

# ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO FENÓLICO DE LOS EXTRACTOS PROVENIENTES DE LAS BAYAS DE DOS ESPECIES DEL GÉNERO VISMIA (GUTTIFERAE)

## ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHENOLIC CONTENT OF EXTRACTS FROM BERRIES OF TWO SPECIES OF VISMIA GENUS (GUTTIFERAE)

Edwin ÁLVAREZ R.<sup>1</sup>, Orfa J. JÍMENEZ G.<sup>1</sup>, Cristian M. POSADA A.<sup>1</sup>, Benjamín A. ROJANO.<sup>1</sup>, Jesús H. GIL G.<sup>2</sup>, Carlos M. GARCÍA P.<sup>1</sup>, Diego L. DURANGO R.<sup>1,\*</sup>

Recibido: Enero 24 de 2008 Aceptado: Abril 22 de 2008

### RESUMEN

El material vegetal resultante del secado y molienda de las bayas de *Vismia baccifera ssp. ferruginea* y *V. guianensis* colectado en el Parque Regional Arví (Antioquia, Col.), se extrajo mediante percolación sucesiva con éter de petróleo, acetato de etilo y metanol. A los extractos se les determinó el rendimiento, contenido de fenoles totales y la capacidad captadora de radicales mediante los métodos de decoloración del DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup>. La mayor actividad captadora de radicales y el más alto contenido de compuestos fenólicos correspondieron al extracto en acetato de etilo, seguido por el de éter de petróleo. Mediante sucesivos fraccionamientos cromatográficos de los extractos activos se aislaron, los antranoides prenilados ferruginina A (1) y  $\gamma$ -hidroxiferruginina (2), y la antraquinona vismiaquinona A (3), cuya elucidación estructural fue llevada a cabo por métodos espectroscópicos y por comparación con los datos reportados en la literatura. Los datos obtenidos en los modelos in vitro establecen claramente el potencial antioxidante de los extractos de *Vismia baccifera ssp. ferruginea* y *V. guianensis*; esta actividad posiblemente está asociada con las características químicas de los metabolitos aislados.

**Palabras clave:** Guttiferae, fenoles totales, antranoides prenilados, vismiaquinona A, actividad antioxidante, radicales libres.

### ABSTRACT

Plant material resulting from dried and pulverized berries of *Vismia baccifera ssp. ferruginea* and *V. guianensis* collected in the Parque Regional Arví (Antioquia, Col.), was extracted by successive percolation with ether of petroleum, ethyl acetate and methanol. Yield, total phenolic content and free radical scavenging activity employing the methods of decoloration of the DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•+</sup> free radicals of these extracts were determined. Ethyl acetate fraction, which was followed by petroleum ether extract, exhibited the highest ABTS and DPPH radical-scavenging activity and total phenolic content. Therefore, ethyl acetate and petroleum ether fractions were subjected to further separation by chromatographic methods. Thus, two prenylated anthranoid (ferruginin A, 1 and  $\gamma$ -hydroxyferruginin A, 2) and one anthraquinone (vismiaquinone A, 3), had been isolated and their structures determined by spectroscopic methods and

1 Grupo de Química de los Productos Naturales y los Alimentos, Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Universidad Nacional de Colombia, Calle 59ª 63-020 Autopista Norte, AA 3840, Medellín, Colombia.

2 Departamento de Ingeniería Agrícola y de Alimentos, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín.

\* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: dldurango@unalmed.edu.co

by comparison with the values reported in literature. The data obtained in the *in vitro* models clearly establish the antioxidant potency of *Vismia baccifera ssp. ferruginea* and *V. guianensis* extracts; this activity may possibly be due to the chemical characteristics of compounds isolated.

