

Estudio químico preliminar y evaluación de la actividad antioxidante, antialimentaria y tóxica, de la especie *Pernettya prostrata* (Ericaceae)

Preliminary chemical study and evaluation of antioxidant, antifeedant and toxic activity of the species *Pernettya prostrata* (Ericaceae)

Lic. Carlos Mario Rincón Aguilar,^I PhD. Oscar Javier Patiño Ladino,^{II} MSc. Erika Andrea Plazas González,^{II} MSc. María Esperanza Bulla Nieto,^I MSc. Gladys Rozo Torres,^{II} PhD. Mónica Puyana Hegedus^{II}

I Universidad Distrital "Francisco José de Caldas". Bogotá. Colombia.

II Universidad "Jorge Tadeo Lozano". Bogotá. Colombia.

RESUMEN

Introducción: los estudios fitoquímicos y propiedades biológicas de la especie *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. (Ericaceae) han sido preliminares, y muchos de los resultados publicados no son muy confiables. Por lo anterior, la planta se convierte en objeto de estudio promisorio e interesante.

Objetivo: realizar el análisis fitoquímico preliminar y la evaluación de algunas propiedades biológicas de extractos y fracciones de la especie *P. prostrata*.

Métodos: a los extractos etanólicos de parte aérea y frutos se les determinaron los posibles constituyentes mediante un análisis fitoquímico preliminar, y se evaluó la actividad antioxidante mediante la captación del radical libre DPPH, la actividad tóxica frente a *Artemia salina* y antialimentaria frente a *Sitophilus zeamais* y *Tribolium castaneum*.

Resultados: las pruebas fitoquímicas preliminares sugieren la presencia de flavonoides, taninos triterpenos y/o esteroides en los extractos etanólicos de frutos y parte aérea, obtenidos de *P. prostrata*. Del estudio fitoquímico realizado sobre el extracto etanólico de frutos se aisló e identificó escualeno y β -1-O-metoxiglucopiranososa. Los compuestos aislados e identificados no arrojaron resultados promisorios frente a los ensayos biológicos realizados. Los extractos etanólico de frutos (72,8 ppm) y parte aérea (60,9 ppm) presentan similar actividad antioxidante. La fracción metanólica es la de mayor actividad antioxidante con CI_{50} ($86,2 \pm 8,8$ ppm) y PI (89,8 %), mayores a los del ácido ascórbico usado

como patrón ($CI_{50} = 49,3 \pm 0,2$ ppm). No se observó actividad tóxica y antialimentaria de los extractos y fracciones evaluados.

Conclusiones: el presente trabajo realiza aportes al conocimiento químico y de las propiedades biológicas de la especie *P. prostrata*, mediante el aislamiento e identificación de dos sustancias nuevas y la determinación de la actividad antioxidante de algunos extractos y fracciones.

Palabras clave: Ericaceae, *Pernettya*, *Pernettya prostrata*, análisis fitoquímico preliminar, actividad tóxica, actividad antialimentaria, actividad antioxidante, Escualeno, β -1-O-metoxiglucopiranososa.

ABSTRACT

Introduction: studies about the phytochemistry and biological properties of the species *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. (Ericaceae) conducted so far have been preliminary and many of the results published are not totally reliable. Therefore, the plant is an interesting and promising object of study.

Objective: carry out the preliminary phytochemical analysis and evaluation of some biological properties of extracts and fractions of *P. prostrata*.

Methods: preliminary phytochemical analysis was conducted of ethanolic extracts from the aerial parts and fruits for determination of possible constituents.

Antioxidant activity was evaluated by DPPH free radical capture. Toxic activity against *Artemia salina* and antifeedant activity against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum* were also determined.

Results: preliminary phytochemical tests suggest the presence of flavonoids, tannins, triterpenes and/or steroids in ethanolic extracts from fruits and aerial parts of *P. prostrata*. Squalene and β -1-O-methoxy-glucopyranose were isolated and identified from the phytochemical study of the fruit ethanolic extract. The compounds isolated and identified did not reveal any promising results in the biological assays performed. Ethanolic extracts from fruits (72.8 ppm) and aerial parts (60.9 ppm) exhibited similar antioxidant activity. The methanolic fraction showed the highest antioxidant activity with IC_{50} (86.2 ± 8.8 ppm) and IP (89.8 %), greater than those in the ascorbic acid used as a standard ($IC_{50} = 49.3 \pm 0.2$ ppm). No toxic or antifeedant activity was found in the extracts and fractions evaluated.

Conclusions: the present paper makes a contribution to knowledge about the chemical composition and biological properties of the species *P. prostrata* through isolation and identification of two new substances, and determination of the antioxidant activity of some extracts and fractions.

Key words: Ericaceae, *Pernettya*, *Pernettya prostrata*, preliminary phytochemical analysis, toxic activity, antifeedant activity, antioxidant activity, squalene, β -1-O-methoxy-glucopyranose.

