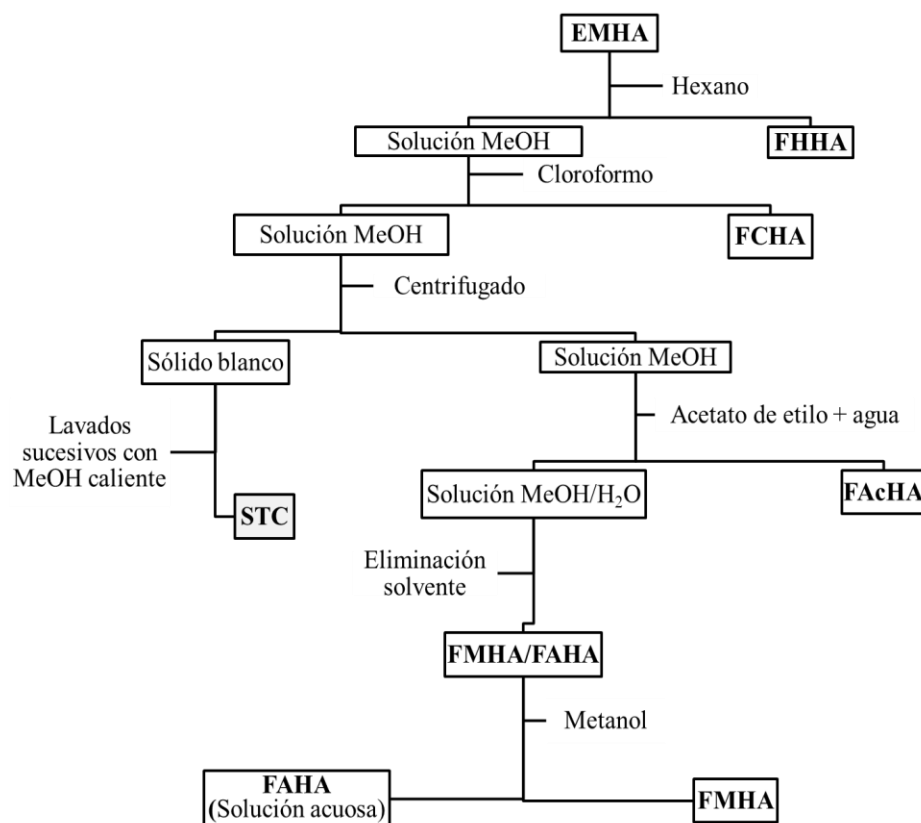


Figura 10. Fraccionamiento primario del extracto metanólico de las hojas de almendrán.

(EMHA: Extracto Metanólico Hojas de Almendrán; FHHA: Fracción Hexánica de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrán; FCHA: Fracción en Cloroformo de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrán; FAcHA: Fracción en Acetato de etilo de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrán; FAHA: Fracción Acuosa de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrán)

Extracto metanólico de la corteza de *Genipa americana*

El extracto metanólico de corteza de caruto (EMC), *Genipa americana*, se obtuvo macerando la corteza seca y molida en metanol, luego se filtró la solución alcohólica y eliminó el solvente por evaporación a presión reducida, para así obtener el extracto crudo EMC, a partir del cual precipitó un sólido, que fue denominado como SGA. El sólido fue purificado mediante lavados sucesivos con metanol y luego recristalizado en metanol caliente. La muestra sólida, relativamente purificada de acuerdo a su comportamiento por cromatografía de capa fina y al punto de fusión observado, fue empleada para cuantificarle su efecto anti-hiperlipidémico sobre ratones albinos, además de someterla a análisis espectroscópicos para la determinación experimental.

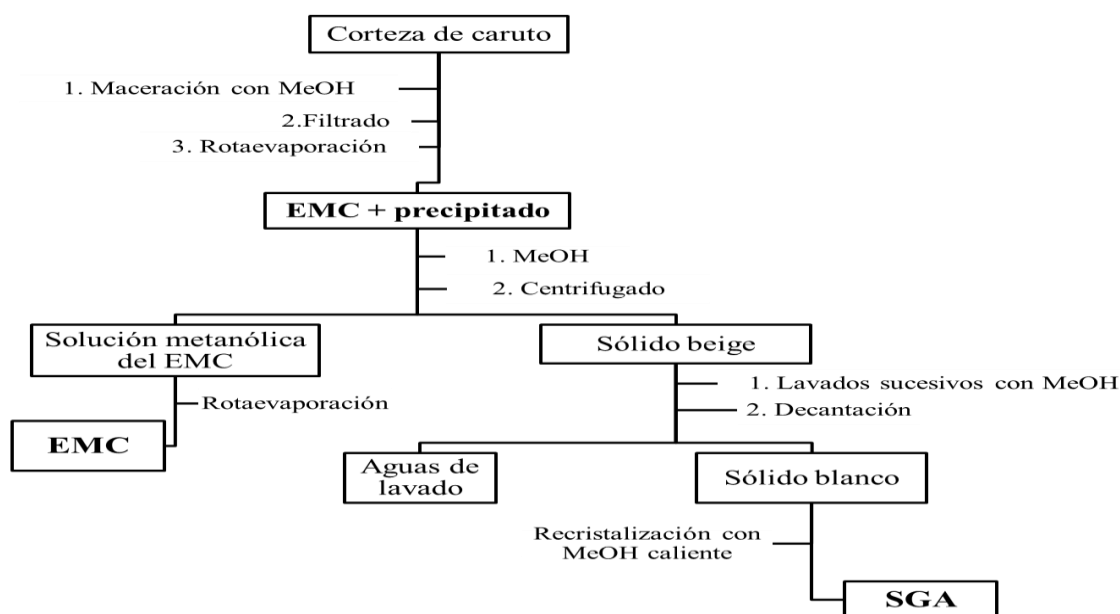


Figura 11. Diagrama de purificación del sólido obtenido del extracto metanólico de *Genipa americana* L.

SÓLIDO EC2, obtenido de *Erythroxylum cumanense* Kunth

Hojas frescas de *Erythroxylum cumanense* Kunth se dejaron secar a temperatura ambiente y se colocaron en maceración metanólica, luego se realizaron extracciones sucesivas hasta agotamiento y se eliminó el solvente por evaporación a presión reducida, obteniéndose el extracto crudo de las hojas. El cual fue redissuelto en metanol, tratado

con solución de acetato de plomo al 2% m/v, se dejó en reposo por un lapso de 24 horas, luego se separó por filtración, la solución hidroalcohólica del precipitado formado y ésta fue concentrada por rotaevaporación del solvente. El concentrado obtenido fue particionado con solventes de polaridad creciente como cloroformo, acetato de etilo y butanol. Al término del tratamiento con los solventes, de la fracción obtenida con butanol, precipitaron unos cristales incoloros que fueron separados con una aguja y luego fueron lavados sucesivamente con una mezcla metanol:agua (95:5) obteniéndose de esta manera el sólido EC2 (figura 12).

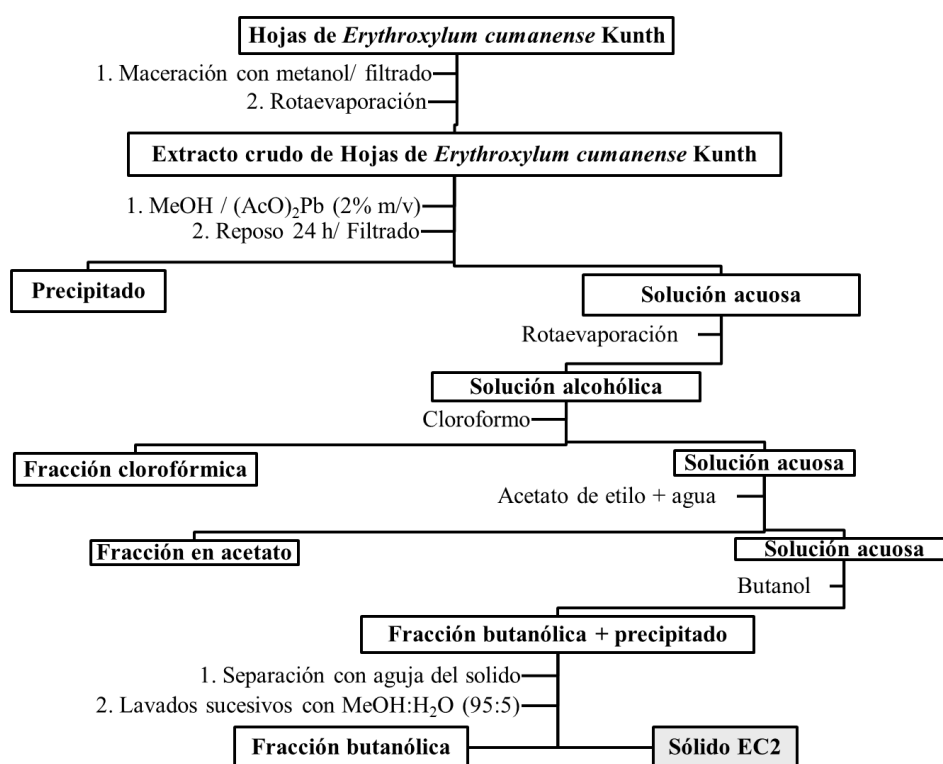


Figura 12. Diagrama de obtención del sólido a partir del extracto metanólico de hojas de *Erythroxylum cumanense* Kunth.

CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS:

Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN- ^{13}C) y Protones (RMN- ^1H)

La RMN es una de las técnicas más usadas en el campo de los productos naturales, por su naturaleza no destructiva, y proporcionar información muy precisa, sobre los

acoplamiento C-H, al momento de elucidar la estructura de un compuesto. Las muestras fueron disueltas en solventes deuterados (DMSO- d_6 y D $_2$ O), según la solubilidad de las mismas, y se colocaron en un tubo de resonancia (0,5 ml para las muestras STC y SGA para los análisis en capilares de tamaño estándar y 5 μ l en los casos que se emplearon capilares de dimensiones especiales para los análisis de la muestra EC2), para luego ser introducidas en el equipo de RMN, para los análisis de RMN de ^1H y ^{13}C (Silverstein *et al.*, 2005). Se utilizó un equipo marca Bruker Advance III de 900 MHz, a temperatura de 298,1 K, aplicando secuencias de pulso estándares de Bruker para todos los análisis. Los desplazamientos químicos de los solventes fueron establecidos, utilizando las señales de los picos residuales (DMSO: $\delta_{\text{H}} = 2,50$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 39,5$ ppm; MeOH: $\delta_{\text{H}} = 3,31$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 49,0$ ppm) o externamente para las señales de MeOH en D $_2$ O a $\delta_{\text{H}} 3,34$ y $\delta_{\text{C}} 49,5$ (Patt y Shoolery, 1982; Bax, 1985; Liu *et al.*, 1998).

Resonancia Magnética Nuclear bidimensional (HSQC, HMBC, H2BC, COSY, TOCSY)

El análisis HSQC es un experimento de correlación heteronuclear que permite correlacionar protones y carbonos unidos directamente, a un enlace, con alta sensibilidad y el análisis HMBC establece correlación entre núcleos de protones y carbonos separados por 2 ó 3 enlaces (Silverstein *et al.*, 2005). El HMBC es esencialmente un experimento HSQC adecuado a la detección de correlaciones a través de acoplamiento débiles. Una de las ventajas de este experimento es que permite detectar carbonos cuaternarios mediante acoplamiento a protones a dos o tres enlaces. Esta técnica de correlación heteronuclear a 2 ó 3 enlaces permite obtener información importante en la determinación estructural, los datos que suministra el HMBC lo convierte en un experimento muy utilizado para ensamblar una estructura desconocida a partir de fragmentos conocidos (Silverstein *et al.*, 2005). En el experimento COSY solamente se detectan acoplamiento entre hidrógenos geminales o vecinales, mientras que con el experimento TOCSY es posible detectar acoplamiento entre hidrógenos a un mayor número de enlace (teóricamente con todos los átomos de hidrógeno de un mismo sistema de espín). El experimento H2BC correlaciona carbonos y protones que están a dos

enlaces de distancia de un grupo -CH mediante el uso de acoplamientos de carbón-protón y protón-protón a un enlace (Nagayama *et al.*, 1980; Bax y Davis, 1985; Kessler *et al.*, 1986; Cicero, Barbato y Bazzo, 2001; Paudel *et al.*, 2013).

Espectrometría de masas mediante ionización por electronebulización (EM-ESI)

Es una técnica de espectrometría de masas de ionización blanda que genera solo iones moleculares sin fragmentación. Para llevarse a cabo, en un principio, se introduce el analito (a ionizarse), disuelto en un solvente más volátil, por un capilar de metal muy pequeño y cargado; debido a la repulsión de las cargas eléctricas, el líquido sale del capilar y se forma un aerosol, una nube de pequeñas gotas (10 μm) altamente cargadas. Conforme el solvente se evapora, las moléculas del analito se aproximan, se repelen y finalmente, cuando la repulsión de las cargas positivas vence la tensión superficial, estallan las gotas (Explosión de Coulomb). El proceso se repite hasta que el analito esté libre de solvente, de modo que no quede más que iones moviéndose hacia el analizador de masa (Fenn *et al.*, 1990). Este tipo de análisis de espectrometría de masas (EM-ESI) fueron realizados en un espectrómetro de Masas cuadripolar (QMS) Finnigan TSQ Quantum ThermoScientific-Scientificinstruments, en el laboratorio de espectrometría de masas del centro de química en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

Análisis Estadístico

El ensayo de productos naturales bioactivos demanda comparaciones ya sea de abundancia de estos compuestos en el material del cual se aíslan, como de su potencia en diversos materiales biológicos. En estos estudios se trata de minimizar el número de ensayos por economía tanto de los productos aislados como del material biológico de ensayo que puede ser costoso o experimentar sufrimiento. En las muestras experimentales, necesariamente pequeñas por las razones antes señaladas, no es posible determinar la función de distribución de probabilidad de los datos, por ello los análisis estadísticos en este trabajo se hicieron usando procedimientos estadísticos no paramétricos, también llamados libres o independientes de distribución, a través del cálculo de la media y la desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de las diversas extracciones de órganos de las especies vegetales y posterior fraccionamiento de los extractos crudos y evaluación de efectos biológicos de los mismos, caracterización química de compuestos aislados, así como análisis y discusión son presentados a continuación.

Rendimiento de los extractos y fracciones primarias obtenidos de *Guazuma ulmifolia*.

El material vegetal (hojas, corteza y fruto) de la especie *Guazuma ulmifolia*, fue sometido a maceración metanólica, cada órgano por separado, durante 24 horas, y luego de la extracción del solvente hasta el agotamiento, se obtuvieron los extractos crudos para cada órgano. Partiendo de la posible presencia de varios grupos funcionales en el extracto metanólico crudo de la corteza, se realizaron biparticiones líquido – líquido con solventes de polaridad creciente, obteniéndose las fracciones en hexano, cloroformo, acetato de etilo y porciones solubles en etanol y metanol. Los rendimientos obtenidos son presentados en la tabla 5.

Tabla 5. Rendimiento de los extractos y fracciones primarias obtenidos de los diferentes órganos de *Guazuma ulmifolia*.

	EXTRACTOS Y FRACCIONES							
	EMHG	EMFG	EMCG	FHCG	FAcCG	FCCG	FECG	FMCG
Material vegetal procesado (g)	65,29	11,77	357,84	5,87	5,87	5,87	5,87	5,87
Extracto obtenido (g)	3,23	0,97	5,87	0,16	1,44	0,98	1,34	1,50
Rendimiento (% m/m)	4,95	8,24	1,64	2,72	24,53	16,69	22,83	25,58

EMHG: Extracto Metanólico Hojas de Guásimo; EMFG: Extracto Metanólico Frutos de Guásimo; EMCg: Extracto Metanólico Corteza de Guásimo; FHCG: Fracción Hexánica de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo; FCCG: Fracción en Cloroformo de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo; FAcCG: Fracción en Acetato de etilo de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo; FECG: Fracción Etanólica de la bipartición del extracto metanólico de Corteza de Guásimo; FMCG: Fracción Metanólica del extracto metanólico de Corteza de Guásimo.

El extracto metanólico del fruto, EMFG, dio el mayor rendimiento en masa (8,24%), en comparación a los obtenidos para los extractos de hojas (4,95%) y corteza (1,64%). Las

fracciones primarias obtenidas a partir del extracto metanólico de la corteza, EMCG, mostraron que están constituidas en su mayoría por compuestos de polaridad alta-intermedia, evidenciado por los rendimientos de las fracciones en acetato de etilo (24,53%), etanol (22,83%) y metanol (25,58%), que en conjunto suman el 72,94 % en masa. Contrariamente, las fracciones hexánica y clorofórmica fueron obtenidas en menor cantidad, siendo la fracción hexánica la que se obtuvo en menor proporción, con rendimiento menor al 3% (2,72%) y la clorofórmica en un 16,69%.

Rendimiento de los extractos y fracciones primarias obtenidos del extracto metanólico de corteza de *Genipa americana* L. y hojas de *Terminalia catappa* L.

La corteza de *Genipa americana* macerada en metanol por 24 horas, luego filtrado y renovación del solvente, proceso repetido hasta agotamiento, y posteriormente rotaevaporación a presión reducida fue obtenido el extracto crudo de la corteza, el cual fue denominado como EMC, con rendimiento en masa de 12%. De manera similar, el rendimiento en masa del extracto metanólico de las hojas de *Terminalia catappa* fue de 15,47%, resultados que pueden ser detallados en la tabla 6.

Tabla 6. Rendimiento de los extractos y fracciones primarias obtenidos de corteza de *Genipa americana* L. y hojas *Terminalia catappa* L.

	EXTRACTOS Y FRACCIONES					
	Caruto	Almendrón				
	EMC	EMHA	FHHA	FCHA	FACHA	FAHA
Material vegetal procesado (g)	207,20	98,43	5,23	5,23	5,23	5,23
Material obtenido (g)	24,85	15,23	0,70	0,42	1,01	3,09
Rendimiento (% m/m)	11,99	15,47	13,42	8,14	19,33	59,03

EMC: Extracto Metanólico de Corteza de Caruto, EMHA: Extracto Metanólico Hojas de Almendrón; FHHA: Fracción Hexánica de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrón; FCHA: Fracción en Cloroformo de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrón; FACHA: Fracción en Acetato de etilo de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrón; FAHA: Fracción Acuoso de la bipartición del extracto metanólico de Hojas de Almendrón.

En el caso del EMHA de *Terminalia catappa*, al obtenerse las fracciones por bipartición líquido – líquido de dicho extracto con solventes de polaridad creciente, el rendimiento

en masa de la fracción metanólica fue el más notorio al obtenerse en un 59,03% en comparación a las fracciones hexánica (13,42%), clorofórmica (8,14%) y acetato de etilo (19,33%) que tuvieron un porcentaje de rendimiento menor.

Familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos y fracciones primarias obtenidas de *Guazuma ulmifolia*.

Luego de aplicarse la metodología descrita por Marcano y Hasegawa (2002), para evaluar la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, taninos, polifenoles, saponinas, esteroides insaturados, triterpenos pentacíclicos y flavonoides en los extractos y fracciones primarias de los diferentes órganos de *Guazuma ulmifolia*, se detectó la presencia mayoritaria de compuestos de naturaleza aromática, fundamentalmente polifenoles, los resultados se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos y fracciones primarias obtenidos de los diferentes órganos de *Guazuma ulmifolia*.

Metabolitos secundarios	EXTRACTOS Y FRACCIONES							
	EMHG	EMFG	EMCG	FHCG	FAcCG	FCCG	FECG	FMCG
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-
Polifenoles	-	++	+++	++	+++	++	++	+++
Taninos	-	-	+	++	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-	-
Esteroides	+	-	-	++	-	-	-	-
Triterpenos	-	-	-	+	-	-	-	-
Flavonoides								
NH₄ OH	+	+	++	-	+	++	-	-
Mg (s) + HCl	-	-	+	-	-	-	-	+
AlCl₃ + EtOH	+	+	++	++	+	+	-	-

La concentración cualitativa se expresó en función de la intensidad del color y/o abundancia de precipitado formado como: + escasa, ++ relativamente abundante, +++ abundante, - No detectada.

En el extracto metanólico de las hojas, EMHG, se evidenció existencias cualitativas escasas para esteroides y flavonoides en dicho extracto; la escasa presencia de metabolitos secundarios en hojas de guásimo analizadas puede estar relacionada con las características geográficas del sitio de recolección de la planta (Cumanacoa – estado Sucre – Venezuela, 275 msnm), esto tiene cierta relación con lo determinado por

Cáceres (1996) y Barajas *et al.* (2014) quienes destacan que las hojas de guásimo, recolectada en Santiago de Cali – Colombia a 1060 msnm, no tiene compuestos mayores, salvo cafeína. Destacándose así, que las condiciones geográficas del lugar de recolección afectan en cierta medida en el metabolismo secundario de las plantas.