**Keywords:** Guttiferae, total phenolics, prenylated anthranoids, vismiaquinone A, antioxidant activity, free radicals.

## INTRODUCCIÓN

Diversas reacciones bioquímicas en nuestro cuerpo generan especies reactivas de oxígeno, las cuales son capaces de dañar biomoléculas cruciales. Si estas especies no son captadas eficientemente por constituyentes celulares, pueden ocasionar enfermedades (1,2). Sin embargo, la acción deletérea de los radicales libres puede ser bloqueada por sustancias antioxidantes, las cuales captan los radicales libres detoxificando el organismo. Algunas investigaciones recientes sobre los radicales libres han confirmado que los alimentos ricos en antioxidantes juegan un papel esencial en la prevención de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y cancerígenas (3,4,5), males como el de Parkinson y Alzheimer (6), así como también inflamaciones y problemas ocasionados por el envejecimiento celular (7). En los últimos años, una de las áreas que más ha atraído la atención es la búsqueda de nuevos antioxidantes naturales para el control de enfermedades neurodegenerativas, en las cuales está implicado el daño oxidativo. En este sentido, los extractos de plantas y diferentes clases de fitoquímicos han demostrado ser una fuente importante de compuestos con marcada actividad antioxidante, permitiendo el crecimiento acelerado de investigaciones en esta área (8 - 13).

Las especies del género *Vismia* son árboles y arbustos de amplia distribución; se encuentran principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de América del Sur y Central, aunque algunas pocas especies también se hallan en África y Asia (14). Estas especies han sido empleadas abundantemente alrededor del mundo en la medicina tradicional para el tratamiento de algunas enfermedades, particularmente el látex producido por diferentes especies, tales como *V. augusta*, *V. confertiflora*, *V. dealbata*, *V. baccifera ssp. ferruginea* y *V. guianensis* entre otras, se han usado para el tratamiento de heridas y ulceraciones infectadas, enfermedades fúngicas de la piel, herpes en los labios, como purgante y febrífugo, entre otras (15,16,17,18).

En este estudio se evaluó la actividad antioxidante de los extractos provenientes de las bayas de las

especies *Vismia guianensis* y *V. baccifera ssp. ferruginea*, mediante el empleo de dos modelos *in vitro* basados en la capacidad captadora del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH•) y del catión radical del ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS•<sup>+</sup>). Adicionalmente se determinó el contenido de fenoles totales y el rendimiento de la extracción con cada uno de los solventes. Debido a que los extractos en acetato de etilo y éter de petróleo presentaron el mayor contenido de fenoles totales y la mejor actividad captadora de radicales, se sometieron a separación mediante métodos cromatográficos que condujeron al aislamiento de tres compuestos mayoritarios, para los cuales se llevó a cabo la elucidación estructural mediante métodos espectroscópicos convencionales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Las bayas frescas de *Vismia baccifera ssp. ferruginea* (VB) y *Vismia guianensis* (VG) se colectaron en el mes de Junio del año 2005 en el Parque Regional Arví (Antioquia, Colombia); un espécimen de comprobación de las plantas (2581 para *V. guianensis* y 2582 para *V. baccifera ssp. ferruginea*) se depositó en el Herbario de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín (MEDEL).

### Métodos y materiales analíticos

Los puntos de fusión se determinaron en un fusiómetro Buchi B-540. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se obtuvieron en un espectrómetro Bruker AMX 300, operando a 300.12 y 75.42 MHz para los núcleos de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C respectivamente, y usando como solvente cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>). Los desplazamientos químicos están expresados en δ (ppm) y las constantes de acoplamiento están reportadas en Hz.. La cromatografía de columna (CC) se llevó a cabo usando sílica gel 60 (0.040-0.063 mm; Merck) y Sephadex LH-20 (Amersham Bioscience, Sweden) y la cromatografía de capa fina (CCF) y preparativa (CCP) en cromatoplasmas de sílica gel 60, F-254

(Merck). El revelado de las cromatoplasmas se llevó a cabo por visualización bajo luz UV (254 nm, 310 nm) y por aspersión con  $\text{FeCl}_3$  al 5% seguido de calentamiento. El contenido de fenoles y la capacidad captadora de radicales libres se realizó en un espectrofotómetro JENWAY 6405.

### Obtención de los extractos

Las bayas frescas (2 Kg) se lavaron con agua (3 x 500 mL) y posteriormente se secaron a 40°C en una estufa durante 24 h. Las bayas secas se trituraron y el material obtenido se extrajo exhaustiva y sucesivamente por percolación (a temperatura ambiente) con éter de petróleo, acetato de etilo y metanol durante 24 h. Después de la filtración, la fase orgánica se evaporó a sequedad a presión reducida en un rotaevaporador a 40°C, obteniéndose los extractos crudos que fueron posteriormente pesados.

### Aislamiento

El extracto en AcOEt (39.0 g) concentrado proveniente de *V. baccifera* ssp. *ferruginea* se fraccionó por CC en sílica gel usando mezclas de polaridad creciente de éter de petróleo-AcOEt para obtener once fracciones (A-K). La fracción C (900 mg), eluida con éter de petróleo-AcOEt (4:1), se sometió posteriormente a CC en sílica gel con éter de petróleo-AcOEt (4:1) obteniéndose diez subfracciones (C1-C10). Las subfracciones C3-C5 se agruparon y se sometieron varias veces a cromatografía de columna mediante exclusión molecular empleando Sephadex LH-20 y como eluyente la mezcla éter de petróleo- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (2:1:1) para obtener el compuesto **1** (80 mg). La fracción F (2.2 g) se refinó empleando Sephadex LH-20 de acuerdo con la metodología anterior, obteniéndose siete subfracciones (F1-F7). Las subfracciones F3 y F4 reunidas se eluyeron a través de CCP ( $\text{CHCl}_3$ , acetona: 4:1) para obtener 29 mg del compuesto **2**.

El extracto etéreo (34 g) proveniente de *V. guianensis* se fraccionó mediante CC en sílica gel usando mezclas de polaridad creciente de éter de petróleo y acetato de etilo, obteniéndose cinco fracciones (F1-F5). La fracción F2 (1.2 g) se analizó mediante cromatografía de exclusión molecular, de donde se obtuvieron cuatro subfracciones (F2A-F2D). La subfracción F2B se recristalizó empleando EtOH de donde se obtuvo el compuesto **3**, como cristales de color rojo (15.0 mg).

### Fenoles totales

Los compuestos antioxidantes generalmente contienen grupos fenólicos. Debido a esto, se comparó el contenido de compuestos fenólicos en cada uno de los extractos para obtener más información acerca de la posible capacidad antioxidante de cada uno de ellos.

La determinación del contenido de fenoles totales se realizó de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu (19). A los tres extractos de cada una de las dos especies vegetales en estudio se aplicó el siguiente procedimiento: a 50  $\mu\text{L}$  de muestra se le adicionó un volumen de 250  $\mu\text{L}$  de reactivo de Folin-Ciocalteu sin diluir. Después de 1 min., se añadieron 750  $\mu\text{L}$  de solución acuosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20% (p/v), y se llevó a un aforo de 5.0 mL con agua. Los controles, por su parte, contenían todos los reactivos con excepción del extracto. Luego de 2 h de incubación a 25°C, se midieron las absorbancias a 760 nm y se compararon con una curva de calibración ( $r^2 = 0.992$ ) usando estándares de ácido gálico (100-600 mg/L). El contenido de fenoles totales se determinó como los equivalentes de ácido gálico (GAE, mg de ácido gálico/g de extracto), y los valores se presentan como la media de los datos del análisis llevado a cabo por triplicado. La ecuación obtenida con la regresión fue:

$Y = 0,0019X - 0,0271$ ; donde: Y = Absorbancia, y X = Concentración de fenoles.