En el caso del fruto, en el extracto EMFG, se evidenció la presencia de polifenoles con relativa abundancia y flavonoides escasos. Resultados concordantes con Pizzani *et al.* (2006) quienes determinaron que los frutos de guásimo contienen concentraciones bajas de taninos, fenoles y flavonoides, aunque difieren en la presencia escasa de alcaloides y esteroides, detectados en los análisis realizados por Pizzani *et al.* (2006) y ausencia en los análisis en esta investigación. Esto puede ser atribuido a la diferencia geográfica en la cual se recolectaron ambas muestras, ya que los frutos de guásimo recolectados por Pizzani *et al.* (2006) fueron tomados en varias zonas del municipio José Tadeo Monagas, del estado Guárico y los frutos analizados en esta investigación proceden del municipio Montes, del estado Sucre.

Sin embargo, en el extracto metanólico de la corteza, EMCG, abundan los polifenoles y flavonoides, aunque la presencia de taninos es escasa. Barajas *et al.* (2014) en su investigación determinaron que el extracto hidroalcohólico de la corteza de guásimo contiene abundancia relativa de esteroides y taninos, abundancia de fenoles y cumarinas y flavonoides escasos. Similar al caso anterior, las diferencias geográficas juegan un papel importante en las diferencias fitoquímicas de los ejemplares, ya que Barajas *et al.* recolectaron sus especímenes en la Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia a 1060 m.s.n.m.

Familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos y fracciones primarias obtenidos de *Genipa americana* L. y *Terminalia catappa* L.

En el caso de los extractos y fracciones primarias obtenidos de *Genipa americana* L. y *Terminalia catappa* L., luego de aplicarse la metodología descrita por Marcano y Hasegawa (2002), para determinar la presencia de metabolitos secundarios, como: alcaloides, taninos, polifenoles, saponinas, esteroides insaturados, triterpenos

pentacíclicos y flavonoides, se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 8.

Tabla 8. Familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos y fracciones primarias obtenidos de *Genipa americana* L. y *Terminalia catappa* L.

Metabolitos secundarios	EXTRACTOS Y FRACCIONES					
	Caruto	Almendrón				
	EMC	EMHA	FHHA	FCHA	FAcHA	FAHA
Alcaloides	-	-	-	-	-	-
Polifenoles	+	+	+	+	++	+++
Taninos	+	+	+	+	-	-
Saponinas	+	-	-	-	-	-
Esteroles	+	+	+	-	-	-
Triterpenos	-	-	+	-	-	-
Flavonoides						
NH₄ OH	-	++	+	+	+	++
Mg (s) + HCl	-	-	-	-	+	-
AlCl₃ + EtOH	-	-	+	+	++	+

La concentración cualitativa se expresó en función de la intensidad del color y/o abundancia de precipitado formado como: + escasa, ++ relativamente abundante, +++ abundante, - No detectada.

En el extracto metanólico de la corteza de *Genipa americana* o caruto, EMC, fue evidenciada la presencia escasa de polifenoles, taninos, saponinas y esteroles. Sin embargo, resultados de investigaciones previas, realizadas por Barbosa (2008) y Tenesaca (2012), indican que los compuestos mayoritarios de *Genipa americana* recolectada en ciertas localidades ecuatorianas son: ácidos grasos, fitoesteroides, cumarinas, taninos, iridoides en abundancia, monoterpénoides, alcaloides, ácidos y alcoholes orgánicos como el manitol y ácido tartárico, entre otros.

En el caso del extracto metanólico de hojas de almendrón (*Terminalia catappa*), EMHA, se notó la relativa abundancia de posibles flavonoides y la escasa presencia de polifenoles, taninos y esteroles. En la fracción hexánica (FHHA) hay poca concentración de polifenoles, taninos, esteroles, triterpenos y flavonoides. La fracción clorofórmica (FCHA) contiene posibles polifenoles, taninos y flavonoides. Pero las fracciones en acetato de etilo (FAcHA) y acuosa (FAHA) contienen polifenoles y flavonoides abundantes. En relación a esto, Alvez (2008) y Ruiz (2013) plantean que las hojas de *Terminalia catappa* contienen varios flavonoides (como el kamferol o quercetina),

varios taninos (tal como la punicalina, punicalagina o tercatina), ácidos triterpénicos, benzoicos y cumáricos, saponinas y fitosteroles. Con una visión más generalizada, Rajesh *et al.* (2016) establecieron que extractos de hojas de almendrón obtenidos con agua contienen solo flavonoides, taninos y fenoles; extractos de hojas en metanol poseen alcaloides, saponinas, terpenoides, flavonoides, taninos y fenoles, y, los extractos de hojas en cloroformo contienen alcaloides, terpenoides, glicosidos, esteroides, taninos y fenoles.

Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos y fracciones primarias obtenidos de *Guazuma ulmifolia*.

El extracto metanólico de las hojas de guásimo, EMHG, inhibió el crecimiento de la bacteria *Micrococcus luteus* y el hongo fitopatógeno *Trichoderma viride*; mientras que el extracto metanólico del fruto (EMFG) solo inhibió a *M. luteus* y las fracciones en hexano (FHCG) y etanol (FECG) derivadas del extracto metanólico de la corteza impidieron el crecimiento del hongo *T. viride*.

Tabla 9. Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos y fracciones primarias obtenidos de *Guazuma ulmifolia*.

		Diámetro de inhibición (mm)			
		EMHG*	EMFG*	FHCG*	FECG*
Bacterias	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-
	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-
	<i>Micrococcus luteus</i>	12	-	12	-
Hongos	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-
	<i>Trichoderma viride</i>	26	14	-	16
	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-
	<i>Rhizopus orizae</i>	-	-	-	-
	<i>Penicillium hirsutum</i>	-	-	-	-

*Todos los extractos y fracciones fueron ensayados a una concentración de 40 mg/ml.

El extracto EMHG, probado a una concentración de 40 mg/ml, inhibió el crecimiento de la bacteria Gram positiva *M. luteus* y al hongo fitopatógeno *T. viride*. El extracto EMFG y la fracción FECG, ambos a dosis de 40 mg/ml, inhibieron el crecimiento del hongo

fitopatígeno *T. viride* con diámetros de inhibición de 14 y 16 mm respectivamente. No obstante, la fracción FHCG solo actúa contra *M. luteus* (40 mg/ml, 12 mm de diámetro). Estos efectos pueden estar relacionados, en cierta medida, con el escaso contenido de esteroides, flavonoides y abundantes polifenoles detectados en las pruebas fitoquímicas realizadas previamente.

Con relación a la actividad antifúngica de extractos de *G. ulmifolia*, se ha reportado que para las hojas, según Ramírez *et al.* (2015), los extractos hexánico y en diclorometano inhiben notoriamente el crecimiento miscelial de las cepas fitopatógenas *Sclerotium cepivorum* y *Fusarium oxysporum* con porcentajes mayores al 84% a concentraciones de 10000 mg/l.

Las especies del género *Trichoderma* representan un grupo de hongos filamentosos empleados como agentes biológicos aplicados a sistemas de biorremediación en sistemas terrestres y acuáticos contaminados. Predominan en los suelos agrícolas, pastizales, bosques y desiertos; y en ecosistemas acuáticos (Zhang *et al.*, 2005). Pueden colonizar distintos ambientes, debido a su alta capacidad reproductiva (Harman *et al.*, 2004). Los requerimientos nutrimentales de estos hongos filamentosos son pocos y se pueden adaptar y sobrevivir en condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad (Jackson *et al.*, 1991).

Sin embargo, son microorganismos con alta velocidad de crecimiento, alta competencia por espacio y por consiguiente pueden alterar el crecimiento de ciertos hongos como *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus repens*, *Mucor petrinsularis* y *Rhizopus cohnii*; y bacterias como *Pseudomonas* sp y *Bacillus* sp; que descomponen la materia orgánica del suelo, reduciendo la población microbiana y de esta manera se altera el equilibrio biológico de los suelos y por consiguiente se disminuye la fertilidad de los mismos (Argumedo *et al.*, 2009). Por lo que se hace necesario mantener bajo control el crecimiento de *T. viride*, ya que puede adaptarse a condiciones extremas y el uso de químicos agresivos ocasionan daños mayores al ecosistema. Todo lo cual permite resaltar la importancia de la actividad ejercida por los extractos EMHG, EMFG

y la muestra FECG, obtenidos a partir de hojas, frutos y corteza de *Guazuma ulmifolia* respectivamente, los cuales disminuyeron en cierta medida el crecimiento de dicho hongo. Destacándose el potencial antifúngico que puede llegar a desarrollarse a partir de fuentes naturales como el guásimo que sean eficaces y menos agresivas con la naturaleza.

Es de hacer notar que, de acuerdo con la revisión realizada por Ramírez y Hernández (2015) son pocos los registros bibliográficos relacionados con efectos del guásimo sobre hongos fitopatógenos en Latinoamérica, razón por la cual estos resultados son un aporte novedoso sobre el efecto anti *Trichoderma viride* ejercido por extractos de hojas, fruto y corteza de guásimo.

No obstante, sí hay una amplia fuente de información acerca de la actividad del guásimo sobre microorganismos patógenos causantes de enfermedades infecciosas y otros problemas relacionadas con la salud humana. Al respecto, Luna y González (2017), describen la actividad antibacteriana de extractos de hoja, corteza y fruto de *G. ulmifolia* (en concentraciones que van de 0,05 mg/μl a 0,25 mg/μl) sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Neiseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* y *Mycobacterium intracellulare*, así como sobre la levadura *Candida albicans*.

Por otra parte, la ausencia de actividad antibacteriana y antifúngica ejercida por el extracto EMCG, con baja concentración de taninos pero abundante en polifenoles y flavonoides, no implica que no posea ningún tipo de efecto antibacteriano, puesto que la baja concentración de sus componentes y sus características químicas pueden no ser activos contra los microorganismos ensayados, pero pueden ejercer otro tipo de bioactividad. Tal es el caso de la mezcla de extractos hexano:acetona (1:1) de corteza de guásimo, evaluados por Magos *et al.* (2008), que no ejercieron actividad antibacteriana pero cuyas procianidinas presentes en estos poseen propiedades antihipertensivas y vasorelajantes de larga duración, relacionadas con factores endoteliales, donde el óxido

nítrico está involucrado. De igual manera, Alonso y Salazar (2008) evaluaron el efecto del extracto acuoso de la corteza de guásimo y encontraron que éste ejerce efecto antidiabético, estimulando la captación de glucosa en adipocitos insulinsensibles e insulinoresistentes sin inducir adipogénesis.

Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos y fracciones primarias obtenidos de corteza de *Genipa americana* L. y hojas de *Terminalia catappa* L.

El extracto metanólico de corteza de caruto, EMC, ejerció un leve efecto antibacteriano cualitativo sobre *M. luteus* y contra la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (ver tabla 10), que puede ser atribuible a la baja concentración de metabolitos secundarios detectados (polifenoles, taninos, saponinas y esteroides).

Hasta el presente, no existen antecedentes de estudios sobre la corteza de *Genipa americana* L., razón por la cual es de destacar los resultados obtenidos en esta investigación. Sin embargo, ciertos estudios validan el conocimiento de *G. americana* como planta medicinal, Campos *et al.* (2017) realizaron estudios biológicos de toxicidad *in vitro* y actividades antivirales (probadas en los virus de herpes alfa suid (SuHV-1) y equino (EHV-1)), antibacteriana y antifúngica (contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* y *Candida krusei*) de extractos etanólicos de ramas, frutos y hojas.

Los resultados mostraron que el extracto de hojas y el de ramas no ejercieron citotoxicidad en las diluciones probadas pero si actividad antiviral contra SuHV-1 con una inhibición viral de 73% ejercida por el extracto de hojas y 79% por el extracto de ramas, no obstante no hubo efecto contra EHV-1. Contrariamente, el extracto del fruto presentó una inhibición viral contra EHV-1 de 86%, pero no fue activo contra SuHV-1. Similarmente, dicho extracto ejerció un efecto bacteriostático sobre *E. coli* y un efecto bactericida sobre *S. aureus*; mientras que no tuvo efecto sobre ninguna especie de *Candida* (Campos *et al.*, 2017).

Tabla 10. Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos y fracciones primarias obtenidos de *Genipa americana* L. y *Terminalia catappa* L.

		Diámetro de inhibición (mm)			
		Caruto*	Almendrón*		
		EMC	EMHA	FHHA	FCHA
Bacterias	<i>Escherichia coli</i>	-	18	-	-
	<i>Bacillus cereus</i>	-	18	12	-
	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-
	<i>Micrococcus luteus</i>	10	21	15	10
Hongos	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10	-	11	-
	<i>Trichoderma viride</i>	-	14	-	-
	<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-
	<i>Rhizopus orizae</i>	-	11	-	-
	<i>Penicillium hirsutum</i>	-	-	-	-

*Todos los extractos y fracciones fueron ensayados a una concentración de 40 mg/ml.

El extracto metanólico de hojas de almendrón, EMHA, ejerció actividad antimicrobiana sobre *E. coli*, *B. cereus* y *M. luteus*, y actividad antifúngica sobre *T. viride* y *R. orizae*, atribuible a su composición fitoquímica de relativa abundancia de posibles flavonoides y escasa presencia de polifenoles, taninos y esteroides. Sin embargo, la fracción hexánica, FHHA, cuya concentración de polifenoles, taninos, esteroides, triterpenos y flavonoides es escasa, fue activa contra las bacterias Gram positivas *B. cereus* y *M. luteus* y contra la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Pero la fracción clorofórmica, FCHA, que contiene escasamente polifenoles, taninos y flavonoides, sólo inhibió el crecimiento de *M. luteus*.

Al comparar los resultados con reportes previos, se hace notable los trabajos de Mandloi *et al.* (2013), Anand *et al.* (2015), y Venkatalakshmi *et al.* (2016) quienes comprobaron la actividad antifúngica dosis-dependiente del extracto metanólico de hojas de almendrón sobre cepas fúngicas como *Curvularia lunata*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Trichophyton tonsurans*. De manera similar, los extractos acuoso y metanólico de hojas de *T. catappa*, ejercen diferentes grados de actividad sobre *Pseudomonas aeruginosa*, *P. testosteroni*, *P. pseudoalcaligenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. subflava*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. morganii*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus faecalis*, *S. cremoris*, *S. agalactiae*,

Citrobacter freundii, *Alcaligenes faecalis*, *Micrococcus flavus*, *Enterobacter aerogenes* y *Candida tropicalis* (Mandloi *et al.*, 2013; Anand *et al.*, 2015; Venkatalakshmi *et al.*, 2016). Efectos que destacan al extracto metanólico como más eficiente en relación al extracto acuoso en la inhibición de estas especies de microorganismos.

Rendimiento en masa y punto de fusión del Sólido STC

Del extracto EMHA de almendrón resuspendido en metanol, en un 3,40%, precipitó un sólido color crema, luego de recristalizaciones sucesivas se obtuvieron cristales color crema, denominados STC, con un porcentaje de rendimiento en masa de 68,60% con respecto al sólido color crema de partida, luego de la recristalización se le determinó el correspondiente punto de fusión el cual resultó entre 154 – 156 °C (ver tabla 11).

Tabla 11. Rendimiento en masa y punto de fusión del sólido STC

PARÁMETRO	CANTIDAD OBTENIDA
Extracto metanólico de hojas de almendrón (g)	25,23
Precipitado color crema (g)	0,860
Rendimiento (% m/m)	3,40
Sólido STC (g)	0,590
Rendimiento obtenido de STC recristalizado (% m/m)	68,60
Punto de fusión (°C)	154 – 156

Rendimiento en masa y punto de fusión del Sólido SGA

Del extracto metanólico de caruto, precipitó un sólido beige, el cual fue denominado SGA, luego de su purificación parcial y sucesivas recristalizaciones, reprecipitó con alto porcentaje de rendimiento en masa de 89,47% con respecto al sólido beige inicial, al cual se le determinó el punto de fusión entre 149 – 153 °C (ver tabla 12).

Tabla 12. Rendimiento en masa y punto de fusión del sólido SGA

PARÁMETRO	CANTIDAD OBTENIDA
Extracto metanólico de caruto (g)	20,85
Precipitado beige (g)	1,95
Sólido SGA (g)	1,74
Rendimiento obtenido de SGA recristalizado (% m/m)	89,47
Punto de fusión (°C)	149 – 153

Efecto anti-hiperlipidémico del sólido SGA de *Genipa americana* L (caruto)

Masa promedio de los grupos de animales

Al inicio del experimento, los ratones presentaban masas promedio entre los 23,70 – 25,30 g aproximadamente; luego del periodo de alimentación e inducción de la hiperlipidemia, aumentaron de peso notablemente y sus masas promedio variaron entre 25,35 – 29,30 g; siendo los de menor masa el grupo de ratones del control normal alimentados con dieta estándar, y los de mayor masa fueron los grupos de animales alimentados con dieta grasosa y tratados con el sólido SGA y el fármaco rosuvastatina (ver tabla 13). Es de resaltar que el pequeño incremento en masa de los ratones mantenidos con alimento convencional, pudo ser debido al aumento de tamaño de los animales lo que conlleva a un relativo aumento en su masa corporal.

Tabla 13. Masa promedio de los grupos de animales hiperlipidémicos tratados o no con el sólido SGA obtenido de *Genipa americana* L (caruto)

RATONES	Masa Promedio		
	Masa inicial (g)	Masa final (g)	Diferencia ($m_i - m_f$) (g)
CONTROL C/N	23,75	25,35	1,60
CONTROL C/H	23,93	28,67	4,74
Control Antilipidémico	25,26	29,30	4,04
Sólido SGA	23,97	28,56	4,59

***CONTROL C/N:** Control Normal, ratones alimentados con dieta estándar.

***CONTROL C/H:** Control Hiperlipidémico, ratones alimentados con dieta rica en grasas.

***Control Antilipidémico:** Ratones hiperlipidemicos tratados con Rosuvastatina 8,3 mg extracto/kg ratón x día.

***Sólido SGA:** Ratones hiperlipidemicos tratados con sólido SGA a una dosis de 25 mg extracto/kg ratón x día.

La dieta suplementada con grasa de pollo permitió un aumento en masa promedio en poco más de 4 g, esto debe ser proporcional a un aumento del contenido lipídico. Sin embargo, un aumento de masa corporal no necesariamente tiene relación con un incremento de los niveles de colesterol y triglicéridos en la sangre. Esta suposición fue confirmada mediante la cuantificación del contenido de colesterol y triglicéridos en suero sanguíneo de los animales, una vez transcurrido el tratamiento con el control hipolipidémico Rosuvastatina y el sólido SGA, obtenido del EMC de caruto (Tabla 15).

Valores de triglicéridos obtenidos.

La toma de muestra de sangre, extracción del suero sanguíneo y posterior cuantificación del contenido de triglicéridos mediante la formación de complejos coloreados al aplicarse los reactivos estandarizados provenientes del kit comercial Stanbio Triglicéridos Liquicolor® permitieron determinar que la dieta suplementada con grasa induce aumento en el contenido lipídico en los animales, así como el tratamientos de los animales con el sólido SGA reduce los valores de triglicéridos, si se compara con él de los animales hiperlipidemicos, además de tener como referencia los valores considerados como normales para ratones albinos, presentados en la tabla 14 (León *et al.*, 2011).

Tabla 14. Rango del perfil lipídico normal en ratones albinos.

PARÁMETRO	VALOR (mg/dl)
Triglicéridos	26,7 – 121,5
Colesterol Total	44,4 – 96,9
HDL*	15- 35
LDL*	<60 Valor Deseable

*HDL: *High density lypoprotein*. * LDL: *Low density lipoprotein*. (León *et al.*, 2011)

El contenido de triglicéridos en el suero de los ratones control, ratones hiperlipidémicos, así como en los ratones tratados con el sólido SGA, es reportado en la tabla 15.

Tabla 15. Contenido de triglicéridos en suero de los grupos de ratones albinos hiperlipidémicos tratados o no con el sólido SGA.

RATONES	VALOR DE TRIGLICERIDOS (mg/dl)			
	Control C/N*	Control C/H*	Rosuvastatina *	Sólido SGA *
1	67,20	173,30	100,50	112,10
2	66,50	170,10	117,60	114,80
3	52,90	169,40	90,60	110,20
Media	62,20	170,93	102,90	113,45
Desviación Estándar	8,07	2,08	13,66	1,91

*Control C/N: Control Normal, ratones alimentados con dieta normal.

*Control C/H: Control Hiperlipidémico, ratones alimentados con dieta rica en grasas.

*Control Antilipidémico: ratones alimentados con dieta rica en grasas, tratados con Rosuvastatina 8,3 mg extracto/kg ratón x día.