### Actividad inhibidora del radical 1,1-Difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH•)

Se midió y comparó la actividad captadora del radical DPPH• de los diferentes extractos orgánicos provenientes de las dos especies en estudio. Para la medición de la actividad inhibidora del radical libre DPPH se empleó una solución en metanol de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo con una absorbancia de 0.3 a la longitud de onda de máxima absorción. Por su parte las muestras a evaluar se prepararon a diferentes concentraciones (50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 y 0.78  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) por adición de la solución de DPPH previamente preparada. Adicionalmente, la solución de referencia se obtuvo a partir de DMSO disuelto con la solución de DPPH, con el primero a las mismas concentraciones empleadas para las muestras. Igualmente se prepararon soluciones blanco de las muestras disueltas con metanol a las mismas concentraciones consideradas previamente, una solución de referencia

con DMSO y metanol y un control positivo con butilhidroxitolueno (BHT). Todas las soluciones resultantes fueron incubadas en la oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se midieron en el espectrofotómetro las absorbancias para todas las soluciones a 517nm. A partir de las absorbancias obtenidas se determinó el porcentaje de inhibición medio para cada concentración de acuerdo con la siguiente expresión matemática:

$$\%inhibicion - radicalDPPH = \left[ 1 - \frac{(A_m - A_{bm})}{A_r - A_{br}} \right] * 100$$

donde  $A_m$  es la absorbancia de las muestras,  $A_{bm}$  es la absorbancia del blanco de muestra,  $A_r$  es la absorbancia de las soluciones de referencias y  $A_{br}$  la absorbancia del blanco de referencia.

Luego de haber calculado los porcentajes de inhibición para cada una de las concentraciones, estos fueron ajustados a una regresión en el programa estadístico Statgraphics plus®, y con base en esta curva se determinó el índice de inhibición medio ( $IC_{50}$ ) o la concentración en la cual el porcentaje de inhibición es del 50% (20,21). Las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado.

#### Actividad inhibidora del catión radical del ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS<sup>•+</sup>)

Para cada uno de los extractos se prepararon soluciones de diferente concentración en DMSO, a las cuales se adicionó la solución de ABTS (2,2'-etilbenzotiazolina-6-sulfonato de amonio), disuelta en una solución buffer acuosa citrato-fosfato de pH 7.4 y con una absorbancia de 0.700 a la longitud de onda de máxima absorción (700 nm). Cada concentración se evaluó por triplicado. Como blancos de muestra se utilizaron las mismas concentraciones preparadas en la solución

buffer de pH 7.4. Para la referencia se prepararon tres repeticiones, que contenían la solución buffer con la solución ABTS, y por último, para el blanco de referencia se hizo una repetición que contenía DMSO con la solución buffer pH 7.4. Una vez obtenidas las mezclas se dejaron incubar durante media hora y se midió la absorbancia a 700 nm en el espectrofotómetro. Seguidamente se calculó el porcentaje de inhibición medio,  $IC_{50}$ , con la misma expresión matemática empleada para el análisis de la actividad inhibitoria del radical DPPH<sup>•</sup>. De igual manera se usó el BHT como control positivo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Rendimiento de los extractos y contenido de fenoles totales

El rendimiento de la extracción y contenido de fenoles totales de los extractos obtenidos a partir de las bayas de las especies del género *Vismia*, *V. guianensis* y *V. baccifera* ssp. *ferruginea* usando éter de petróleo, acetato de etilo y metanol se presentan en la tabla 1. Los porcentajes de material extractable con los diferentes solventes mostraron similitudes para las dos especies analizadas; los rendimientos máximos en la extracción se obtuvieron para los extractos de metanol en ambas especies, siendo el porcentaje en peso con respecto al material vegetal seco de 30.40% para VG y 31.60% para VB. Por su parte, el porcentaje en peso extraído con éter de petróleo y acetato de etilo correspondió respectivamente a 3.99% y 4.46% para VG y 4.56% y 5.89% para VB. El porcentaje en peso total de material extractable a partir de las bayas secas fue de 38.95% para VG y 39.82 % para VB. Ninguna asociación significativa se encontró entre los rendimientos de la extracción y el contenido de fenoles totales o la actividad inhibidora del radical DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup>.

**Tabla 1.** Porcentaje extraído y contenido de fenoles totales de los extractos provenientes de las especies del género *Vismia* (*V. guianensis* y *V. baccifera* ssp. *ferruginea*).

Especie	Rendimiento del Extracto (g / 100g de material seco ± DE*)			Contenido de Fenoles Totales (mg ac. gálico / g muestra ± DE*)		
	Éter de petróleo	Acetato de etilo	Metanol	Éter de petróleo	Acetato de etilo	Metanol
(VG)	3.99 ± 0.28	4.56 ± 0.33	30.40 ± 2.55	205.00 ± 1.67	356.67 ± 27.77	186.67 ± 3.34
(VB)	2.33 ± 0.26	5.89 ± 0.34	31.60 ± 2.60	78.33 ± 6.11	350.56 ± 10.56	177.22 ± 0.56

\* Los valores corresponden a la media obtenida de tres réplicas (n = 3); DE, desviación estándar.

Las sustancias fenólicas se han reconocido por su aporte a la actividad antioxidante de los materiales vegetales (22). Debido a lo anterior, se investigó el contenido de fenoles totales en los extractos empleando el método de Folin-Ciocalteu. El contenido de fenoles totales para los extractos provenientes de las dos especies estuvo en el rango de  $78.33 \pm 6.11$  a  $356.67 \pm 27.77$  mg/g extracto como equivalentes de ácido gálico (véase tabla 1). Aunque la fracción soluble en acetato de etilo del material vegetal seco fue menor comparado con la fracción soluble en metanol, el contenido fenólico total ( $356.67 \pm 27.77$  mg GAE /g extracto) fue casi dos veces mayor que en el extracto de metanol ( $186.67$  mg GAE/g extracto). El contenido de fenoles totales para las dos especies, tanto en los extractos en éter de petróleo como en los de metanol, fue muy similar. Por otro lado, el contenido fenólico de los extractos en éter de petróleo mostró marcadas diferencias entre las especies analizadas, siendo para VG ( $205.00 \pm 1.67$  mg GAE/g extracto) de casi tres veces el encontrado en VB ( $78.33 \pm 6.11$  mg GAE/g extracto).

#### Actividad captadora del radical libre DPPH• de los extractos

El DPPH es usualmente empleado como sustrato para evaluar la actividad antioxidante de compuestos que, se presume, pueden tener capacidad captadora de radicales libres (23). El método está basado en la reducción de la absorbancia de la solución en metanol de DPPH• en la presencia de un antioxidante donante de hidrógeno, debido a la generación de la forma no radicalaria DPPH-H. El valor  $IC_{50}$  para cada extracto y el BHT se calculó y definió como la concentración de muestra causante del 50% de inhibición de la absorbancia (véase tabla 2). Un valor inferior del  $IC_{50}$  indica una mayor actividad antioxidante. En este estudio, todos los extractos mostraron una excelente actividad inhibidora del radical DPPH• dependiente de la concentración, con valores de  $IC_{50}$  que estuvieron en el rango de  $3.72 \pm 0.13$  a  $7.04 \pm 0.07$  para VG y  $4.46 \pm 0.19$  a  $17.51 \pm 0.63$   $\mu\text{g/ml}$  para VB. Los extractos provenientes de VG presentaron valores de  $IC_{50}$  comparables al obtenido para el control positivo BHT e inferiores a los reportados para VB, lo que demuestra una actividad superior en esta primera especie. Además, los extractos en acetato de etilo de las dos especies, que presentaron el

mayor contenido fenólico, resultaron ser los de mayor actividad inhibidora del radical DPPH•, incluso superior a la obtenida para el BHT. La actividad captadora del radical, encontrada en los extractos de éter de petróleo y metanol para cada una de las especies fue similar, a pesar de que el rendimiento obtenido para este último fue considerablemente superior al encontrado en el extracto etéreo. Lo anterior puede estar asociado a que durante el tratamiento con metanol se extrajeron algunos compuestos fenólicos de alta polaridad junto con azúcares, sales inorgánicas y otros compuestos no activos para captar radicales. Adicionalmente, la actividad del extracto etéreo de VG es aproximadamente el doble de la encontrada en el mismo extracto en VB, lo cual puede estar asociado con el mayor contenido de fenoles totales determinado en VG.