*Sólido SGA: ratones alimentados con dieta rica en grasas, tratados con SGA de caruto 25 mg extracto/kg ratón x día.

Como puede observarse, los animales Control C/N, alimentados con dieta estándar, presentaron un contenido promedio de triglicéridos en suero de $62,20 \pm 8,07$ mg/dl, mientras que los ratones hiperlipidémicos, alimentados con dieta rica en grasa, Control C/H, presentaron un contenido promedio de triglicéridos de $169,42 \pm 3,46$ mg/dl, valor que sobrepasa el rango normal establecido para niveles de perfil lipídico en ratones albinos. Por esto puede establecerse una estrecha relación entre el aumento de grasa en la dieta suministrada a cada grupo de animales y el aumento de triglicéridos en la sangre, ya que, luego de los 60 días de experimentación, el grupo control con dieta normal presentó valores de triacilglicerol dentro del rango referencial; mientras los ratones alimentados con dieta rica en grasa excedieron dicho límite, al sobrepasarse en $47,92$ mg/dl. Esto confirma la inducción de la hipercolesterolemia tanto en el grupo control C/H como en el grupo al que se le suministró la dosis diaria del fármaco comercial y el grupo al que se le administró la dosis del sólido SGA.

Al comparar los valores de triglicéridos entre el grupo de ratones control hiperlipidémico y el grupo de animales tratados con el sólido SGA, se observa una disminución en los valores de triglicéridos ya que el grupo al cual se le suministró dosis del sólido SGA presentó un valor promedio de triglicéridos en suero de $113,45 \pm 1,91$ mg/dl, valor éste que se encuentra dentro del rango referencial.

Al comparar los valores de triacilglicerol de $102,90 \pm 13,66$ mg/dl en el suero sanguíneo de los ratones dosificados con el fármaco Rosuvastatina y los valores obtenidos para los ratones tratados con el sólido SGA; puede establecerse una relación de actividad hipolipemiente ejercida tanto por el fármaco comercial Rosuvastatina como por el sólido SGA, ya que los valores de los dos grupos están dentro de un rango similar; por lo que puede atribuírsele un efecto hipolipidémico al sólido SGA obtenido del extracto metanólico de la corteza de caruto (a dosis de 25 mg/kg/día) muy parecido al efecto ejercido por el fármaco comercial Rosuvastatina (a dosis de 8 mg/kg/día).

Cuantificación de colesterol total

Los niveles de colesterol total en el suero de los ratones control, ratones

hiperlipidémicos, así como en los ratones tratados con el sólido SGA, determinado mediante reacción con el reactivo Helfa®, son reportados en la tabla 16.

Tabla 16. Contenido de colesterol total en suero en ratones albinos hiperlipidémicos tratados con el sólido SGA (25 mg) y el fármaco comercial rosuvastatina (8,3 mg).

RATONES	VALOR DE COLESTEROL TOTAL (mg/dl)			
	Control C/N*	Control C/H*	Rosuvastatina *	Sólido SGA *
1	75,90	120,90	100,10	117,40
2	89,90	104,70	83,70	99,90
3	78,30	121,10	98,80	115,10
Media	81,37	115,57	95,20	110,80
Desviación Estándar	7,49	9,41	7,39	9,51

***Control C/N:** Control Normal, ratones alimentados con dieta normal.

***Control C/H:** Control Hiperlipidémico, ratones alimentados con dieta rica en grasas.

***Control Antilipidémico:** ratones alimentados con dieta rica en grasas y tratados con Rosuvastatina 8,3 mg extracto/kg ratón x día.

***Sólido SGA:** ratones alimentados con dieta rica en grasas y tratados con sólido SGA de caruto 25 mg extracto/kg ratón x día.

Como puede observarse, los animales control, alimentados con dieta estándar, presentaron un contenido de colesterol total promedio en suero de $81,37 \pm 7,49$ mg/dl, mientras que los ratones hiperlipidémicos, alimentados con dieta rica en grasa (dieta estándar + 20 % de grasa de pollo), presentaron un contenido de colesterol de $115,57 \pm 9,41$ mg/dl, valor éste que sale del rango normal del perfil lipídico para ratones albinos de acuerdo con lo establecido por León *et al.* (2011). Estos resultados revelan un aumento en el contenido de colesterol en sangre de los animales hiperlipidémicos de 34,20 mg/dl, en comparación con los niveles de este componente en sangre de los ratones control; confirmándose que la dieta suplementada con grasa de pollo fue efectiva para la inducción de hipercolesterolemia en los animales objeto de estudio.

El contenido de colesterol total en los ratones hiperlipidémicos tratados con el sólido SGA, obtenido de la corteza de *G. americana*, a dosis de 25 mg extracto/kg ratón x día ($110,80 \pm 9,51$ mg/dl) fue un poco superior a los valores que presentaron los ratones control, alimentados con dieta sin complemento graso ($81,37 \pm 7,49$ mg/dl) y los ratones alimentados con dieta rica en grasas tratados con el fármaco comercial Rosuvastatina a dosis de 8,3 mg/kg/día ($95,20 \pm 7,39$ mg/dl). Sin embargo, el contenido de colesterol

total en suero de los ratones control hiperlipidémico ($115,57 \pm 9,41$ mg/dl) fue un poco mayor que el valor de colesterol en los ratones tratados con el sólido SGA ($110,80 \pm 9,51$ mg/dl) pero ambos valores están dentro de un mismo rango. Esto permite deducir que, el sólido SGA aunque reduce en cierta medida el nivel de colesterol total en suero, de los ratones albinos alimentados con suplemento graso a dosis de 25 mg extracto/kg ratón x día, no es tan efectivo como el fármaco Rosuvastatina (dosis de 8,3 mg extracto/kg ratón x día) para controlar dichos valores dentro del rango normal establecido por León *et al.* (2011).

Sin embargo, es de hacer notar que esta diferencia de entre el efecto anticolesterol del sólido SGA y el fármaco comercial, puede estar relacionada a las numerosas investigaciones que han permitido mejorar el potencial de acción de dicho fármaco, mientras que para el sólido SGA obtenido de hojas de almendrón, es el primer bioensayo que se realiza para determinar su potencial anticolesterolémico.

Los resultados obtenidos del efecto hipolipemiante del sólido SGA, extraído de la corteza de *Genipa americana*, concuerdan con otros estudios donde se demuestra la eficacia de extractos de especies vegetales en la reducción de los niveles del perfil lipídico. Tal es el caso de los extractos hidroalcohólicos de hojas frescas de *Talinum triangulare* (falsa espinaca) y frutos verdes de *Abelmoschus esculentus* (quimbombó), los cuales, a dosis de 400 mg extracto/kg ratón/día, causaron reducción de los niveles de triacilglicéridos por mecanismos de acción diferentes, superiores al efecto del ácido nicotínico para cada caso; no obstante el extracto hidroalcohólico de *Talinum triangulare* indujo potente efecto reductor de colesterol superior al del ácido nicotínico y la atorvastatina (González *et al.*, 2015).

De igual manera, el extracto hidroalcohólico de hojas de *Cymbopogon citratus* S. (caña santa o malojillo) ejerció efecto hipolipemiante similar a la sinvastatina y el ácido nicotínico, en la reducción de los niveles de colesterol, triacilglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad, ensayados en un modelo de hiperlipidemia aguda a una dosis de 400 y 600 mg extracto/kg ratón/día (Betancourt *et al.* 2015).

Es de resaltar que no existen reportes previos de estudios realizados a extractos de corteza de caruto, ni determinaciones de efecto hipolipídico *in vivo*, siendo éste el primer registro latinoamericano.

Determinación del riesgo aterogénico

Se ha demostrado que las concentraciones de las lipoproteínas anormales desencadenan las diversas patologías cardiovasculares; la revisión bibliográfica de estudios previos hecha por Rodríguez (2009) ha indicado que alteraciones del metabolismo lipoproteico representan cerca del 50% del riesgo atribuible para el desarrollo de alguna enfermedad cardiovascular, siendo un principal factor de riesgo para aterosclerosis.

Actualmente, la evaluación del riesgo coronario derivado de las concentraciones aisladas de las distintas fracciones lipídicas (colesterol total y triglicéridos) y de lipoproteínas (colesterol LDL y/o HDL) para las enfermedades cardiovasculares se realiza con alta capacidad predictiva mediante los “cocientes o índices lipoproteicos”. Estos cocientes aportan información acerca del balance entre lipoproteínas aterogénicas y antiaterogénicas, y mientras mayor sea el valor de estos cocientes mayor será el riesgo cardiovascular. Por lo tanto, estos índices aterogénicos son una forma sencilla de valorar el riesgo vascular final derivado del perfil lipídico global. El numerador de estos cocientes generalmente está conformado por una variable lipídica con asociación positiva para riesgo cardiovascular (como el colesterol total o el LDL) y el denominador por una variable asociada negativamente con el mismo (como el HDL o los triglicéridos) (Rodríguez, 2009).

Al determinar el contenido de colesterol total y triglicéridos en suero de los ratones control, ratones hiperlipidémicos, así como en los ratones tratados con el sólido SGA, pudo establecerse la relación entre ambos valores y calcular el índice de riesgo aterogénico para los ratones objeto de estudio al dividir los valores de colesterol total entre los valores de triglicéridos (tabla 17). El índice aterogénico relaciona las concentraciones molares plasmáticas de triglicéridos y colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL) íntimamente ligados, y además es un indicador indirecto del

tamaño de las partículas de LDL (Arbogast y Dreher, 1987; Despres *et al.*, 2000; Khot *et al.*, 2003; Dobiasova, 2004; Irurita *et al.*, 2007).

Tabla 17. Índice de riesgo aterogénico para los ratones albinos hiperlipidémicos tratados con el sólido SGA y el fármaco comercial rosuvastatina.

RATONES	Índice de Riesgo Aterogénico (Colesterol Total/Triglicéridos)			
	Control C/N*	Control C/H*	Rosuvastatina*	Sólido SGA *
1	1,13	0,70	1,00	1,05
2	1,35	0,62	0,71	0,87
3	1,48	0,71	1,09	1,04
Media	1,32 ± 0,18	0,68 ± 0,05	0,93 ± 0,20	0,99 ± 0,10

***Control C/N:** Control Normal, ratones alimentados con dieta normal.

***Control C/H:** Control Hiperlipidémico, ratones alimentados con dieta rica en grasas.

***Control Antilipidémico:** ratones alimentados con dieta rica en grasas y tratados con Rosuvastatina 8,3 mg extracto/kg ratón x día.

***Sólido SGA:** ratones alimentados con dieta rica en grasas y tratados con sólido SGA de caruto 25 mg extracto/kg ratón x día.

Para la relación entre colesterol total/triglicéridos se consideran valores libre de riesgo cardiovascular los comprendidos en el rango entre 0,95 y 1,30 (Arbogast y Dreher, 1987; Despres *et al.*, 2000; Khot *et al.*, 2003; Dobiasova, 2004) de allí que tanto los animales Control C/N, alimentados con dieta estándar como los ratones hiperlipidémicos, alimentados con dieta rica en grasa, presentan mayor probabilidad de riesgo cardiovascular al encontrarse fuera del rango de valores normales. El valor promedio del índice aterogénico para los ratones del grupo Control C/N ($1,32 \pm 0,18$) está ligeramente sobre el rango establecido, indicando que a pesar de no consumir dieta rica en grasas los animales tienen una cierta probabilidad de riesgo coronario. Al igual los animales Control C/H cuya alimentación rica en grasas favorece en gran medida el riesgo aterogénico ya que su valor promedio está por debajo del rango esperado ($0,68 \pm 0,05$).

En el caso de los ratones Control Antilipidémico, dosificados con el fármaco Rosuvastatina, exhiben valores medios de su índice lipoproteico un poco por debajo de lo normal lo que permite deducir que a pesar de que dicho fármaco reduce satisfactoriamente los valores de colesterol y triglicéridos, no evita totalmente, en los animales sujetos al estudio, el riesgo de padecer accidentes cardiovasculares y/o

coronarios. De igual forma, al analizar el índice aterogenico del grupo de ratones alimentados con dieta rica en grasas y tratados con dosis del sólido SGA ($0,99 \pm 0,10$), se observó una tendencia similar a la del grupo de Control Antilipidémico, destacándose la eficacia del sólido SGA no solo como posible tratamiento para el control de dislipidemias sino también su potencial como coadyuvante en la prevención del riesgo coronario.

Determinación de la estructura química de los compuestos aislados:

La elucidación estructural de los compuestos aislados se realizó a través de datos espectroscópicos obtenidos mediante experimentos unidimensionales de RMN de ^1H y ^{13}C , además de experimentos bidimensionales homo y heteronuclear (COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, H2BC) y espectrometría de masas.

Análisis espectroscópico del SÓLIDO STC, obtenido del EMHA de *Terminalia catappa*:

Análisis de RMN ^1H del sólido STC

En el espectro de RMN ^1H del sólido STC (800 MHz, D_2O), figura 13, pueden observarse cuatro señales muy definidas: un doblete de doblete a 3,78 ppm, doblete distorsionado a 3,71 ppm, doblete de triplete distorsionado a 3,67 ppm y un doblete de doblete a 3,59 ppm, todas estas señales integran para un protón cada una. Señales atribuibles a protones glicosídicos, debido a la posible presencia de átomos de oxígeno cercanos a grupos $-\text{CH}$ y $-\text{CH}_2$, además de la similitud con los desplazamientos químicos de los protones del manitol.

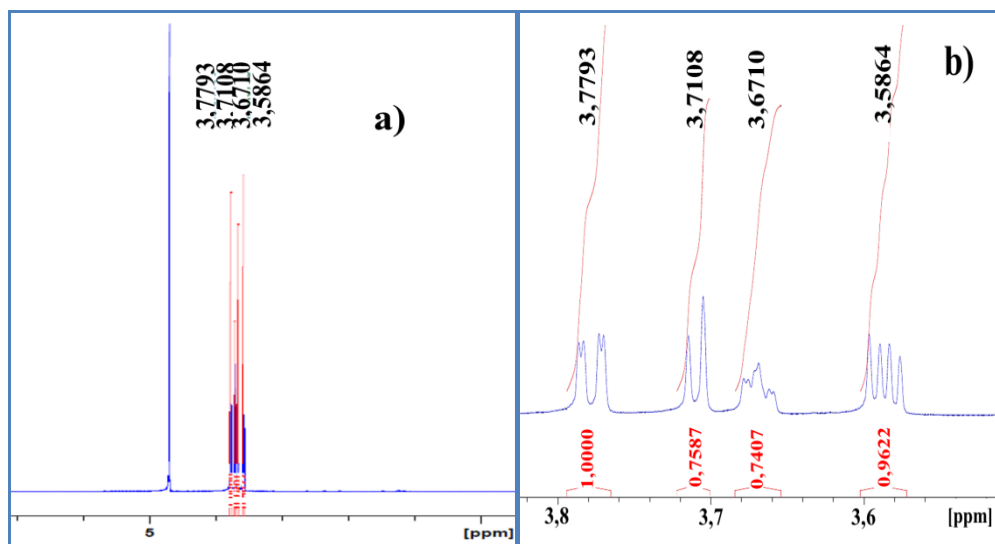


Figura 13. Espectros RMN ^1H del sólido STC (800 MHz, D_2O): a) RMN ^1H y b) ampliación de la zona con δ_{H} entre 3,5 – 3,8 ppm.

Análisis de RMN ^{13}C del sólido STC

En la figura 14-a se presenta el espectro de RMN ^{13}C (800 MHz, D_2O) del sólido STC, en el cual se observan tres señales de carbono muy definidas entre 62 – 70 ppm. Adicionalmente, al observarse el espectro DEPT 135 (800 MHz, D_2O), en la figura 14-b, se deduce que la señal con desplazamiento químico (δ_{C}) de 62,34 ppm corresponde a un grupo $-\text{CH}_2$ y las señales con δ_{C} de 68,38 y 69,94 ppm pertenecen a dos grupos $-\text{CH}$, concordante con los desplazamientos químicos del manitol (400 MHz, D_2O), cuyos δ_{C} son 65,92 ($-\text{CH}_2$); 71,92 ($-\text{CH}$) y 73,45 ($-\text{CH}$) (BMRDB, 2016).

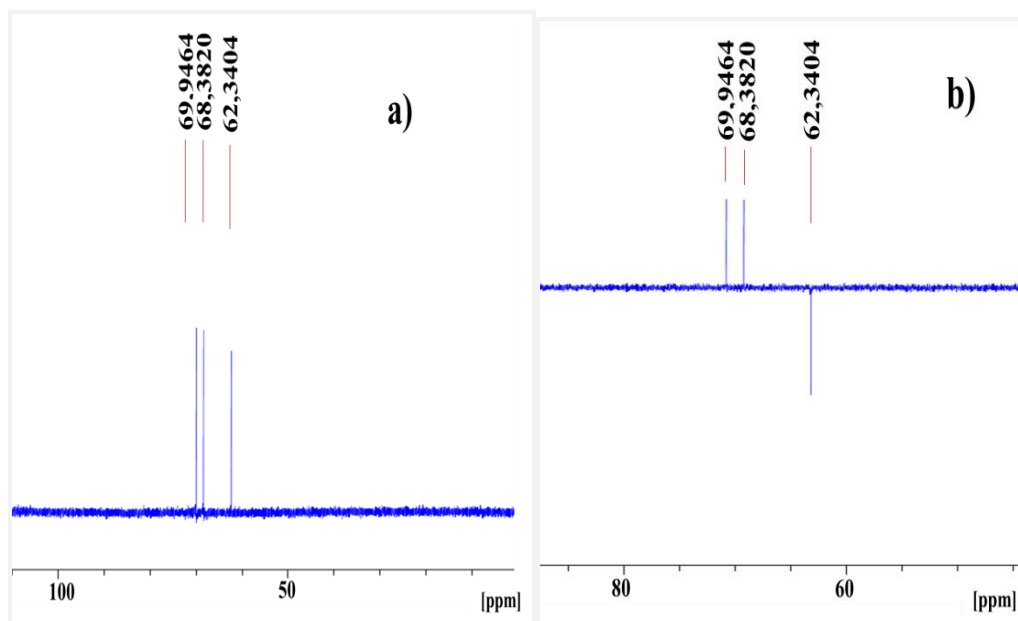


Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C del sólido STC (800 MHz, D_2O): a) RMN ^{13}C y b) DEPT 135.

Análisis de RMN bidimensional heteronuclear HSQC del sólido STC

El experimento HSQC (800 MHz, D_2O) del sólido STC, figura 15, generó un espectro que confirma la presencia de un grupo $-\text{CH}_2$ (señal de carbono con δ_{C} 62,34 ppm que se correlaciona con las señales de protones δ_{H} 3,59 ppm que se observa en forma de doblete de doblete y δ_{H} 3,78 ppm que se observa como doblete de doblete) y dos grupos $-\text{CH}$; un grupo $-\text{CH}$ cuyo carbono con δ_{C} de 68,38 ppm se correlaciona con la señal de protón con δ_{H} de 3,71 ppm y otro grupo $-\text{CH}$ con δ_{C} 69,94 ppm unido al protón δ_{H} 3,67 ppm cuya multiplicidad es doblete de triplete distorsionado.

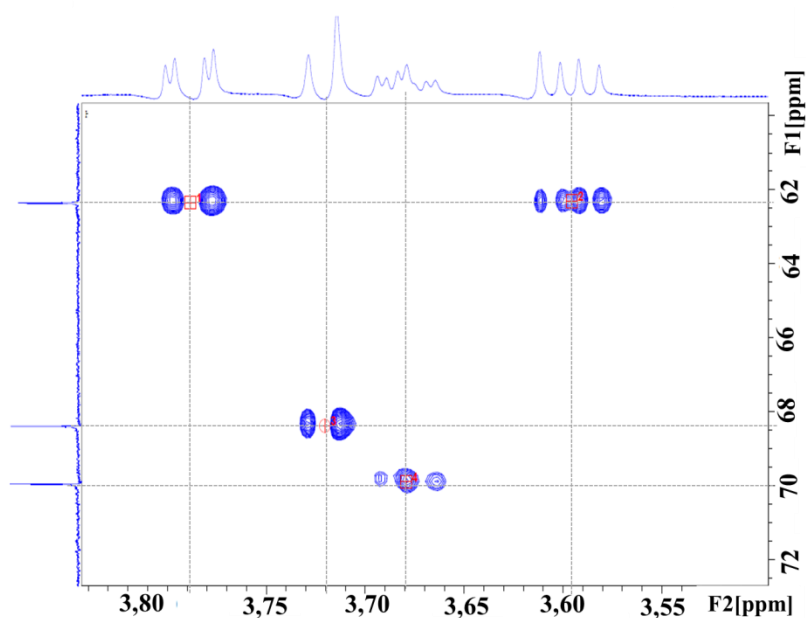


Figura 15. Espectro de RMN HSQC del sólido STC (800 MHz, D₂O)

Luego de analizarse todos los espectros de RMN experimentales y datos bibliográficos previamente reportados, tabla 18, se pudo concluir, que el compuesto denominado como sólido STC, se corresponde con la estructura química del poliol manitol.