**Tabla 2.** Valores de  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) de la actividad de los diferentes extractos de las bayas de las dos especies de *Vismia* (*V. guianensis* y *V. baccifera* ssp. *ferruginea*).

Extractos	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>*</sup>	
	DPPH	ABTS
VG éter de petróleo	$7.04 \pm 0.07$	$8.73 \pm 0.36$
VG AcOEt	$3.72 \pm 0.13$	$5.86 \pm 0.72$
VG MeOH	$6.52 \pm 0.13$	$10.41 \pm 1.58$
VB éter de petróleo	$15.90 \pm 0.16$	$7.00 \pm 0.21$
VB AcOEt	$4.46 \pm 0.19$	$4.16 \pm 0.07$
VB MeOH	$17.63 \pm 0.63$	$11.23 \pm 0.41$
BHT	$7.00 \pm 0.50$	$2.00 \pm 0.20$

\* Los valores de  $IC_{50}$  se calcularon del análisis por regresión lineal.

#### Actividad captadora del catión radical ABTS•+ de los extractos

Otro de los métodos utilizados para determinar la capacidad de un antioxidante para captar radicales libres, y aplicable tanto a antioxidantes lipofílicos como hidrofílicos, es el protocolo de decoloración del catión radical ABTS•+. Este método es uno de los más aplicados porque se considera un protocolo de elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable (24). Debe señalarse que, a pesar de las diferencias metodológicas, los resultados obtenidos con los métodos ABTS•+ y DPPH• permiten alcanzar conclusiones prácticamente similares (véase tabla 2). Todos los extractos procedentes de las dos especies revelaron una buena capacidad inhibitoria



(C-4), 40.9 (C-11 y 11'), 25.4 (C-16), 26.3 (3xMe), 21.2 (Ar-CH<sub>3</sub>), 18.5 (3xMe). Estos datos poseen una buena concordancia con aquellos reportados previamente en la literatura (25).

*γ-Hidroxiferruginina A* (2) se obtuvo como cristales de color rojo-naranja (*n*-hexano); punto de fusión 97-99 °C (no corregido). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 16.52 (1H, s, 9-OH), 10.15 (1H, s, 8-OH), 7.13 (1H, s, H-10), 7.09 (1H, s, H-5, *J* 7Hz, acoplamiento a larga distancia con C6-CH<sub>3</sub>), 5.83 (1H, s, H-2), 5.15 (1H, t, H-17), 4.72 (1H, t, H-12 y 12', *J* 7Hz), 4.66 (1H, t, H-12 y 12', *J* 7Hz), 3.48 (2H, d, H-16, *J* 7Hz), 3.14 y 2.50 (4H, m, H-11 y H-11'), 2.45 (3H, s, C6-CH<sub>3</sub>, acoplamiento a larga distancia con H-5), 2.04 (3H, s, Me), 1.83 (3H, s, Me), 1.70 (3H, s, Me), 1.57 (3H, s, Me), 1.49 (3H, s, Me). NMR <sup>13</sup>C (75.5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): 198.2 (C-1), 192.2 (C-3), 166.2 (C-9), 163.3 (C-8), 154.6 (C-4a), 144.5 (C-6), 142.1 (C-10a), 136.9 (C-13 y 13'), 135.9 (C-18), 124.3 (C-5), 108.9 (C-9a), 105.7 (C-8a), 122.8 (C-7), 119.1 (C-12 y 12'), 118.7 (C-17), 117.6 (C-10), 105.7 (C-2), 50.2 (C-4), 40.9 (C-11 y 11'), 25.4 (C-16), 26.3 (3xMe), 21.2 (Ar-CH<sub>3</sub>), 18.5 (3xMe). Estos datos concuerdan perfectamente con aquellos reportados en la literatura (26).