Tabla 18. Desplazamientos químicos de RMN del sólido STC y del manitol. Biological Magnetic Resonance Data Bank (BMRDB, 2016).

	Sólido STC (800 MHz, D₂O)		Manitol (400 MHz, D₂O)	
	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
-CH ₂ (1)	62,34	3,59 c; 3,78 dd	65,92	3,67 c; 3,86 dd
-CH (2)	69,94	3,67 dt	73,45	3,75 dt
-CH (3)	68,38	3,71 d	71,92	3,77 d
-CH (4)	68,38	3,71 d	71,92	3,77 d
-CH (5)	69,94	3,67 dt	73,45	3,75 dt
-CH ₂ (6)	62,34	3,59 c; 3,78 dd	65,92	3,67 c; 3,86 dd

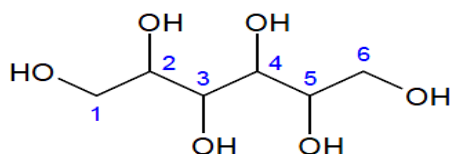


Figura 16. Estructura química del manitol. Biological Magnetic Resonance Data Bank (BMRDB, 2016).

Análisis de Espectrometría de masas del sólido STC

El espectro de masas para el sólido STC obtenido por electronebulización, figura 17, presenta un ion molecular [M-1] de relación masa/carga (m/z) de 181 unidades de masa atómica (uma), atribuible a la masa del manitol ($C_6H_{14}O_6$, 182) con la pérdida de un protón, producto de la forma de ionización en modo de ion negativo.

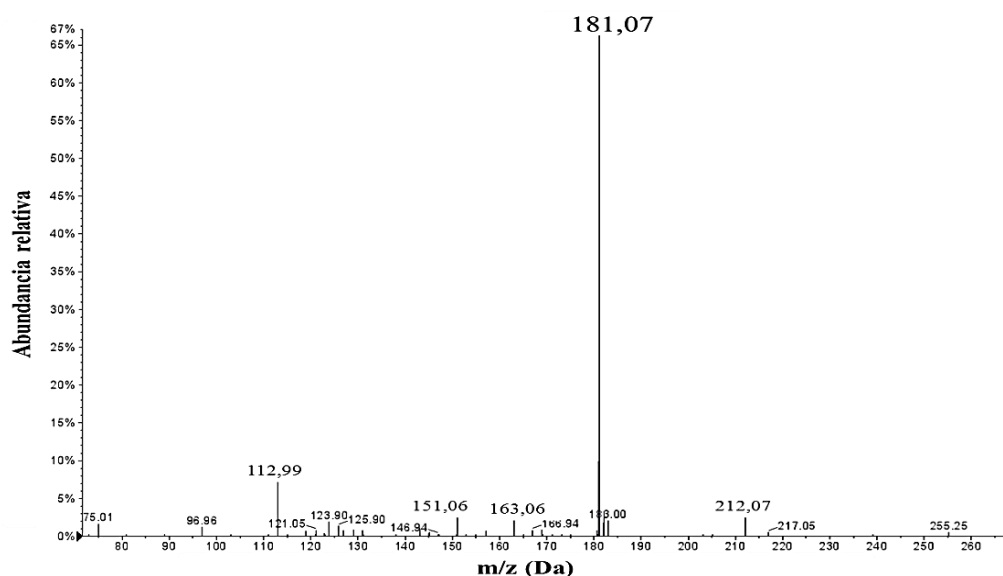


Figura 17. Espectro de masas, mediante electronebulización ESI-MS, del sólido STC, en modo de ion negativo.

Análisis espectroscópico del SÓLIDO SGA, obtenido del EMC de *Genipa americana*:

Análisis de RMN 1H del sólido SGA

El espectro de RMN 1H (800 MHz, DMSO d_6) del sólido SGA, figura 18, presenta siete señales en dos regiones a campo intermedio. Se observa, un doblete con desplazamiento químico (δ_H) de 4,41 ppm ($J = 5,3$ Hz); un triplete con δ_H de 4,32 ppm ($J = 5,6$ Hz) y un doblete a 4,13 ppm ($J = 6,9$ Hz), señales que integran para un protón cada una y son atribuibles a señales de protones próximos a elementos electronegativos como oxígeno y/o nitrógeno. Un multiplete con δ_H de 3,60 ppm, un triplete con δ_H de 3,54 ppm, un multiplete distorsionado a 3,45 ppm y finalmente un multiplete con desplazamiento químico de 3,37 ppm, atribuibles a protones asociados a carbonos próximos a oxígeno y/o nitrógeno.

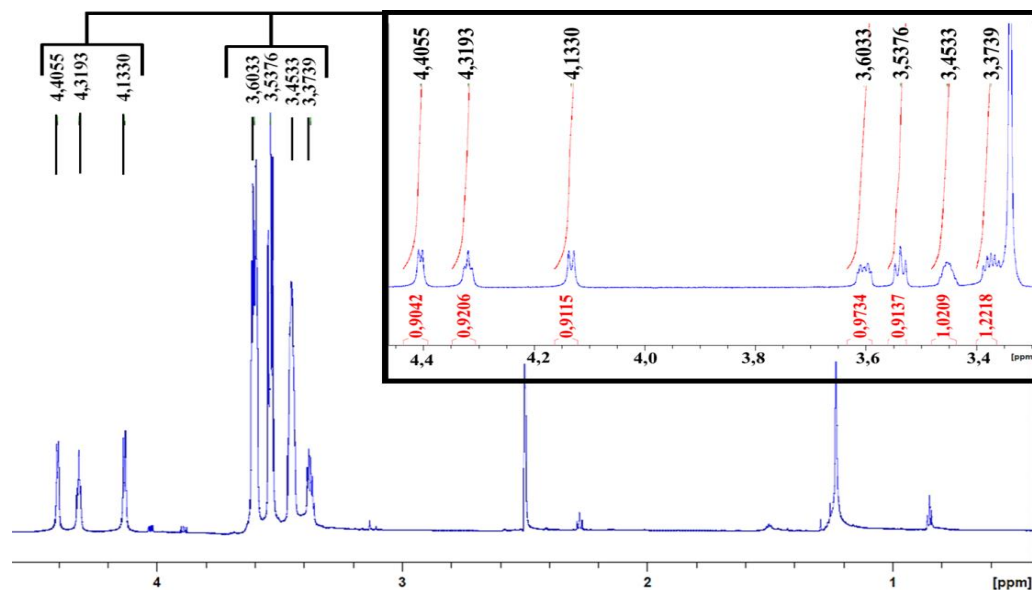


Figura 18. Espectro de RMN ^1H del sólido SGA (800 MHz, DMSO d_6)

Análisis de RMN ^{13}C del sólido SGA

En el espectro de RMN ^{13}C (800 MHz, DMSO d_6) del sólido SGA, figura 19, se observan tres señales de carbono muy definidas a δ_{C} 71,31; 69,68 y 63,86 ppm semejantes a señales características de compuestos glicosídicos o carbohidratos tipo manitol. Luego, a la misma muestra, se le realizaron experimentos de RMN ^{13}C DEPT 90 y DEPT 135, figura 20-b y 20-c, a través de los cuales se puede corroborar que las señales con δ_{C} 71,31 y δ_{C} 69,68 ppm corresponden con dos grupos $-\text{CH}$ y la señal de 63,86 ppm con un grupo $-\text{CH}_2$.

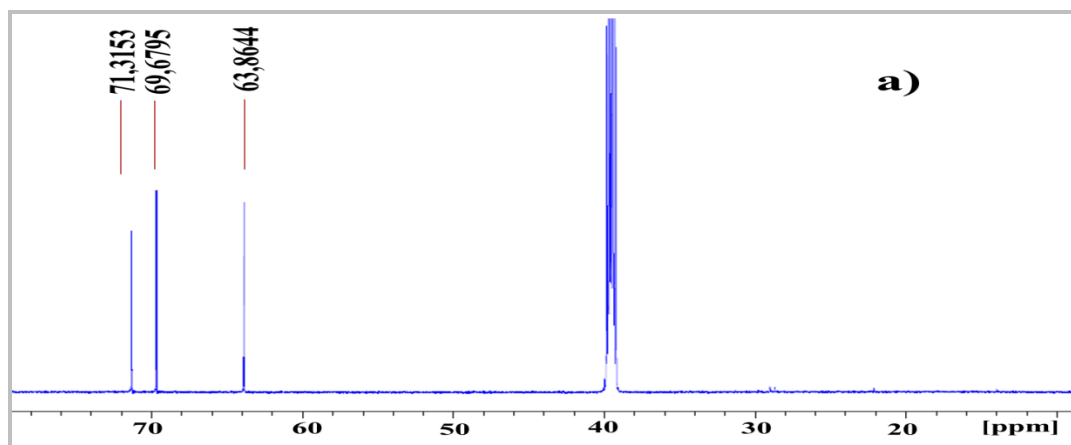


Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C del sólido SGA (800 MHz, DMSO d_6).

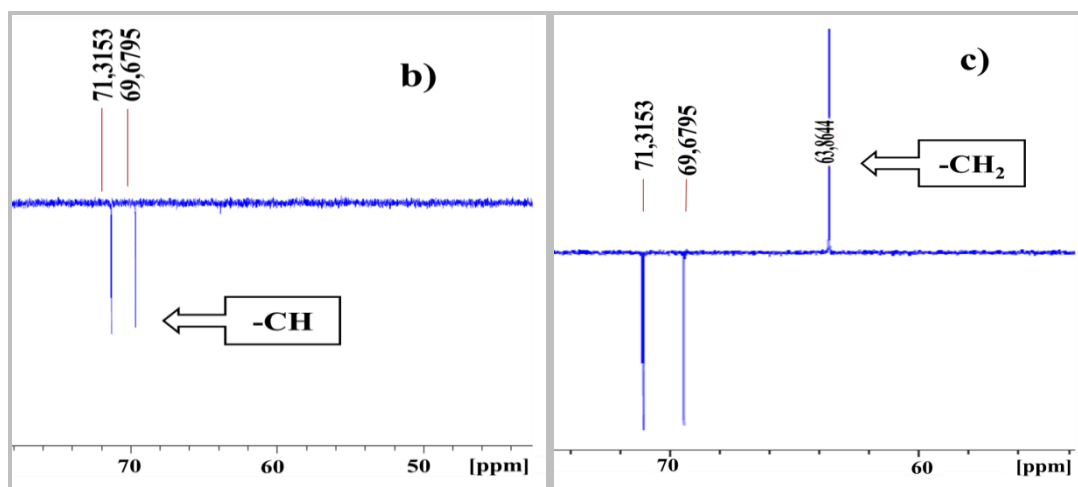


Figura 20. Espectros de RMN ^{13}C del sólido SGA (800 MHz, DMSO d_6): b) DEPT-90 y c) DEPT 135.

Análisis de RMN ^1H de correlación homonuclear COSY del sólido SGA

El experimento de RMN ^1H bidimensional de correlación homonuclear COSY (800 MHz, DMSO d_6), figura 20, evidencia que las siete señales de protones tienen fuerte correlación entre sí. El multiplete con δ_{H} 3,37 ppm se correlaciona con el multiplete de δ_{H} 3,60 ppm y con el triplete δ_{H} 4,32 ppm. Así mismo, el multiplete distorsionado con δ_{H} 3,45 ppm se correlaciona con el triplete δ_{H} 3,54 ppm. Dicho triplete también muestra correlación con el doblete δ_{H} 4,13 ppm. Mientras que el doblete con δ_{H} 4,41 ppm se correlaciona con el múltiple a δ_{H} 3,45 ppm.

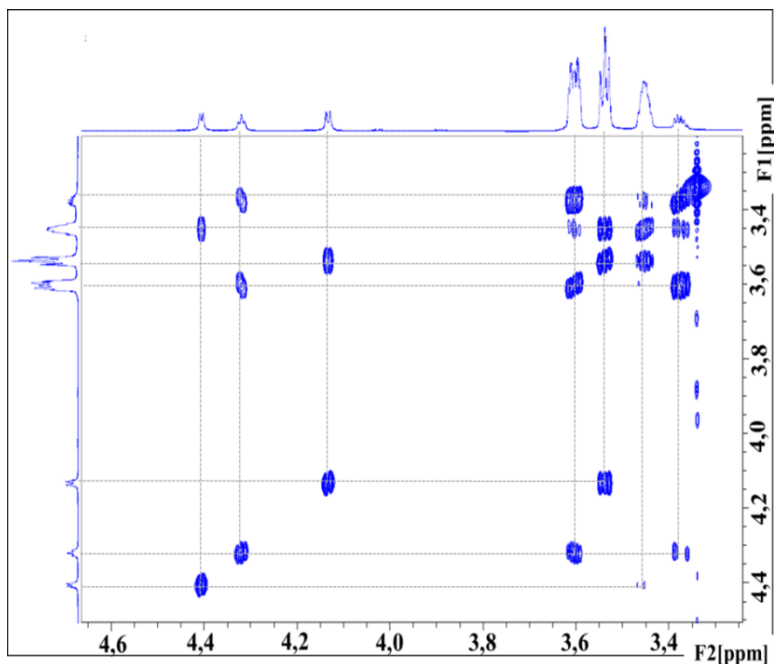


Figura 21. Espectro de RMN ^1H -COSY del sólido SGA (800 MHz, $\text{DMSO } d_6$)

En la figura 21, se muestran las correlaciones entre protones, anteriormente, descritas para el sólido SGA, deducidas del análisis del espectro de RMN ^1H de correlación homonuclear COSY.

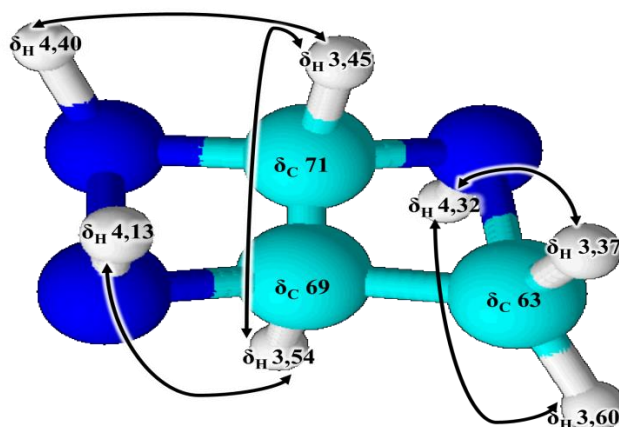


Figura 22. Correlaciones homonucleares entre protones, para la estructura del sólido SGA, determinados mediante análisis de RMN ^1H - COSY.

Análisis de RMN ^1H - TOCSY del sólido SGA

El espectro de RMN ^1H de correlación homonuclear entre protones de un sistema de espín TOCSY (800 MHz, $\text{DMSO } d_6$), figura 22, presenta mayor número de

correlaciones entre los núcleos de protones, demostrando las correlaciones a distancia. El protón que genera el multiplete con δ_H 3,45 ppm y el proton del triplete con δ_H 3,54 ppm se correlacionan entre si y a su vez los protones con δ_H 3,45 y 3,54 ppm interactúan con las señales múltiples con δ_H 3,37 y 3,60 ppm y los dobletes a δ_H 4,13 y 4,40 ppm.

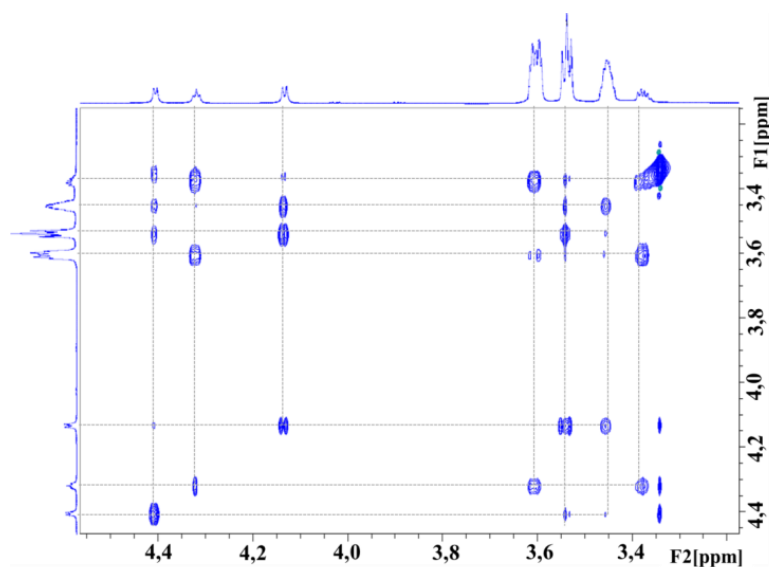


Figura 23. Espectro de RMN ^1H -TOCSY del sólido SGA (800 MHz, DMSO d_6)

En la figura 23, se muestran las correlaciones entre protones anteriormente descritas para el sólido SGA, de acuerdo al resultado del análisis de RMN ^1H de correlación homonuclear TOCSY.

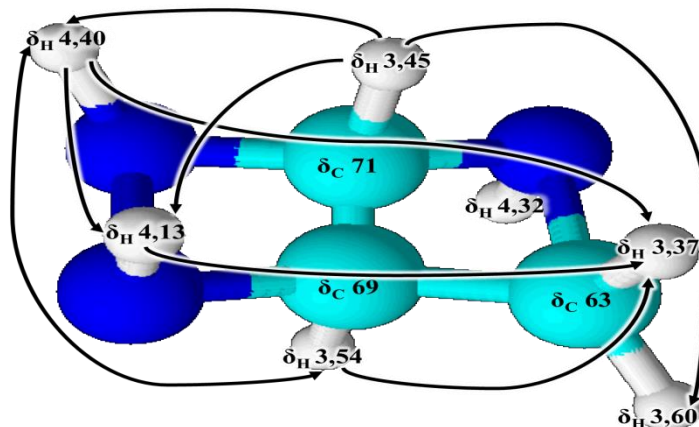


Figura 24. Correlaciones homonucleares entre protones, para la estructura del SGA, determinados mediante análisis de RMN ^1H TOCSY.

Análisis de RMN de correlación directa heteronuclear HSQC del sólido SGA

El experimento de RMN de correlación heteronuclear directa HSQC (800 MHz, DMSO d_6), figura 24, generó un espectro que evidencia correlación directa entre los protones que generan los multipletes con δ_H 3,37 y 3,60 ppm con la señal de carbono con δ_C 63,86 ppm, confirmando la presencia de un grupo $-\text{CH}_2$ con protones diasterotópicos. El multiplete con δ_C 3,45 ppm está unido al átomo de carbono con δ_C 71,31 ppm y el triplete que se observa a δ_H 3,54 ppm está unido al carbono que presenta δ_C 69,68 ppm; lo cual corrobora la presencia de dos grupos $-\text{CH}$, determinados anteriormente por los experimentos de RMN ^{13}C DEPT 90 y DEPT 135, figura 19-b y 19-c. Cabe destacar que para las señales con δ_H de 4,13; 4,32 y 4,41 ppm no se observa correlación directa con núcleos de carbono, esto indica que los protones que generan estas señales no están conectados en forma directa a núcleos de carbono, lo que sugiere que están unidos posiblemente a átomos de nitrógeno debido al desdoblamiento de las señales, porque si estuviesen enlazados a núcleos de oxígeno se observarían como picos anchos.

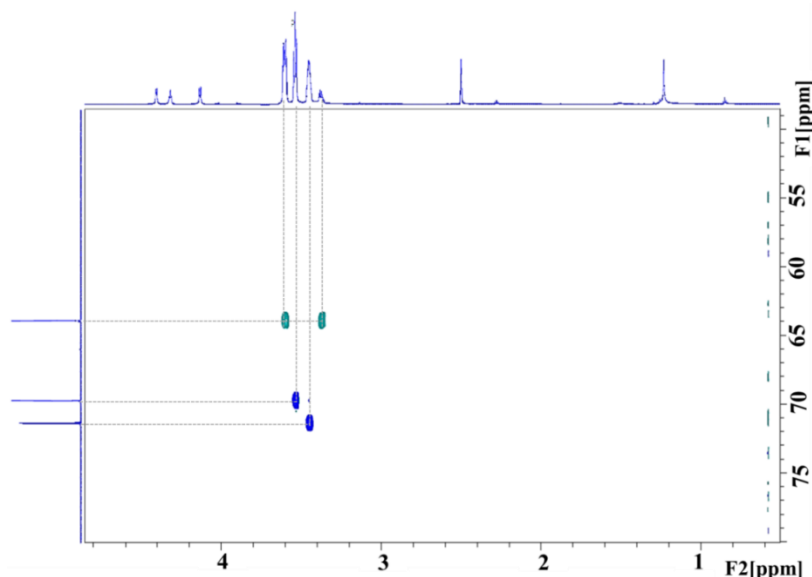


Figura 25. Espectro de RMN HSQC del sólido SGA (800 MHz, DMSO d_6)

Análisis de RMN de correlación heteronuclear a múltiples enlaces HMBC del sólido SGA

En el espectro de RMN de correlación múltiple heteronuclear a más de un enlace HMBC (800 MHz, DMSO d_6), figura 25, se evidencia una fuerte correlación entre las señales de

los protones del grupo $-\text{CH}_2$ (δ_{H} 3,37 y 3,60 ppm) y los carbonos de los grupos $-\text{CH}$ y viceversa. A su vez pudo determinarse que las señales con δ_{H} 4,32 y 4,41 ppm tienen una clara relación con los grupos $-\text{CH}$ y el grupo $-\text{CH}_2$, pero el doblete que se observa a δ_{H} 4,13 ppm únicamente se relaciona con el carbono de los grupos $-\text{CH}$.