#### Aislamiento del compuesto mayoritario presente en el extracto de éter de petróleo

Del extracto en éter de petróleo de VG sometido a sucesivas cromatografías de columna sobre sílica gel y Sephadex LH-20, se aisló como metabolito mayoritario la vismiaquinona A (3) (véase figura 1). Un análisis comparativo cualitativo (CCF) permitió establecer que este compuesto está presente en el extracto de éter de petróleo de la especie VG. El compuesto aislado presentó las siguientes propiedades físicas:

*Vismiaquinona A* (3). Se obtuvo como cristales de color amarillo-naranja con punto de fusión de 202-204 °C (no corregido). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 12.89 (1H, s, 8-OH), 12.06 (1H, s, 1-OH), 7.55 (1H, s, H-4), 7.46 (1H, s, H-5), 7.00 (1H, s, H-7), 6.81 (1H, dd, H-2', *J* 7.2; 16.3 Hz), 6.59 (1H, d, H-1', *J* 16.3 Hz), 3.98 (3H, s, OMe), 2.40 (1H, m, H-3'), 2.38 (3H, s, C6-CH<sub>3</sub>), 1.07 (6H, d, 2xCH<sub>3</sub>, H-4' y H-5', *J* 6.7 Hz). RMN <sup>13</sup>C (75.5 MHz; CDCl<sub>3</sub>): 191.1 (C-9), 182.6 (C-10), 163.1 (C-8), 162.9 (C-1), 162.5 (C-3), 148.9 (C-6), 147.2 (C-2'), 133.0 (C-4a), 132.3 (C-1'), 131.9 (C-4b), 124.8

(C-7), 121.5 (C-4), 116.2 (C-8a), 110.4 (C-4), 110.3 (C-8b), 56.7 (OMe), 33.8 (C-3'), 22.8 (2xMe, C-4' y C-5'), 22.6 (Ar-CH<sub>3</sub>). Los datos espectroscópicos se correlacionan perfectamente con los reportados en la literatura (27).

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio muestran claramente que las bayas de *V. baccifera* ssp. *ferruginea* y *V. guianensis* pueden ser una fuente natural de antioxidantes con potencial aplicación en alimentos o la industria farmacéutica, dada la alta actividad encontrada en los diferentes extractos bajo los dos modelos *in vitro* (DPPH, ABTS) evaluados. En particular, el extracto de acetato de etilo presentó el mayor contenido de fenoles y la más alta actividad captadora de radicales, superando inclusive al BHT, lo que constituye a esta fracción en una fuente potencial de sustancias antioxidantes de polaridad media. Los metabolitos identificados poseen características químicas que pueden estar asociadas con la capacidad captadora de radicales encontrada en los diferentes extractos. Sin embargo, son necesarias futuras investigaciones respecto al mecanismo y la evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos individuales presentes en los extractos.

## AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por la Dirección de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín (DIME) – Código DIME No. 30802946.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; (91):14-22.
- Halliwell B. Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nut Res* 1997; (55): 544-552.
- Gerber M, Boutron-Ruault MC, Hercberg S, Riboli E, Scalbert A, Siess MH. Food and cancer: state of the art about the protective effect of fruits and vegetables. *Bull Cancer* 2002; (89): 293-312.
- Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* 2002; 113 (Suppl. 9B): 71S-88S.
- Serafini M, Belluco R, Wolk A, Ekstrom AM. Total antioxidant potential of fruit and vegetables and risk of gastric cancer. *Gastroenterology* 2002; (123): 985-991.
- Di Matteo V, Espósito E. Biochemical and therapeutic effects of antioxidants in the treatment of Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. *Current Drug Targets CNS & Neurological Disorders* 2003; (2): 95-107.