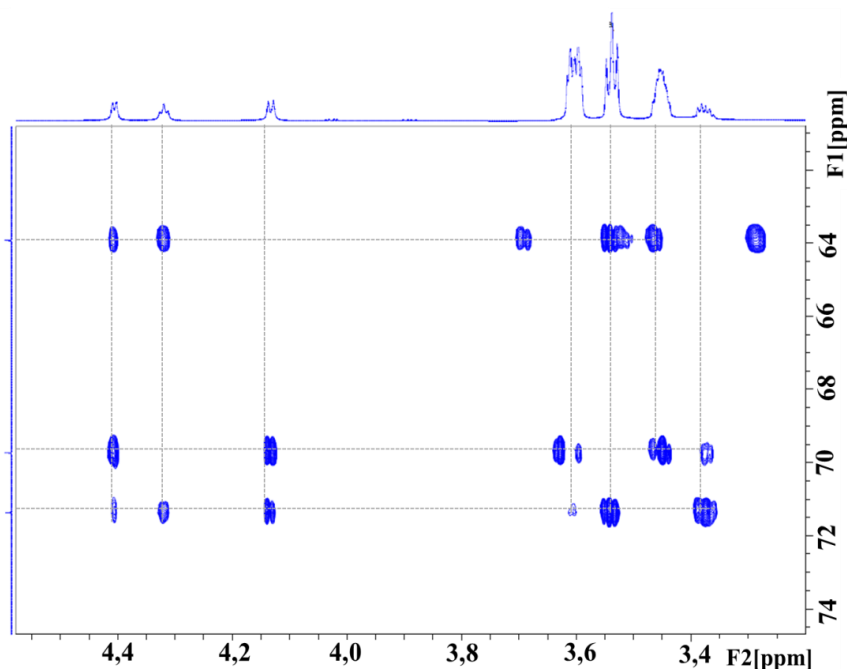


Figura 26. Espectro de RMN de correlación Heteronuclear a multiple enlace HMBC del sólido SGA (800 MHz, DMSO d_6).

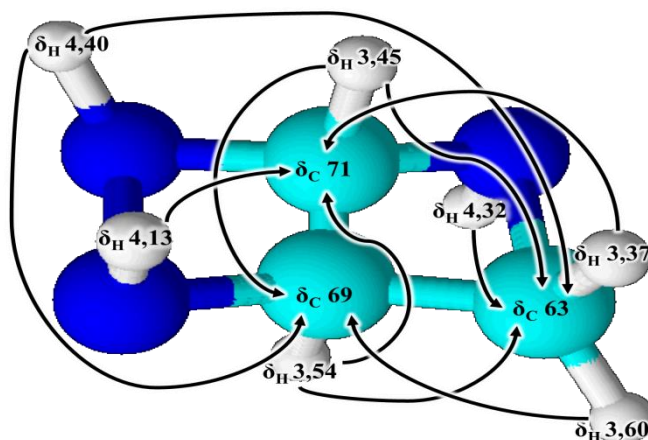


Figura 27. Correlaciones heteronucleares entre protones, para la estructura del sólido SGA, determinados mediante análisis de RMN HMBC.

Luego de analizarse todos los espectros de RMN experimentales se propone que el compuesto denominado como sólido SGA, se corresponde con la estructura química de un 2,3,5-triazabicyclo[2.2.0]hexano. Siendo éste el primer reporte de la existencia de esta estructura química en la naturaleza.

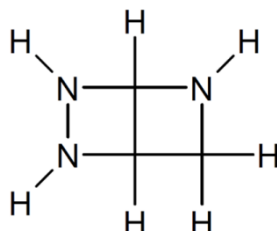


Figura 28. Estructura química del 2,3,5-triazabicyclo[2.2.0]hexano

Análisis espectroscópico del SÓLIDO EC2, obtenido de *Erythroxylum cumanense* Kunth:

El sólido EC2 obtenido, fue ensayado directamente con el reactivo de Dragendorff, detectándose la posible presencia del grupo funcional alcaloideo. Sin embargo, no fue posible medir su punto de fusión, destacándose que dicha muestra probablemente se corresponda con la sal de algún alcaloide. Debido a esta característica, la muestra (12,6 mg) debió ser sometida a un previo proceso de disolución en DMSO- d_6 antes de realizársele los análisis de RMN, y la pequeña cantidad de muestra soluble en dicho solvente (< 2 mg) fue colocada (5 μ l) en un tubo para RMN especial para espectrómetros Bruker (diámetro externo de 1,7 mm; 103,5 mm de longitud; 0,20 mm de grosor de pared y 60 μ m de cámara). Se muestran a continuación todos los análisis realizados para la muestra EC2.

Análisis de RMN ^1H , ^1H -COSY y ^1H -TOCSY del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6)

Debido a la poca cantidad de muestra disuelta en el solvente y a su naturaleza de sal alcaloidal, debió aplicársele dos tipos de experimentos de RMN ^1H para suprimir la señal de agua y observar con más detalle las señales de la muestra en el rango de δ_{H} entre los 3,0 y 3,5 ppm, debido a que en el espectro obtenido de manera normal, la señal del solvente (agua) solapa algunas de las señales pertenecientes a la muestra. Para la supresión de la señal del agua, se utilizaron los métodos de presaturación de pulsos y WATERGATE (Supresión de agua por gradiente de excitación adaptada; WATER-

suppression by GrAdient-Tailored Excitation, por sus siglas en inglés). Cuando se aplica la presaturación de pulsos, la interacción del núcleo con átomos intercambiables del solvente también están siendo saturadas, ya que se aplica un bajo poder de irradiación sobre el agua antes de aplicar la primera secuencia de pulsos de 90° , usualmente durante el periodo de relajación (Pelczer, 2003).

La secuencia de pulsos aplicada al utilizar el método WATERGATE, puede ser fácilmente implementada en análisis de RMN ^1H en una y dos dimensiones, debido a su eficacia superior con respecto a otros métodos ya que no suprime las señales del núcleo que se intercambian con el solvente. Normalmente, el método WATERGATE utiliza pulsos de radiofrecuencia relativamente cortos y por lo tanto no mucha frecuencia selectiva, dando una amplia excitación mínima alrededor de la señal del agua (Alam y Alam, 2004). Sin embargo, para realizar el análisis de las señales de la muestra en estudio, se tomaron en cuenta ambos métodos. La comparación de los espectros RMN ^1H obtenidos para la muestra, se detallan a continuación:

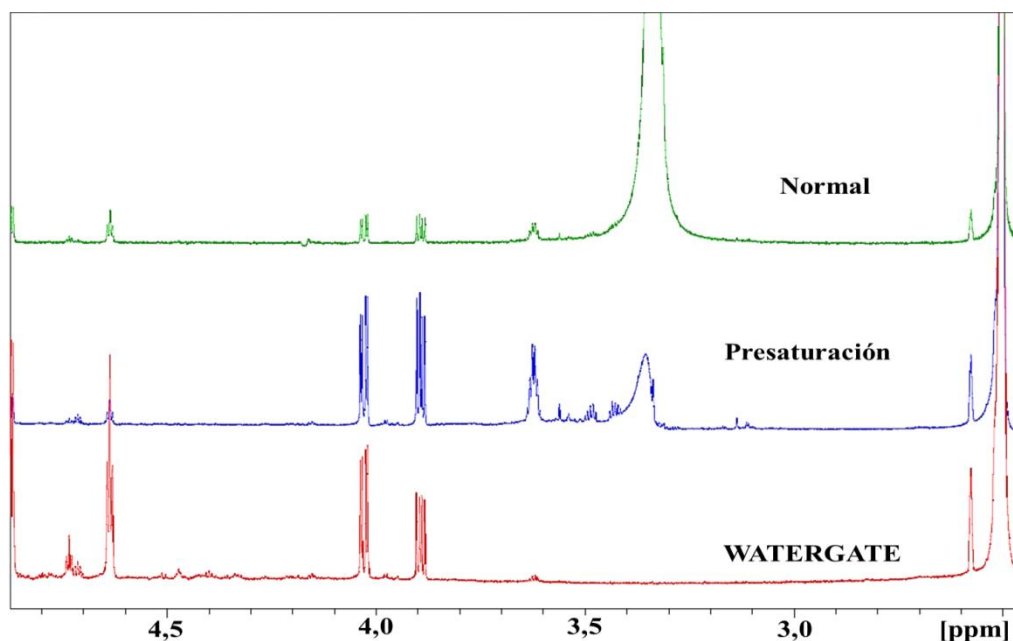


Figura 29. Comparación de espectros de RMN ^1H (900 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) en la región entre 2,5 – 5,0 ppm obtenidos aplicando experimentos de supresión de señal del solvente: a) espectro normal, b) experimento de presaturación y c) experimento

WATERGATE.

De acuerdo a los espectros de protones ^1H – unidimensional se determinó la presencia de once señales de protones presentes en la estructura química del compuesto EC2. Las señales con desplazamiento químico de 0,85 (H6), 1,24 (H4), 2,28 (H2) y 3,34 (H7) ppm, todas están en forma de multipletes; un triplete a 1,51 (H3) ppm, doblete de triplete a 4,64 (H10), cuarteto a 3,62 (H9) ppm y cinco señales doblete de doblete con δ_{H} 3,90 (H8a), 4,03 (H8b) y 4,87 (H11) ppm. Debido a la naturaleza de sal alcaloidal de la muestra EC2 y la poca cantidad disuelta, los valores calculados para las integrales en el espectro no proporcionan información totalmente precisa sobre la cantidad exacta de protones presentes en la estructura.

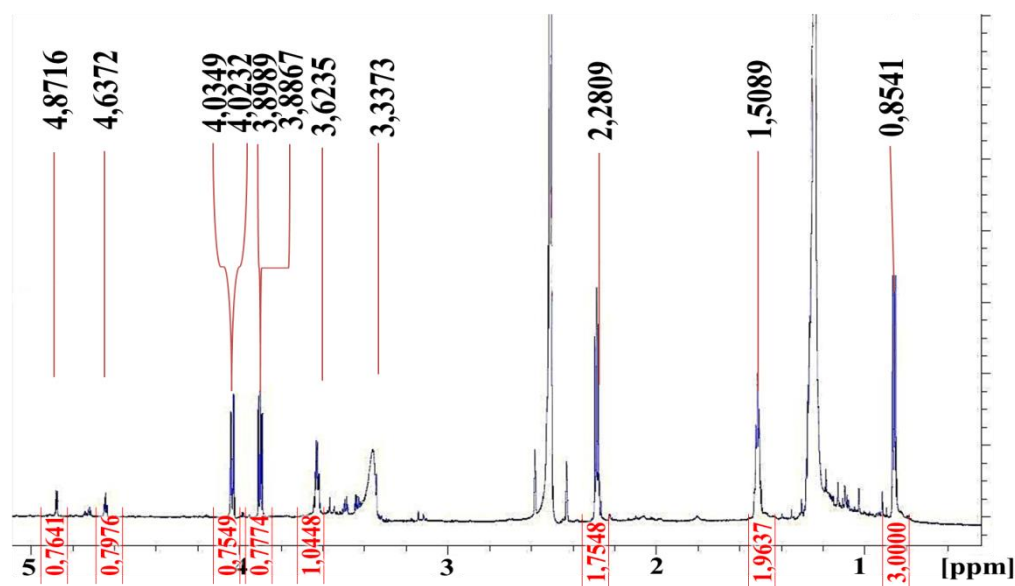


Figura 30. Espectro de RMN ^1H del sólido EC2 (900 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

El experimento de RMN de correlación homonuclear COSY, evidencia interacciones entre las señales de los protones H3-H2 y los protones H8-H9. En el TOCSY, figura 31, se generó un mayor número de correlaciones entre los protones en la estructura, aparece una señal de protones (H5) a δ_{H} 1,25 ppm correlacionada con H2, H3 y H6; H2 y H3, entre sí. Sin embargo, estos protones H2, H3, H4, H5 y H6 no muestran ningún tipo de correlación con las señales de protones restantes, delimitando un sistema de espín diferente. Las señales de los protones H7, H8a, H8b, H9, H10 y H11 conforman otro

sistema de espín, observándose la fuerte correlación entre todos los protones H7 a H11.

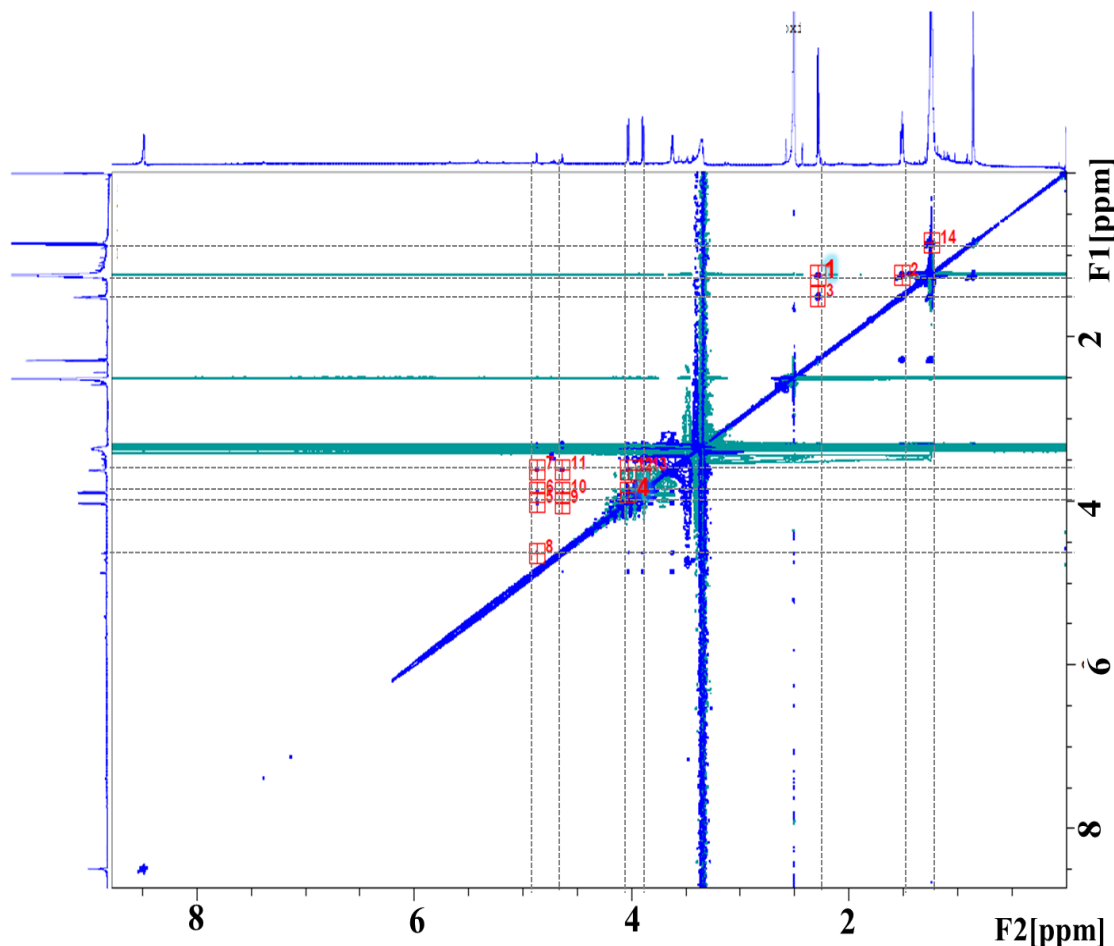


Figura 31. Espectro RMN ^1H -TOCSY del sólido EC2 (900 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)*.

*Las intersecciones 1 y 4 son las únicas relaciones observadas en el espectro de RMN ^1H -COSY del sólido EC2 (900 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

Análisis de RMN ^{13}C - DEPTQ del sólido EC2 (900 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

A la gran mayoría de compuestos orgánicos se les puede aplicar experimentos de RMN ^{13}C normal así como DEPT-135, si la muestra está diluida puede llevar un considerable período de tiempo para obtener los espectros (esto genera mayor inversión y horas hombre de trabajo). Sin embargo, se puede ejecutar un espectro DEPTQ-135 a la muestra y obtener la misma información en menor tiempo, ahorrando así horas de operatividad de equipos espectroscopicos. Un espectro DEPTQ-135 es lo mismo que un espectro DEPT-135, excepto que los carbonos cuaternarios están presentes y aparecen

180 grados fuera de fase (en sentido positivo) con respecto a los carbonos de grupos CH y CH₃ (en sentido negativo). Tomándose en cuenta que las señales del solvente deuterado comúnmente utilizado aparecen en el espectro DEPTQ, estas pueden ser utilizadas como referencias del desplazamiento químico. Tomando en consideración que la muestra del sólido EC2 utilizada para los análisis de RMN estaba muy diluida se le realizó un espectro DEPTQ-135 (figura 32).

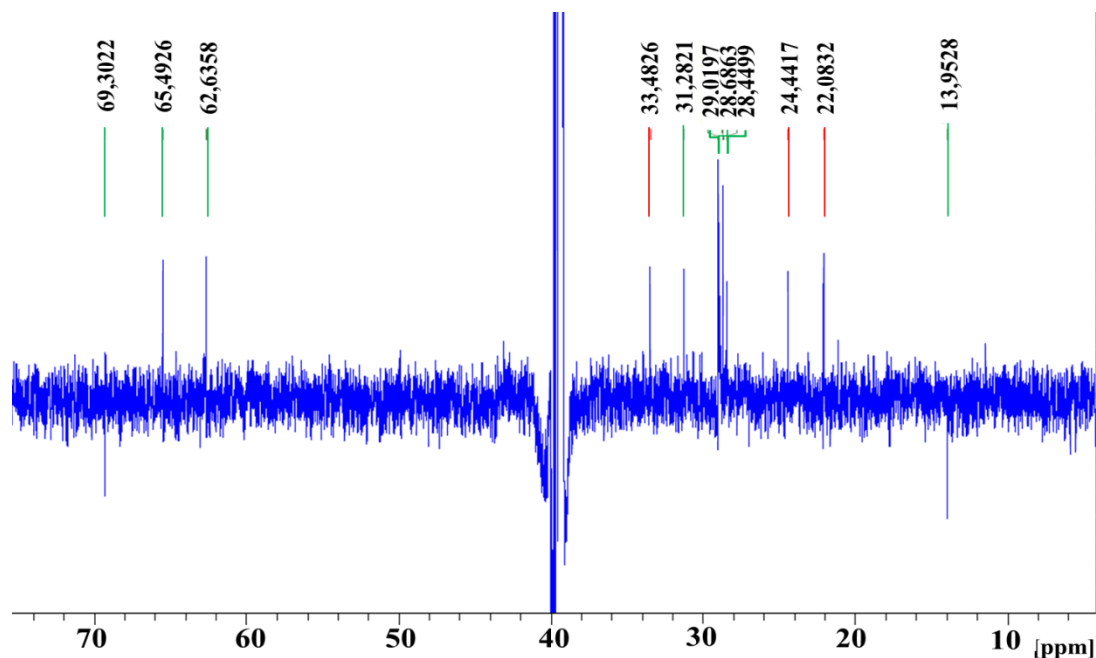


Figura 32. Espectro RMN ¹³C-DEPTQ 135 del sólido EC2 (900 MHz, DMSO-*d*₆)

Se observan 11 señales de carbono, de las cuales las señales con δ_c 13,95 y 69,30 ppm pueden ser atribuibles a carbonos de grupos CH y/o CH₃ y las demás señales pueden corresponderse con grupos CH₂ y/o carbonos cuaternarios.

Análisis de RMN HSQC (pure shift) del sólido EC2 (900 MHz, DMSO-*d*₆)

El experimento HSQC es el método de RMN más utilizado para correlacionar los cambios químicos de los pares ¹³C-¹H unidos directamente. Sin embargo, en su forma convencional, muestra la estructura del multiplete de protones en F2, limitando así la resolución en los espectros de especies complejas (Paudel *et al.*, 2013). Razón por la cual, se realizan espectros de HSQC (pure shift), los cuales muestran una resolución

mejorada en F2, además de una relación señal – ruido mejorada. Los datos HSQC (pure shift) con una resolución comparable se pueden obtener mucho más rápidamente (hasta el punto en que un espectro pure shift puede requerir menos tiempo para la adquisición que un espectro convencional) y sin la necesidad de ningún procesamiento de datos adicional. La única restricción es que el núcleo observado indirectamente, generalmente ^{13}C , no debería mostrar el acoplamiento homonuclear (Paudel *et al.*, 2013).

El experimento de HSQC (pure shift), conduce al colapso completo de resonancias de multipletes en singletes (excepto por señales de metileno no equivalentes, que se colapsan a dobletes). Este desacoplamiento homonuclear produce señales con mayor intensidad y mejor resolución, reduciendo los límites de detección, acelerando los experimentos y mejorando la capacidad de distinguir entre señales en espectros complejos. Este experimento es potencialmente adecuado para el análisis espectral automatizado, ya que se ve una sola señal para cada sitio o correlación química distinta (Paudel *et al.*, 2013). Debido a la pequeña cantidad del sólido EC2 disuelto en $\text{DMSO-}d_6$, se realizó un experimento de RMN de correlación cuántica única heteronuclear de desplazamiento puro (HSQC-pure shift) en tiempo real

En el espectro de correlación heteronuclear directa H-C, HSQC (pure shift), de la muestra EC2, figura 33, pudo determinarse la presencia de siete señales de carbono unidos a diez señales de protones, evidenciándose la presencia de protones diastereotópicos: $\delta_{\text{C}} 14 \rightarrow \delta_{\text{H}} 0,85$; $\delta_{\text{C}} 22 \rightarrow \delta_{\text{H}} 1,25$; $\delta_{\text{C}} 24 \rightarrow \delta_{\text{H}} 1,24$; $\delta_{\text{C}} 34 \rightarrow \delta_{\text{H}} 2,28$; $\delta_{\text{C}} 62 \rightarrow \delta_{\text{H}} 3,34$; $\delta_{\text{C}} 69 \rightarrow \delta_{\text{H}} 3,62$; $\delta_{\text{C}} 66 \rightarrow \delta_{\text{H}} 3,90$ y $4,03$. Señales de desplazamiento químico de carbonos asignables a grupos $-\text{CH}_3$ ($\delta_{\text{C}} 14 \rightarrow \delta_{\text{H}} 0,85$), grupos CH_2 ($\delta_{\text{C}} 22 \rightarrow \delta_{\text{H}} 1,25$; $\delta_{\text{C}} 24 \rightarrow \delta_{\text{H}} 1,24$; $\delta_{\text{C}} 34 \rightarrow \delta_{\text{H}} 2,28$; $\delta_{\text{C}} 62 \rightarrow \delta_{\text{H}} 0,85$; $\delta_{\text{C}} 66 \rightarrow \delta_{\text{H}} 3,90$ y $4,03$) y un grupo $-\text{CH}$ ($\delta_{\text{C}} 69 \rightarrow \delta_{\text{H}} 3,62$). Resaltándose que las señales de protones H10 ($\delta_{\text{H}} 4,64$ ppm) y H11 ($\delta_{\text{H}} 4,87$ ppm) no se correlacionan con ninguna señal de carbono, por lo que deben estar unidas a otro heteroátomo, sea oxígeno o nitrógeno.

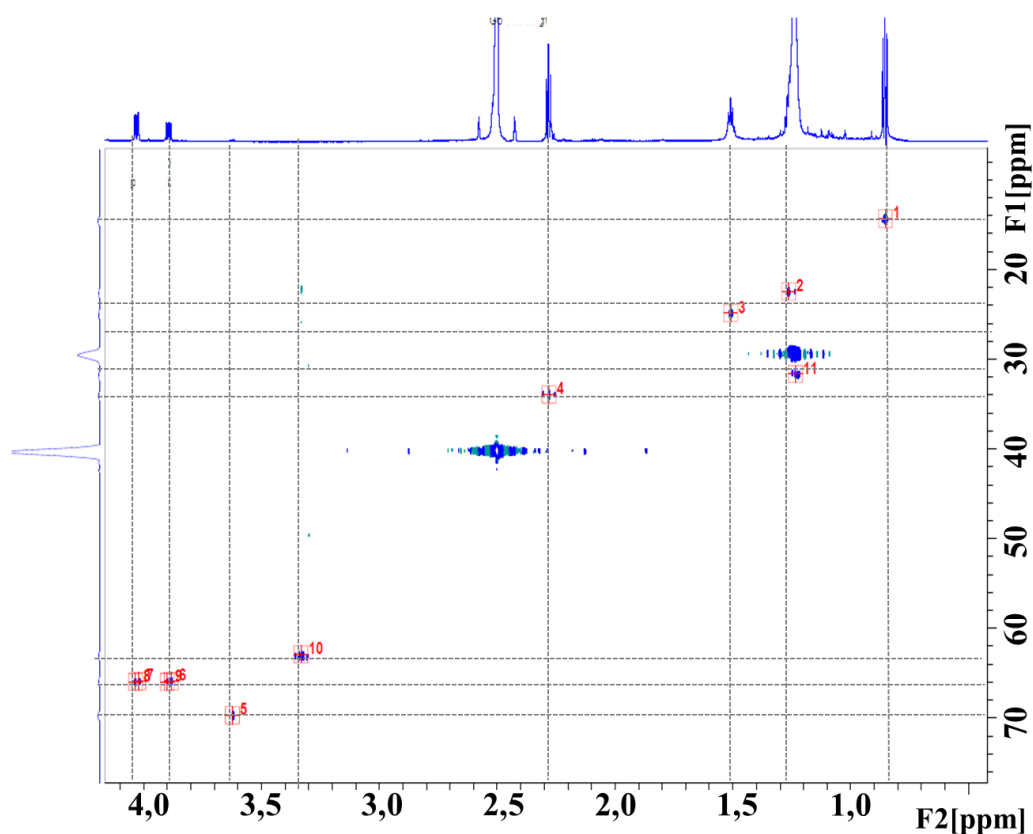


Figura 33. Espectro RMN HSQC- pure shift del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6)

Análisis de HMBC del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6)

El espectro correlación heteronuclear H-C a más de un enlace, HMBC, de la muestra EC2, figura 34, destaca la presencia de una señal de carbono cuaternario con δ_C 173,36 ppm correlacionada con los protones H2 (δ_H 2,28) y H8a,b (δ_H 3,9 y 4,0). Los C2 y C5 se correlacionan con el proton H6 (δ_C 22 y 33 $\rightarrow$ δ_H 0,85); el C5 con H4 (δ_C 22 $\rightarrow$ δ_H 1,24); los C1 y C4 con H2 (δ_C 173 y 24 $\rightarrow$ δ_H 2,28); los C7 y C9 se correlacionan C7-H9 (δ_C 62 $\rightarrow$ δ_H 3,62), C9- H7 (δ_C 69 $\rightarrow$ δ_H 3,34) y ambos están relacionados con H8a,b (δ_C 62 y 69 $\rightarrow$ δ_H 3,90 y 4,03), H10 (δ_C 62 y 69 $\rightarrow$ δ_H 4,64) y H11 (δ_C 62 y 69 $\rightarrow$ δ_H 4,87); el C8 con H7 (δ_C 66 $\rightarrow$ δ_H 3,34) y H11 (δ_C 66 $\rightarrow$ δ_H 4,87).

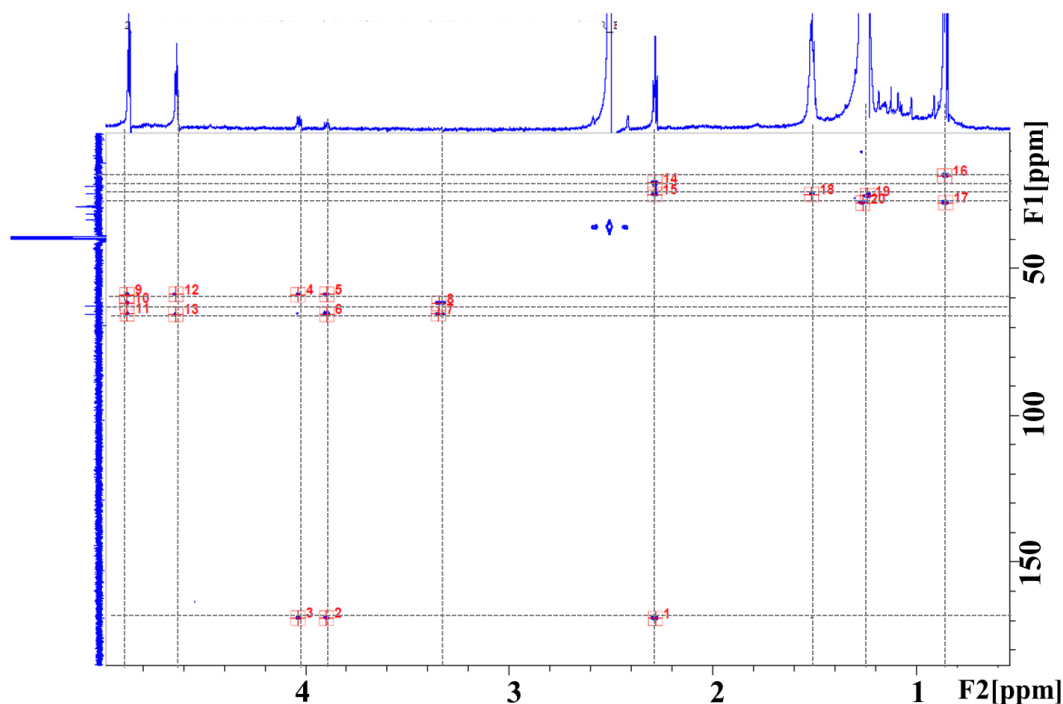


Figura 34. Espectro RMN HMBC del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6)

Análisis de H2BC del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6)

El experimento H2BC (Correlación Heteronuclear a dos enlaces) correlaciona los carbonos de grupos -CH y los protones que están a dos enlaces de distancia mediante el uso de acoplamientos de carbono-protón y protón-protón a un enlace. El H2BC es esencialmente un experimento HSQC-COSY o un HSQC-TOCSY con un tiempo de mezcla muy corto. Para interpretar el espectro H2BC, se debe comenzar con los picos HSQC de correlación directa. Sin embargo, en el H2BC no se observan los carbonos cuaternarios; sólo están presentes los carbonos con protones unidos. El H2BC a veces se considera complementario al experimento HMBC ya que HMBC usa diferentes tipos de acoplamientos. Es decir, el HMBC usa protones unidos a átomos de carbono a 2 y 3 enlaces, mientras que el H2BC usa el protón de un carbono -CH y el protón correlacionado con éste a dos enlaces de distancia.

De acuerdo al experimento H2BC del sólido EC2, figura 35, se obtiene la correlación a dos enlaces entre los protones con δ_H 3,90; 4,03 y 4,87 ppm con el carbono del CH con δ_C 69 ppm.

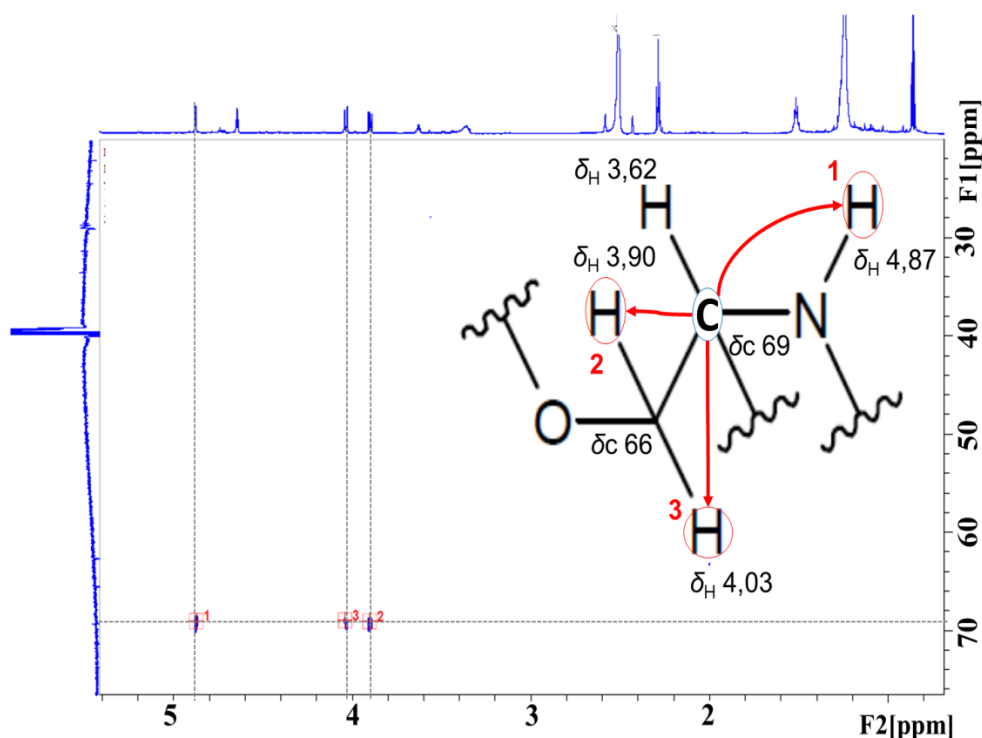


Figura 35. Espectro RMN H2BC del sólido EC2 (900 MHz, DMSO- d_6)

De acuerdo a la naturaleza de sal alcaloidal de la muestra EC2, y la poca cantidad disuelta en el DMSO- d_6 , la presencia de dos sistemas de espín de protones y lo complejo de la estructura química de uno de dichos sistemas, no puede establecerse una estructura química total definida. Sin embargo, de acuerdo a revisiones bibliográficas (ver tabla 19), se pudo confirmar que uno de los sistemas de espín se correspondería con la presencia de una cadena lateral del tipo hexanamida conformada por seis átomos de carbono (C1 – C6), incluyendo el grupo carbonilo (δ_C 173 ppm) y un grupo nitrogenado, enlazada al sistema de espín conformado por los átomos de carbono restantes y otro grupo nitrogenado.

De igual manera, todos los desplazamientos químicos para cada grupo identificado y las correlaciones obtenidas luego de analizar todos los experimentos de RMN uni- y bidimensionales de protones ^1H y carbono ^{13}C realizados a la sal alcaloidal EC2, se muestran en la tabla 20.

Tabla 19. Desplazamientos químicos de RMN de la cadena lateral del sólido EC2 y de la hexanamida. Spectral Database for Organic Compounds (SDBS, 2018) y Automated Topology Builder and Repository – Version 2.2 (ATB, 2018).

	Cadena lateral de EC2		Hexanamida	
	δ_C (ppm) (900 MHz, DMSO- d_6)	δ_H (ppm) (900 MHz, DMSO- d_6)	δ_C (ppm)* (25 MHz, CDCl ₃)	δ_H (ppm)** (400 MHz, DMSO- d_6)
-CONH ₂ (1)	173,00	-	176,97	-
-CH ₂ (2)	33,94	2,28 m	35,97	2,14 m
-CH ₂ (3)	31,30	1,51 t	31,49	1,71 m
-CH ₂ (4)	24,85	1,24 m	25,38	1,21 m
-CH ₂ (5)	22,43	1,25 m	22,45	1,27 m
-CH ₃ (6)	14,32	0,85 m	13,94	0,78 t

*AIST: Spectral Database for Organic Compounds, SDBS (2018).

** Automated Topology Builder (ATB) and Repository – Version 2.2 (2018).

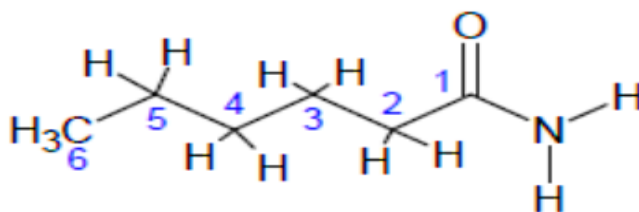


Figura 36. Estructura química de la hexanamida. Spectral Database for Organic Compounds, SDBS (2018).

Tabla 20. Desplazamientos químicos y correlaciones homo- y heteronucleares para el sólido EC2, obtenidos por análisis de RMN (900 MHz, DMSO- d_6)

Posición	δ_C (ppm)	δ_H (ppm) multiplicidad	COSY	TOCSY	HMBC
1	173,00	-	-	-	-
2	33,94	2,28 m	H-3	H-5	H ₂ → C ₄ , C ₁
3	31,30	1,51 t	H-2	H-5	H ₃ → C ₄
4	24,85	1,24 m	-	H-6, H-3, H-2	H ₄ → C ₅
5	22,43	1,25 m	-	H-6, H-3, H-2	H ₅ → C ₆ , C ₂
6	14,32	0,85 m	-	H-5	H ₆ → C ₅ , C ₂
7	62,90	3,34 m	-	H-9, H8a, H8b, H10, H11	H ₇ → C ₈ , C ₉
8a	65,90	3,90 d	H8b, H9	H10, H11	H _{8a} → C ₁ , C ₇ , C ₉
8b		4,03 d	H8a, H9	H10, H11	H _{8b} → C ₁ , C ₇ , C ₉
9	69,70	3,62 c	H8a, H8b	H-7, H10, H11	H ₉ → C ₇
10	-	4,64 dt	-	H-7, H8a, H8b, H9, H11	H ₁₀ → C ₇ , C ₉
11	-	4,87 d	-	H8a, H8b, H9, H10	H ₁₀ → C ₇ , C ₈ , C ₉

Espectrometría de masas mediante electronebulización (ESI-MS) del sólido EC2

El espectro de masas por electronebulización del sólido EC2, figura 35, muestra un ion molecular con mayor abundancia relativa de relación masa/carga $[M-1]^+$ de 113 uma. Sin embargo, de acuerdo a los análisis de RMN analizados, la estructura de la muestra EC2 tiene mayor correlación con el ion molecular de 262,76 uma que se correspondería con la formación de una estructura química entre los dos sistemas de espín observados en los espectros de ^1H y ^{13}C mono y bidimensionales.

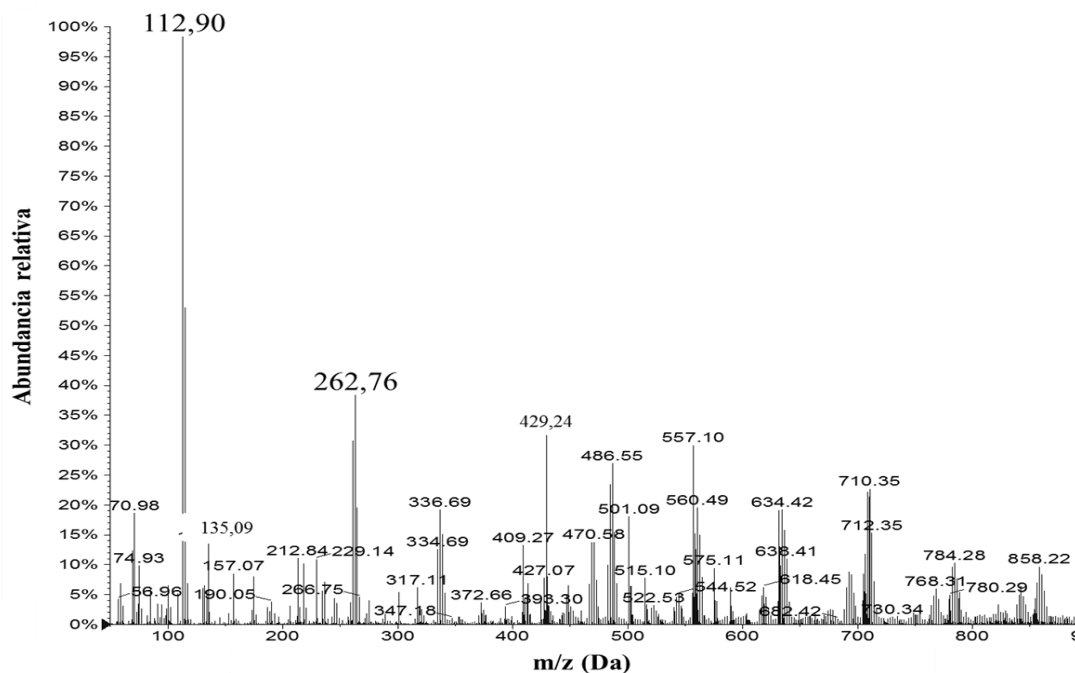


Figura 37. Espectro de masas ESI-MS del sólido EC2

CONCLUSIONES

- Fueron seleccionadas cuatro especies vegetales; *Guazuma ulmifolia* (guásimo), *Terminalia catappa* (almendrón), *Erythroxylum cumanense* y *Genipa americana* (caruto); empleadas por los habitantes de los estados Sucre y Anzoátegui, de acuerdo al uso etnobotánico dado por la población.
- Fueron obtenidos los extractos de los órganos de las especies vegetales antes mencionadas; previamente reportadas con efectos biológicos.
- Se evaluó la actividad antibiótica y antimicótica de los extractos de las plantas recolectadas, de lo cual pudo concluirse que:
 - El extracto metanólico de las hojas de guásimo, EMHG, inhibió el crecimiento de la bacteria *Micrococcus luteus* y el hongo fitopatógeno *Trichoderma viride*; mientras que el extracto metanólico del fruto (EMFG) solo inhibió el crecimiento de *M. luteus* y las fracciones en hexano (FHCG) y etanol (FECG) derivadas del extracto metanólico de la corteza impidieron el crecimiento del hongo *T. viride*. No obstante, la fracción FHCG solo actúa contra *M. luteus*.
 - El extracto metanólico de corteza de caruto, EMC, el cual posee una escasa presencia de familias de metabolitos secundarios como polifenoles, taninos, saponinas y esteroides, ejerció un leve efecto antibacteriano sobre *M. luteus* y antifúngico contra la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
 - El extracto metanólico de hojas de almendrón, EMHA, ejerció actividad antibacteriana sobre *E. coli*, *B. cereus* y *M. luteus*, y actividad antifúngica sobre *T. viride* y *Rhizopus orizae*, atribuible a su composición fitoquímica de relativa abundancia de posibles flavonoides y escasa presencia de polifenoles, taninos y esteroides. Sin embargo, la fracción hexánica, FHHA, cuya concentración de polifenoles, taninos, esteroides, triterpenos y flavonoides es escasa, fue activa contra las bacterias Gram positivas *B. cereus* y *M. luteus* y contra la levadura *S. cerevisiae*. Pero la fracción

clorofórmica, FCHA, que contiene escasamente polifenoles, taninos y flavonoides, sólo inhibió el crecimiento de *M. luteus*.