7. Ames SN, Shigrenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Proc Natl Sci USA* 1993; (90): 7915-7922.
8. Bergman M, Varshavsky L, Gottlieb HE, Grossman S. The antioxidant activity of aqueous spinach extract: chemical identification of active fractions. *Phytochemistry* 2001; (58): 143-152.
9. Gulçin I, Berashvili D, Gepdiremen A. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. *J Ethnopharmacol* 2005 Oct 3; 101(1-3): 287-93.
10. Cao GH, Sofic E, Prior RL. 1996. Antioxidant capacity of tea and vegetables. *J Agric Food Chem* 2005; (44): 3426-3431.
11. Al Saikhan MS, Howard LR, Miller LC. Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum*, L.). *J Food Science* 1995; (60): 341-343.
12. Baydar NG, Özkan G, Yaşar S. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. *Food Control* 2007; 18 (9): 1131-1136.
13. Tepe B, Sokmen A. Screening of the antioxidative properties and total phenolic contents of three endemic *Tanacetum* subspecies from Turkish flora. *Bioresource Technol* 2007; (98): 3076-3079.
14. Botta B, delle Monache G, delle Monache F, Marini-Bettolo GB, Menichini F, Vismione H and prenylated xanthones from *Vismia guianensis*. *Phytochemistry* 1986; (25): 1217-1219.
15. Nagem TJ, Oliveira FF. Xanthones and other constituents of *Vismia parviflora*. *J Braz Chem Soc* 1997; 8(5): 505-508.
16. Cárdenas D, López R. Plantas útiles de la Amazonia colombiana – Departamento del Amazonas: perspectivas de los productos forestales no maderables. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI. Ministerio del Medio Ambiente. Colombia. 2000.
17. Van Andel T. Non-timber forest products of the North-West District of Guyana. Part II. Tropenbos-Guyana Series. Tropenbos-Guyana Programme-Georgetown, Guyana. 2000.
18. Fuller RW, Westergaard CK, Collins JW, Cardelin JH, Boyd MR. Vismiaphenones D-G, new prenylated benzophenones from *Vismia cayennensis*. *J Nat Prod* 1999; (62): 67-69.
19. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol* 1999; (299): 152-178.
20. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 1995; (28): 25-30.
21. Choi HS, Song HS, Ukeda H, Sawamura M. Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: Detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *J Agric Food Chem*. 2001; (48): 4156-4161.
22. Cakir A, Mavi A, Yıldırym A, Duru ME, Harmandar M, Kazaz C. Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation. *J Ethnopharmacol* 2003; (87): 73-83.
23. Yildirim A, Mavi A, Kara AA. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agric Food Chem* 2001; (49): 4083-4089.
24. Pérez RM, Vargas R, Martínez FJ, García EV, Hernández B. Actividad antioxidante de los alcaloides de *Bocconia arborea*. Estudio sobre seis métodos de análisis. *Ars Pharmaceutica* 2003; 44 (1): 5-21.
25. Delle Monache F, Mc Quhae MM, Ferrari F, Marini-Bettolo GB. Ferruginin A and B and ferruanthrone, new triprenylated anthranoids from *Vismia baccifera* var. *ferruginea*. *Tetrahedron* 1979; (35): 2143-2149.
26. Delle Monache F, Torres FF, Marini-Bettolo GB, Alves de Lima RA. Chemistry of *Vismia* genus. Note V:  $\gamma$ -hydroxy and  $\gamma'$ -dihydroxy-ferruginin A. *J Nat Prod* 1980; (43): 487-494.
27. Nagem TJ, de Oliveira FF. Xanthones and other constituents of *Vismia parviflora*. *J Braz Chem Soc* 1997; 8 (5): 505-508.

## DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS

### 38 años de labores académicas

#### Sede central

#### Convenio con el municipio de Envigado

#### Programas en Regionalización

11 años presencia viva en Región  
(Carmen de Viboral, Puerto Berrío, Santafé de Antioquia, Yarumal)

#### Programas Adscritos

Ingeniería de Alimentos  
Ciencia y Tecnología de Alimentos

Tecnología de Alimentos

Facultad de Química Farmacéutica - Universidad de Antioquia  
Teléfono: 219 54 65 - Correo electrónico: cta@farmacia.udea.edu.co