- Se determinó el contenido de triglicéridos y colesterol total en el suero de ratones control, ratones hiperlipidémicos, así como en ratones tratados con el sólido SGA, mediante reacción con los kits comerciales respectivamente, estableciéndose que:
 - La dieta suplementada con grasa de pollo permitió un aumento en masa promedio en poco más de 4 g. De igual forma, esta indujo el aumento en los contenidos de triglicéridos y colesterol en los animales de $62,20 \pm 8,07$ mg/dl y $81,37 \pm 7,49$ mg/dl, respectivamente, para el grupo Control C/N hasta valores de $169,42 \pm 3,46$ mg/dl y $115,57 \pm 9,41$ mg/dl para el grupo Control C/H, respectivamente.
 - El tratamiento de los animales con el sólido SGA, reduce los valores de triglicéridos ($113,45 \pm 1,91$ mg/dl), si se compara con los valores de los animales hiperlipidémicos ($169,42 \pm 3,46$ mg/dl) y los valores considerados como normales ($26,7 - 121,5$ mg/dl) para ratones albinos.
 - El aumento en el contenido de colesterol en sangre de los animales hiperlipidémicos de $34,20$ mg/dl, en comparación con los niveles de este componente en sangre de los ratones control; confirmó que la dieta suplementada con grasa de pollo fue efectiva para la inducción de hipercolesterolemia en los animales objeto de estudio.
 - Pudo establecerse una relación de actividad hipolipemiente ejercida tanto por el fármaco comercial Rosuvastatina como por el sólido SGA obtenido del extracto metanólico de la corteza de caruto (a dosis de 25 mg/kg/día) debido a la similitud con los valores obtenidos para los grupos de animales tratados con el fármaco comercial Crestor[®] (a dosis de 8 mg/kg/día).
 - El sólido SGA aunque reduce en cierta medida el nivel de colesterol total en suero, de los ratones albinos alimentados con suplemento graso a dosis de 25 mg extracto/kg ratón x día, no es tan efectivo como el fármaco

Rosuvastatina (dosis de 8,3 /kg mg extracto ratón x día) para reducir el contenido lipídico al rango de valores lipídicos considerados normales.

- El índice aterogénico de los animales Control C/N ($1,32 \pm 0,18$) y los ratones hiperlipidémicos Control C/H ($0,68 \pm 0,05$), determinan que ambos grupos de animales presentan mayor probabilidad de riesgo cardiovascular, al encontrarse fuera del rango de valores considerados como libre de riesgo (0,95 - 1,30).
- Para los ratones Control Antilipidémico, dosificados con Rosuvastatina, valores medios de su índice lipoproteico un poco por debajo de lo normal ($0,93 \pm 0,20$) permiten deducir que a pesar de controlar de manera efectiva la hipercolesterolemia no evita totalmente, el riesgo de padecer accidentes cardiovasculares y/o coronarios.
- El índice aterogénico promedio para el grupo de ratones alimentados con dieta rica en grasas y tratados con dosis del sólido SGA ($0,99 \pm 0,10$) permite destacar la eficiencia del sólido SGA como potencial coadyuvante en la prevención del riesgo coronario ya que mantiene los valores de colesterol total y triglicéridos dentro del rango establecido, sin disminuirlos excesivamente y mantener bajo el índice de riesgo de padecer accidentes cardiovasculares y/o coronarios.
- Los espectros de RMN experimentales y datos bibliográficos previamente reportados, determinaron que el sólido STC, precipitado de hojas de *Terminalia catappa*, se corresponde con la estructura química del poliol manitol.
- Los análisis de RMN experimentales permitieron proponer que el compuesto denominado como sólido SGA, precipitado del extracto metanólico de corteza de *Genipa americana*, se corresponde con la estructura química del 2,3,5-triazabicyclo[2.2.0]hexano.
- Los espectros de RMN experimentales y datos bibliográficos previamente reportados, determinaron que el sólido EC2 es una sal alcaloidal que posee dos sistemas de espín, uno de los cuales es una cadena lateral tipo hexanamida.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, F. 2011. Antimicrobial and anti-inflammatory activities of *Piper porphyrophyllum* (Fam. Piperaceae). *Arabian Journal of Chemistry* doi:10.1016/j.arabjc.2010.12.032
- Akharaiyi FC, Ilori RM, Adesida JA. 2011. Antibacterial effect of *Terminalia catappa* on some selected pathogenic bacteria. *Int J Pharm Biomed Res.* 2: 64–67.
- Alam, T.M.; Alam, M.K. 2004. Chemometric analysis of NMR spectroscopy data: a review. *Ann. Rep. NMR Spectrosc.* 54, 41-80.
- Alonso A. y Salazar L. 2008. The anti-diabetic properties of *Guazuma ulmifolia* Lam are mediated by the stimulation of glucose uptake in normal and diabetic adipocytes without inducing adipogenesis. *Journal of Ethnopharmacology* 118: 252–256.
- Alvez A. 2008. Caracterização físico-química e avaliação do potencial antioxidante dos frutos da *Terminalia catappa* Linn. Trabajo de Maestría. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB. Programa De Pós-Graduação Em Engenharia De Alimentos. Itapetinga – Bahia, Brasil.
- Anand A, Divya N and Kotti P. 2015. An updated review of *Terminalia catappa*. *Pharmacogn Rev.* 9(18): 93–98.
- Ansell SM, Pegel KH, Taylor DA. 1993. Diterpenes from the timber of 20 *Erythroxylum* species. *Phytochemistry* 32(4): 953-959.
- Arbogast BW, Dreher NJ. 1987. Coronary disease prediction using a new atherogenic index. *Atherosclerosis* 66: 55-62.
- Argumedo R., Alarcón A., Ferrera R. y Peña J. J. 2009. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25 (4): 257-269.
- Barajas L, Herreño N, Mejía A, Borrego M y Pombo L. 2014. Guásimo *Guazuma ulmifolia* (Monografía). Departamento de Ciencias Básicas. Fundación Universitaria Juan N. Corpas. Escuela de Medicina. Bogotá, Colombia.
- Barbosa CC, Silva FD, Santos AM, Vaz MRF, Nóbrega FFF. 2014. Aspectos gerais e propriedades farmacológicas do gênero *Erythroxylum*. *Revista Saúde E Ciência* 3(3): 207-216.
- Barbosa D. 2008. Avaliação Fitoquímica e Farmacológica de *Genipa americana* L. (Rubiaceae). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro- Brasil., TESE. pp. 138.

Barreiros ML, David JM, de Queiroz LP, David JP. 2005. Flavonoids and triterpenes from leaves of *Erythroxylum nummularia*. *Biochem Syst Ecol.*33(5):537-540.

Bax, A. 1985. A spatially selective composite 90° radiofrequency pulse. *Journal of Magnetic Resonance* 65(1): 142-145.

Bax, A. and D.G. Davis. 1985. MLEV-17-based two-dimensional homonuclear magnetization transfer spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance* 65(2): 355-360.

Berry C, Tardif JC, Bourassa MG. 2007. Coronary heart disease in patients with diabetes: Part I: Recent advances in prevention and noninvasive management. *J Am Coll Cardiol.* 49:631–642.

Betancourt E., González Y., Escobar R., Bermúdez D., Blanco F., Martínez C. 2015. Evaluación del potencial hipolipemiante de *Cymbopogon citratus* S. en un modelo de hiperlipidemia aguda. *Medicent Electrón* 19 (1): 1-12.

Biological Magnetic Resonance Data Bank. 2016. bmse000099 D-Mannitol. Disponible en [http://www.bmrb.wisc.edu/metabolomics/mol_summary/show_data.php?] [consultado el 01/02/2017 a la 01:24 p.m]

Biotrade. 2011. Market brief in the European Union for selected natural ingredients derived from native species *Genipa americana* Jagua, Huito. <http://www.biotrade.org/ResourcesPublications/biotradebriefgenipaamericana.pdf>. 2011/11/05

Bonefeld M, Friedrich H, Kolodziej H. 1986. (+)-catechin 3-rhamnoside from *Erythroxylum novogranatense*. *Phytochemistry* 25(5): 1205-1207

Brachet A, Munõz O, Gupta M, Veuthey JL, Christen P. 1997. Alkaloids of *Erythroxylum lucidum* stem-bark. *Phytochemistry* 46(8): 1439-1442.

Brigmann G, Guenther C, Muehlbacher J, Gunathilake MDLP, Wickramasinghe A. 2000. Tropane alkaloids from *Erythroxylum zeylanicum* O. E. Schulz (Erythroxylaceae). *Phytochemistry* 53: 409-416.

Bussmann R.W., García G. M., Glenna A., Sharona D., Chait G., Díaz D., Pourmand K., Jonat B., Somogy S., Guardado G., Aguirre C., Chanf R., Meyera K., Kuhlmana A., Townesmith A., Effio-Carbajal J., Frías-Fernandez F., Benito M. 2010. Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *Journal of Ethnopharmacology.* 132: 101–108.

Butler, M S. 2005. Natural products to drugs: natural product derived compounds in clinical trials. *Natural Product Reports.*; 22: 162-195.

Cáceres A. 1996. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. 1era. edición. Guatemala:

Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos de Guatemala, pp 402.

Calixto J., de Moraes S., Vega C., Coronel C., Rolon M., Boligon A., Athayde M., de Moraes C., Tintino S., Melo H. 2016. Phenolic composition and antiparasitic activity of plants from the Brazilian Northeast “Cerrado”. *Saudi Journal of Biological Sciences* 23, 434–440

Campos FR, Januário AH, Rosas LV, Nascimento SK, Pereira PS, França SC, et al. 2005. Trypanocidal activity of extracts and fractions of *Bertholletia excelsa*. *Fitoterapia* 76(1): 26-29.

Campos P., Batista S., Munhoz N., de Oliveira T., Santana T., Dias C., Faustino F., Bittencourt M. and Oliveira A. 2017. *In vitro* cytotoxicity and biological activities of *Genipa americana* (Rubiaceae) ethanolic extracts. *Afr. J. Microbiol. Res.* 11(9): 385-390.

Castro DLL. 2009. Aspectos toxicológicos das plantas medicinais utilizadas no Brasil: um enfoque qualitativo no Distrito Federal. [Dissertação] Brasília: Universidade de Brasília.

Chandratre R. S., Chandarana S, Mengi S. A. 2012. Effect of Aqueous Extract of *Cyperus rotundus* on Hyperlipidaemia in Rat Model. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*; 3(3): 598-600.

Chaves CG, Schapoval EES, Zuanazzi JÁ, Diehl E, Siqueira NCS, Henriques AT. 1988. *Erythroxylum argentinum*: assays for anti-inflammatory activity. *Journal of Ethnopharmacology* 22: 117-120.

Chavez D, Cui B, Chai HB, Garcia R, Meija M, Farnsworth NR, Cordell GA, Pezzuto JM, Kinghorn AD. 2002. Reversal of multidrug resistance by tropane alkaloids from the stems of *Erythroxylum rotundifolium*. *International Journal of molecular sciences* 65: 606– 610.

Chávez JP, Santos ID, Cruz FG, David JM. 1996. Flavonoids and triterpenes ester derivatives from *Erythroxylum leal costae*. *Phytochemistry* 41(3): 941-943.

Cicero, D.O., G. Barbato, and R. Bazzo. 2001. Sensitivity Enhancement of a Two-Dimensional Experiment for the Measurement of Heteronuclear Long-Range Coupling Constants, by a New Scheme of Coherence Selection by Gradients. *Journal of Magnetic Resonance*, 148(1): 209-213.

Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad (Conabio). 2014. *Guazuma ulmifolia* Lam. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/66-sterc1m.pdf. (15 de enero de 2014).

Cona T., Erna. 2003. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test

de difusión en agar. *Rev. Chil. Infect.*, 19 (Supl. 2): S 77-81.

Conceição A.O., Rosi M.H., Oliveira F.F., Takser L., Lafond J. 2011. *Genipa Americana* (Rubiaceae) fruit extract affects mitogen activated protein kinase cell pathway in human trophoblast-derived BeWo cells: implication for placental development. *J. Med. Food* 14: 483–494.

Corrêa P.M. 1984. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. IBDF, Rio de Janeiro.

Cowan MM. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev.* Oct;12 (4):564-82.

Cristobal, C. L. 1989. Comentarios acerca de *Guazuma ulmifolia* (STERCULIACEAE) *BONPLANDIA* 6(3): 183-196.

Daly D. Erythroxylaceae. 2004. En: N. Smith; S.A. Mori, A. Henderson et al. (eds.). Flowering Plants of Neotropics. USA, The New York Botanical Garden. *Princeton University Press*. 143-145.

Dando I., Fiorini C., Pozza E.D., Padroni C., Costanzo C., Palmieri M., Donadelli M. 2013. UCP2 inhibition triggers ROS-dependent nuclear translocation of GAPDH and autophagic cell death in pancreatic adenocarcinoma cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1833: 672–679.

De Carvalho I. 2016. Estudo químico de *Erythroxylum suberosum*, biomonitorado por inibição da hialuronidase. Trabajo de Doctorado. Facultad De Ciencias De la Salud, Programa De Postgrado En Ciencias De la Salud. Universidad De Brasília. Brasília, Brasil.

De Souza E, Stamford T, Lima E, Trajano V and Filho J. 2005. Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Braz Arch Biol Technol.*; 48(4): 549-558.

Deng Y., Guan M., Xie X., Yang X., Xiang H., Li H., Zou L., Wei J., Wang D., Deng X. 2013. Geniposide inhibits airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of asthma. *Int. Immunopharmacol.* 17: 561–567.

Despres JP, Lemieux I, Dagenais GR, Cantin B, Lamarche B. 2000. HDL-cholesterol as a marker of coronary heart disease risk: the Quebec cardiovascular study. *Atherosclerosis* 153:263-272.

Dobiasova M. 2004. Atherogenic index of plasma [log(triglycerides/HDLcholesterol)]: theoretical and practical implications. *Clin Chem.* 50:1113-1115.

Fan Y. M., Xu L. Z., Gao J., Wang Y., Tang X. H., Zhao X. N. y Zhang Z. X. 2004.

Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. *Fitoterapia* 75 253–260.

Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M. 1990. Electrospray Ionization-Principles and Practice. *Mass Spectrometry Reviews* 9 (1): pp. 37-70.

Francis J. K. 1993. *Genipa americana* L. Jagua, genipa., Department of Agriculture Forest Service, Southern Forest Experiment Station., SOÍTF- SM-58., New Orleans-USA. pp. 231-235.

Franco M, Barbosa H, Morales A. 2009. Elaboración y Control de Calidad del Gel Antimicótico de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico (*Aristiguetia glutinosa*) y Marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco. [Tesis de Grado previa obtención del título de Bioquímico Farmacéutico]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias; Riobamba-Ecuador.

Fu Y., Liu B., Liu J., Liu Z., Li D., Li F., Cao Y., Zhang X., Zhang N., Yang Z. 2012. Geniposide, from *Gardenia jasminoides* Ellis, inhibits the inflammatory response in the primary mouse macrophages and mouse models. *Int . Immunopharmacol.* 14: 792–798.

Gamboe R. W., Chavez P., Bake W. P. 2008. Antimicrobial Activity of Natural Plant Extracts against Five Bacterial Species. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science.* 40(2):165-167.

Gao C., Liu Y., Jiang Y., Ding J., Li L. 2014. Geniposide ameliorates learning memory deficits, reduces Tau phosphorylation and decreases apoptosis via GSK3 β pathway in streptozotocin induced Alzheimer rat model. *Brain Pathol.* 24: 261–269.

Garibello R., C. F. 2010. Estudio de hojas de *Pentacalia vaccinioides* (Kunth) Cuatro como nueva fuente natural de sustancias esteroideas y cumarinas. Trabajo de Maestría. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad De Ciencias. Colombia.

González Y., Castillo O., Santiesteban D., Mena Y., Blanco F. 2015. Evaluación del efecto hipolipemiante de *Talinum triangulare* (falsa espinaca) y *Abelmoschus esculentus* (quimbombó). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 20 (3): 290-300.

Goun E., Cunningham G., Chu D., Nguyen C., Miles D. 2003. Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants, *Fitoterapia.* 74 592-596.

Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I. y Lorito M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 43-56.

Hernández M, García L, Rojo D y Olivares D. 2003. Almendro de La India: Potencial biológico valioso. *Rev Cubana Invest Biomed:* 22 (1):41-47.

Irurita M, López L, Juncal J, Martínez de Saavedra M, Déniza C, López J, Chirino J y

Sánchez F. 2007. Utilidad del índice aterogénico en la predicción de enfermedad coronaria prematura. *Clin Invest Arterioscl.*19(3):136-142.

Jackson A.M., Whipps J.M. y Lynch J.M. 1991. Effects of temperature, pH and water potential on growth of four fungi with disease biocontrol potential. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 7: 494-501.

Jing G., Huan D., Xin-Hui T., Li-Zhi X., Yi-Mei F., Xiao-Ning Z. 2004. Inhibitory effect of TCCE on CCL4-induced overexpression of IL-6 in *Acute liver injury*, *ACTA.* 36 767-772.

Johnson EL, Schimidt WF, Emche SD, Mossoba MM, Musser SM. 2003. Kaempferol (rhamnosy) glucoside, a new flavonol from *Erythroxylum coca* var. ipadu. *Biochemical Systematics and Ecology* 31: 59-67.

Kessler, H., *et al.* 1986. Transformation of homonuclear two-dimensional NMR techniques into one-dimensional techniques using Gaussian pulses. *Journal of Magnetic Resonance* 70(1): 106-133.

Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, Sapp SK, Ohman EM, Brener SJ, *et al.* 2003. Prevalence of conventional risk factors in patients with CHD. *JAMA*; 290;7:898-904.

Kilani S, Ben Sghaier M, Limem I, Bouhlef I, Boubaker J, Bhourri W, Skandrani I, Neffatti A, Ben Ammar R, Dijoux-Franca M G, Ghedira K and Chekir-Ghedira L. 2008. In vitro evaluation of antibacterial, antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of the tubers infusion and extracts of *Cyperus rotundus*, *Bioresour Technol*, 99(18), 9004-9008.

Kim E.S., Jeong C.S., Moon A. 2012. Genipin, a constituent of *Gardenia jasminoides* Ellis, induces apoptosis and inhibits invasion in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Oncol. Rep.* 27: 567–572.

Kinoshita S., Inoue Y., Nakama S., Ichiba T., Aniya Y. 2007. Antioxidant and hepatoprotective actions of medicinal herb, *Terminalia catappa* L. from Okinawa Island and its tannin corilagin, *Phytomedicine* 14 755-762.

Kloucek P., Polesny Z., Svobodova B., Vikova E., Kokoska L. 2005. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District, *J Ethnopharmacol* 99 309-312.

Koriyama Y., Takagi Y., Chiba K., Yamazaki M., Sugitani K., Arai K., Suzuki H., Kato S. 2013. Requirement of retinoic acid receptor b for genipin derivative-induced optic nerve regeneration in adult rat retina. *PLoS ONE* 8: e71252.

Kotti PP, Anand AV. 2014. Phytochemical analysis and in vitro antioxidant activity of *Terminalia catappa*. *World J Pharm Sci.* 2:1495–1498.

- Kubinyi, H. 1995. Strategies and recent technologies in drug discovery. *Pharmazie* 50: 647-662.
- Ladokun O. A. y Ojezele M. O. 2011. Comparative Study on the Antibacterial Activity of Fresh and Fallen Leaves of *Terminalia Catappa* L. *Journal of Agricultural Science and Technology A* 1 217-220.
- Lárez C, Rivas A, Santos I. 2014. Obtención de Genipina a partir de frutos de caruto (*Genipa americana* L.) del llano venezolano. *Avances en Química*, 9(2), 75-86. [www.saber.ula.ve/avancesenquimica]
- León A., Blanco D., Peña A., Ronda M., Gonzales B., Arteaga M., Bada A., Gonzales Y. y Mancebo A. 2011. Hematological and biochemical parameters in sprange dawiey laboratory rats breedin cenpalab. *Redvet*, 10: 5-7.
- Li C.C., Hsiang C.Y., Lo H.Y., Pai F.T., Wu S.L., Ho T.Y. 2012. Genipin inhibits lipopolysaccharide- induced acute systemic inflammation in mice as evidenced by nuclear factor-kB biolum in escentim aging guided transcriptomic analysis. *Food Chem . Toxicol.* 50: 2978–2986.
- Lin Y.J., Lai C.C., Lai C.H., Sue S.C., Lin C.W., Hung C.H., Lin T.H., Hsu W.Y., Huang S.M., Hung Y.L., et al. 2013. Inhibition of enterovirus 71 infections and viral IRES activity by Fructus gardenia and geniposide. *Eur . J. Med. Chem.* 62: 206–213.
- Liu, M., et al. 1998. Improved WATERGATE Pulse Sequences for Solvent Suppression in NMR Spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance*, 132(1): 125-129.
- Luna L. y González A. 2017. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Cuauhte) en dos etapas fenológicas. *Lacandonia*, [S.l.], 1 (1), p. 37-44.
- Magos AG, Mateos JC, Páez E, Fernández G, Lobato C, Márquez C, Enríquez RG. 2008. Hypotensive and vasorelaxant effects of the procyanidin fraction from *Guazuma ulmifolia* bark in normotensive and hypertensive rats. *J. Ethnopharmacol.* 117(1): 58-68.
- Maia AKHL, Queiroz RB, Fonsêca DV, Pinho AS, Santos SG, Alencar J. L, Tavares JF, Almeida RN, Morais CSL. 2014. Antinociceptive activity of the extract of *Erythroxylum caatingae*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 13(2): 152-162.
- Manabe H, Sakagami H, Ishizone H, Kusano H, Fujimaki M, Wada C, Yamamoto N. 1991. Effects of catuaba extracts on microbial and HIV infection. *In vivo* (Athens, Greece) 6(2): 161-165.
- Mandloi S, Mishra R, Varma R, Varughese B, Tripathi J. 2013. A study on phytochemical and antifungal activity of leaf extracts of *Terminalia cattapa*. *Int J Pharm*

Bio Sci. 4: 1385–1393.

Mandloi S, Mishra R, Varma R, Varughese B, Tripathi J. 2013. A study on phytochemical and antifungal activity of leaf extracts of *Terminalia cattapa*. *Int J Pharm Bio Sci.* 4:1385–1393.

Marcano, D.; Hasegawa, M. 2002. Fitoquímica Orgánica. Universidad Central de Venezuela, Caracas. 588 pp.

Martis LAV. 2014. Avaliação do potencial anticâncer de espécies vegetais de Mato Grosso do Sul. [Dissertação]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Masuda T., Yonemori Y., Oyama Y., Takeda T., Tanaka T. 1999. Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants, *J Agric Food Chem.* 47 1749-1754.

Muhammad A y Mudi S Y. 2011. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activities of *Terminalia catappa*, Leaf Extracts. *Biokemistri Volume* 23, No. 1.

Muñoz, D. 2008 Estudio Fitoquímico y Evaluación de la Actividad fungicida e insecticida de la especie *Piper eriopodon* (Piperaceae). Trabajo de Maestria. Universidad Nacional de Colombia.

Nagarajan, N. 2005. Antidiabetic and antihyperlipemic effects of *Cleomea felina*. *Fitoterapia*, 76: 310-315.

Nagayama, K., *et al.* 1980. Experimental techniques of two-dimensional correlated spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance* 40(2): 321-334.

Nair R, Chanda S. 2008. Antimicrobial activity of *Terminalia catappa*, *Manilkara zapota* and *Piper betel* leaf extract. *Indian J Pharm Sci.* 70:390–393.

Nam J.W., Kim S.Y., Yoon T., Lee Y.J., Kil Y.S., Lee Y.S., Seo E.K. 2013. Heat shock factor 1 inducers from the bark of *Eucommia ulmoides* as cytoprotective agents. *Chem. Biodivers.* 10: 1322–1327.

Newman D. J., Cragg G. M. 2016. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.* 79: 629–661.

Newman DJ, Cragg GM. 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod.*; 70: 461-77.

Ono M., Ishimatsu N., Masuoka C., Yoshimitsu H., Tsuchihashi R., Okawa M., Kinjo J., Iikeda T., Nohara T., 2007. Three new monoterpenoids from the fruit of *Genipa americana*. *Chem. Pharm. Bull.* 55: 632–634.

- Patt, S.L. and J.N. Shoolery, 1982. Attached proton test for carbon-13 NMR. *Journal of Magnetic Resonance* 46(3): 535-539.
- Paudel, L., *et al.* 2013. Simultaneously Enhancing Spectral Resolution and Sensitivity in Heteronuclear Correlation NMR Spectroscopy. *Angewandte Chemie*, 125(44): 11830-11833.
- Pawar SP, Pal SC. 2002. Antimicrobial activity of extracts of *Terminalia catappa* root. *Indian J Med Sci.* 56: 276–278.
- Pelczer, I. 2003. Structural biology, ligand binding, metabomics, the changing face of high-field, high-resolution NMR spectroscopy”, *J Mol Struct (Theochem)*, 666–667, 499-505.
- Pizzani P., Matute I., De Martino G., Arias A., Godoy S., Pereira L., Palma J., Rengifo M. 2006. Composición Fitoquímica y Nutricional de Algunos Frutos de Árboles de Interés Forrajero de Los Llanos Centrales de Venezuela. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UCV*, vol. 47, núm. 2, julio-diciembre.
- Plowman TC. 2001. Erythroxylaceae Kunth. En: W.D. Stevens; C. Ulloa; A. Pool & O.M. Montiel (eds.). *Flora de Nicaragua. Monographs Systematic Botany Missouri Botanical Garden*.
- Puratchikody A., Nithya C. & Nagalakshmi G. 2006. Wound healing activity of *Cyperus rotundus* Linn. *Indian journal of pharmaceutical sciences*; 68: 97-101.
- Rahman AU, Khatkhat KF, Nighat F, Shabbir M, Hemalal KD, Tillekeratne LM. 1998. Dimeric tropane alkaloids from *Erythroxylum moonii*. *Phytochemistry* 48(2): 377-383.
- Rajesh B.R, Potty V.P and Sreelekshmy S.G. 2016. Study of Total phenol, Flavonoids, Tannin contents and phytochemical screening of various crude extracts of *Terminalia catappa* leaf, stem bark and fruit. *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture (IJAPSA)* 2(6): 291-296
- Ramírez H., Virgen G., Vargas J., Salcedo E. y Barrientos L. 2015. Actividad antimicrobiana in vitro de extractos de hoja de *Guazuma ulmifolia* Lam. contra fitopatógenos. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 6 (27): 114-124.
- Ramírez M. y Hernández B. 2015. Plant-derived natural products from the american continent for the control of phytopathogenic fungi: a review. *J. Glob. Innov. Agric. Soc. Sci.*, 3(4): 96-118.
- Rattanachaikunsopon P y Phumkhachorn P. 2010. Contents and antibacterial activity of flavonoides extracted from leaves of *Psidium guajav.* *J Med Plant Res*; 4 (5): 393-396.
- Ravaschino E. 2007. Diseño racional de drogas: en busca de la droga ideal. *Revista*

Química Viva- Número 3, año 6. Buenos Aires.

Revilla, J., 2001. Plan tas da Amazônia. Programa de desenvolvimento empresarial e tecnologia, Manaus.

Rodeiro I, Donato MT, Lahoz A, González-Lavaunt JÁ, Laguna A, Castell JV, Delgado R, Gómez-Lechón MJ. 2008. Modulation of P450 enzymes by Cuban natural products rich in polyphenolic compounds in rat hepatocytes. *Chemico-biological interactions* 172(1): 1-10.

Rodríguez J. 2009. Estudio de diferentes marcadores de glicación en las complicaciones crónicas de la Diabetes Mellitus Tesis doctoral: Universidad Santiago de Compostela.

Ruegg T., Calderón A. I., Queiroz E. F., Solís P. N., Marston A., Rivas F., Ortega-Barría E., Hostettmann K., Gupta M. P. 2006. 3-Farnesyl-2-hydroxybenzoic acid is a new anti-*Helicobacter pylori* compound from *Piper multiplinervium*. *Journal of Ethnopharmacology*. 103:461–467.

Ruiz J. 2013. Actividad Antifúngica In Vitro y Concentración Mínima Inhibitoria mediante Microdilución de ocho plantas medicinales. Trabajo de Maestría. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Unidad de Post-Grado. Lima, Perú.

Santos CC, Lima MAS, Braz Filho R, Silveira ER. 2006. Diterpenes from *Erythroxylum barbatum*. *J Brazil Chem Soc*. 17(7): 1304-1308.

Santos CC, Sousa LMA, Braz-Filho R, Simone CA, Silveira ER. 2005. NMR assignment and Xray diffraction spectra for two unusual kaurene diterpenes from *Erythroxylum barbatum*. *Magnetic Resonance in Chemistry* 43(12): 1012-1015.

Santos HAS, Silva MVR, Oliveira SL, Tavares JF, Ribeiro LAA, Lima JT. 2013. Avaliação da atividade relaxante do extrato etanólico bruto obtido de *Erythroxylum caatingae*, *Erythroxylum subrotundum* e *Erythroxylum revolutum* (*Erythroxylaceae*) em traqueia isolada de cobaia. *Evolvere Scientia* 1(1): 119-133.

Sharapin N. y Pinzón R. 2000. Fundamentos de tecnología der productos fitoterapéuticos. CAB – CYTED.

Silva GL, Cui B, Chávez D, You M, Chai HB, Rasoanaivo P, Lynn S M, O'Neill MJ, Lewis JÁ, Besterman JM, Monks A, Farnsworth NR, Cordell GA, Pezzuto JM, Kinghorn AD. 2001. Modulation of the multidrug-resistance phenotype by new tropane alkaloid aromatic ester from *Erythroxylum pervillei*. *Journal of natural product* 64(12): 1514-1520.

Silverstein R. M., Webster F. X. y Kiemle D. J. 2005. Spectrometric Identification of Organic Compounds. John Wiley & Sons, Inc. Seventh edition. Hoboken, USA. 502 pp.

- Song J., Bi H., Xie X., Guo J., Wang X., Liu D. 2013. Natural borneol enhances geniposide ophthalmic absorption in rabbits. *Int . J. Pharm.* 445: 163–170.
- Souza R.K.D., Mendonca, A.C.A.M., Silva, M.A.P. 2013. Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects Rubiaceae species in Brazil. *Rev. Cubana Plant Med.* 18: 140–156.
- Tan G.T., Pezzulo J.M., Kinghom A.D., Hughes S.H. 1991. Evaluation of natural products as inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcriptase, *J Nat Products* 54 143-154.
- Tenesaca S. 2012. Elaboración de cosméticos decorativos a partir de frutos verdes de *Genipa americana* L. Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Facultad De Ciencias, Escuela De Bioquímica Y Farmacia. Riobamba, Ecuador.
- Tian J.S., Cui Y.L., Hu L.M., Gao S., Chi W., Dong T.J., Liu L.P., 2010. Antidepressant-like effect of genipin in mice. *Neurosci. Lett.* 479: 236–239.
- Torrenegra R, Pedrozo J, Tellez A, Cabeza G. 2000. Química y Actividad Antifúngica de *Pentacalia corymbosa* (Asteraceae-Senecioneae). *Revista Latinoamericana de Química.* 28: 31-343.
- Valencia L., Muñoz D. L., Robledo S. M., Echeverri F., Arango G. J., Vélez I. D., Triana O. 2011. Actividad tripanocida y citotóxica de extractos de plantas colombianas. *Biomédica* 31: 552-559.
- Venkatalakshmi P., Vadivel V. and Brindha P. 2016. Phytopharmacological significance of *Terminalia catappa* L.: an update review. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm.* 7(2): 130-137.
- Vijaya Anand A., Divya N. and Punniya Kotti P. 2015. An updated review of *Terminalia catappa*. *Pharmacogn Rev.* 9(18): 93–98.
- Violante IMP. 2008. Avaliação do potencial antimicrobiano e citotóxico de espécies vegetais do Cerrado da Região Centro-Oeste. [Dissertação]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. 2008; 72.
- Wanderley MGL, Shepherd GJ, Giulietti A M. 2002. Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. (Vol. 2.). São Paulo: HUCITEC/FAPESP.
- Wang Q.S., Xiang Y., Cui Y.L., Lin N.K.M., Zhang X.F. 2012. Dietary blue pigments derived from genipin, attenuate inflammation by inhibition of LPS induced iNOS and COX-2 expression via NF- κ B inactivation. *PLoS ONE* 7, e34122.
- Yang X., Yao J., Luo Y., Han Y., Wang Z., Du L. 2013. P38 MAP kinase mediates apoptosis after genipin treatment in non-small-cell lung cancer H1299 cells via a mitochondrial apoptotic cascade. *J. Pharmacol. Sci.* 121: 272–281.

Zanolari B, Guilet D, Marston A, Queiroz EF, Paulo M, Hostettmann K. 2003. Tropane alkaloids from the bark of *Erythroxylum vacciniifolium*. *Journal of natural products* 66(4): 497-502.

Zhai Y.F., Yao J., Fan Y.M., Xu L.Z., Gao J., Zhao X.N. 2001. Inhibitory effects of LR-98 on proliferation of hepatocarcinoma cell, *J. Nanjing Univ. (Natural Sciences)* 37 213-217.

Zhang C., Druzhinina I., Kubick C.P. y Xu T. 2005. *Trichoderma* biodiversity in China: evidence for a north to southern distribution of species in East Asia. *FEMS Microbiol. Lett.* 251: 251-257.

Zhang G., He J.L., Xie X.Y., Yu C. 2012. LPS- induced iNOS expression in N9 microglial cells is suppressed by geniposide via ERK, p38 and nuclear factor -kB signaling pathways. *Int . J. Mol. Med.* 30: 561–568.

Zhang Q., Su Y.Q., Zhang J.F. 2013. Seasonal variation in antioxidant capacity and active compounds contents of *Eucommia ulmoides* Oliver leaf. *Molecules* 18: 1868.

Zuanazzi JAS, Tremea V, Limberger RP, Sobral M, Henriques AT. 2001. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from Southern Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology* 29: 819-825.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ALGUNAS ESPECIES VEGETALES DE USO ETNOBOTÁNICO EN LOS ESTADOS SUCRE Y ANZOÁTEGUI
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
BRUZUAL VILLARROEL, HELLEN YANDRI	CVLAC	18.581.108
	e-mail	tuamorhelena@hotmail.com
	e-mail	tuamorhelena@gmail.com
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Guazuma ulmifolia, *Terminalia catappa* L., *Erythroxylum cumanense* K., *Genipa americana* L., metabolitos secundarios, actividad antilipidémica, actividad antibacteriana, actividad antifúngica.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Química
	Productos Naturales

Resumen (abstract):

Se seleccionaron especies vegetales de uso etnobotánico, reportadas con efectos biológicos por habitantes de los estados Sucre y Anzoátegui, para obtener extractos de sus órganos y evaluar su actividad antibiótica, antimicótica y antilipídica. Los extractos obtenidos a partir de hojas, frutos y corteza de *Guazuma ulmifolia* (guásimo); hojas de *Terminalia catappa* L. (almendrón), hojas de *Erythroxylum cumanense* K. y corteza de *Genipa americana* L. (caruto); fueron purificados en la medida de lo posible por medio de técnicas de extracción líquido-líquido y cromatografía de columna hasta obtener algunos compuestos presentes en los extractos con mayor bioactividad y se caracterizó químicamente los componentes aislados, mediante espectroscopia de resonancia magnética nuclear mono y bidimensional (RMN-¹H y RMN-¹³C), además de espectrometría de masas mediante ionización por electronebulización (EM/ESI). Luego de evaluarse la actividad antibiótica y antimicótica de los extractos se determinó que los extractos de guásimo EMHG, EMFG y FHCG inhibieron el crecimiento de la bacteria *Micrococcus luteus* mientras que EMHG, FECG y FHCG ejercieron acción contra el hongo fitopatógeno *Trichoderma viride*. El extracto metanólico de corteza de caruto, EMC, ejerció un leve efecto antibacteriano sobre *M. luteus* y antifúngico contra la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. El extracto metanólico de hojas de almendrón, EMHA, ejerció actividad antibacteriana sobre *E. coli*, *B. cereus* y *M. luteus*, y actividad antifúngica sobre *T. viride* y *R. orizae*. Se cuantificó el contenido de triglicéridos y colesterol total en suero de ratones albinos hiperlipidémicos tratados con el sólido SGA aislado de la corteza de caruto, así como con rosuvastatina como control hipolipidémico, mediante reacción con los reactivos Stanbio Triglicéridos Liquicolor® (triglicéridos) y el reactivo Helfa® (colesterol). Estos experimentos permitieron establecer que la dieta suplementada con grasa de pollo induce aumento en el contenido lipídico en los ratones, así como el tratamiento de estos animales con el sólido SGA reduce los niveles de triglicéridos y colesterol total, comparado con los valores de los animales hiperlipidémicos y los valores establecidos como normales para ratones albinos. Al determinar el índice aterogénico se destaca la eficacia del sólido SGA como posible coadyuvante en la prevención del riesgo coronario. Mediante análisis espectroscópicos de RMN de los sólidos STC, SGA y EC2, y datos bibliográficos reportados, se determinó que la estructura molecular para el sólido STC obtenido de las hojas de almendrón se corresponde con la estructura química del poliol manitol; mientras que para el sólido SGA, precipitado del extracto metanólico de la corteza de *Genipa americana*, se corresponde con la estructura química del 2,3,5-triazabicyclo[2.2.0]hexano y el sólido EC2 aislado de las hojas de *Erythroxylum cumanense* es una sal alcaloidal que posee dos sistemas de espín, uno de los cuales es una cadena lateral tipo hexanamida.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Henríquez Willian	ROL	CA ☐ AS ☒ TU ☐ JU ☐
	CVLAC	8.249.952
	e-mail	whenriquez66@gmail.com
	e-mail	
Lanza Vilma	ROL	CA ☐ AS ☐ TU ☐ JU ☒
	CVLAC	10.948.805
	e-mail	vlanzacastillo@yahoo.es
	e-mail	
Campos Isabel	ROL	CA ☐ AS ☐ TU ☐ JU ☒
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2018	11	09

Lenguaje: SPA

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
P.G-BRUZUALH.doc	Aplication/word

Alcance:Espacial: NACIONAL .Temporal: TEMPORAL .**Título o Grado asociado con el trabajo:**. Magister Scientiarum en Química .**Nivel Asociado con el Trabajo:**. Magister Scientiarum .**Área de Estudio:**. Química .**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:**. Universidad de Oriente .

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

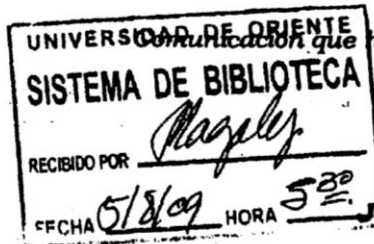
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNVELO
Secretario

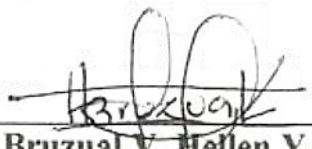


C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/manuja

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.


Bruzual V. Mellen Y.
Autor
Henríquez Willian
Asesor