INTRODUCCIÓN

La familia Ericaceae está ampliamente distribuida a nivel mundial. En Latinoamérica es un elemento florístico sobresaliente de la vegetación en los bosques húmedos de las montañas andinas. Colombia es uno de los países con mayor número de especies de esta familia, aproximadamente hay 270 especies formalmente reconocidas, predominando la presencia de especies de los géneros *Cavendishia*, *Psammisia*, *Disterigma*, *Sphyrropermum*, *Thibaudia*, *Anthopterus*, *Macleania*, *Diogenesia*, *Satyria*, *Themistoclesia*, *Vaccinium* y *Pernettya*.¹ En la familia Ericaceae los metabolitos secundarios más representativos son flavonoides, taninos y terpenos. Algunos extractos y compuestos aislados de las especies que la conforman, han presentado propiedades biológicas promisorias como antioxidante, antiinflamatoria, insecticida, antiescabiótica, antimicótica, y actividad anti-VIH.²⁻⁵

El género *Pernettya* se encuentra distribuido principalmente en Oceanía y América. En Oceanía se encuentra principalmente en Tasmania y Nueva Zelanda. En América se distribuye desde el sur de México hasta el extremo noreste de Argentina.⁶ En Colombia hay reportes de especies en los departamentos de Cundinamarca, Antioquia, Santander, Cauca, Choco y Nariño. El hábitat de este género son los bosques nublados, sub-páramo y páramo.

En especies del género *Pernettya* se han realizado pocas investigaciones a nivel fitoquímico, etnobotánico y de sus propiedades biológicas. De los frutos y hojas de la especie *P. furens* se encontraron compuestos de tipo sesquiterpenicos,⁷ y de la especie *P. prostrata* se reporta la presencia de amirina, ácido ursólico, uvaol, ácido caféico; ácido felúrico, quercitrina y quercetina.^{8,9}

Pernettya prostrata es la especie más conocida de este género. En Colombia se conoce popularmente como reventadera, borrachero y mortifio venenoso. Es un arbusto pequeño que posee frutos rojos o morados que cuando se comen causan intoxicación. Las personas se han envenenado con ellos porque suelen confundirlos con el color de los frutos del "mortifio" (*Hesperomeles goudotiana*) que sí son comestibles. Los animales también suelen verse afectados ya que por la sequía y la falta de otros pastos, se ven obligados a comerlos en gran cantidad. Estudios realizados han sugerido que la toxicidad puede ser debida a la presencia de la andrometoxina o grayanotoxinas, presentes en otras especies tóxicas de la familia.⁸⁻¹⁰ Los Kallawayas, aborígenes de Bolivia, usan las hojas frescas o secas, en decocción, en muy poca cantidad como somnífero; en proporción media, como vómito contra intoxicación alimentaria; maceradas en alcohol y en fricciones sobre el pecho, contra el reumatismo. Los indígenas ecuatorianos pertenecientes a la cultura de los Saraguros y Shuar, utilizan infusiones de hojas maduras para tratar los dolores fuertes de cabeza. Los frutos también han sido empleados por aborígenes como un alucinógeno en sus rituales.¹⁰

El objetivo del presente trabajo es realizar el análisis fitoquímico preliminar y la evaluación de algunas propiedades biológicas de extractos y fracciones de la especie *P. prostrata*. Contribuyendo de este modo a las investigaciones en especies del género *Pernettya*.

MÉTODOS

Materiales y equipos

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , así como los experimentos DEPT 135, COSY, HMQC y HMBC fueron tomados en un espectrómetro Bruker Avance 400, operado a 400 MHz para ^1H y a 100 MHz para ^{13}C empleando cloroformo deuterado (CDCl_3) y metanol deuterado (CD_3OD) como solventes y patrones internos, a una temperatura de 25 °C. La cromatografía líquida al vacío (CLV), se realizó con una bomba de vacío y un embudo de vidrio sinterizado, empacado con sílica gel (15 μm) marca Macherey-Nagel. La cromatografía en columna (CC) y la cromatografía flash (CF) se realizaron utilizando gel de sílice 70-230 Mesh (Macherey-Nagel) y 230-400 Mesh (Merck), respectivamente. El monitoreo por cromatografía en capa delgada (CCD) se realizó en placas de sílica gel 60 HF₂₅₄ Merck.

Material Vegetal

Los frutos y la parte aérea (hojas y tallo) de la especie *P. prostrata* fueron recolectados en la vereda San Francisco del páramo de Cruz Verde, departamento de Cundinamarca, en el mes de mayo de 2011. La especie fue identificada por el biólogo Héctor Lancheros del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis. Un espécimen reposa en el Herbario del Jardín Botánico con número de colección HL1680.

Extracción, fraccionamiento y purificación

Los frutos y la parte aérea de la especie *P. prostrata* fueron lavados y secados en un horno a 48 °C durante 24 horas. Luego se trituraron en un molino de cuchillas obteniéndose 88,9 g de frutos y 198,1 g de parte aérea, los cuales fueron sometidos a extracción por maceración en frío con etanol al 96 %. El extracto etanólico obtenido fue concentrado a presión reducida obteniéndose 12,9 y 84,3 g de extracto crudo de frutos y de parte aérea, respectivamente.

Por medio de la técnica CLV fueron fraccionados 11,0 g del extracto etanólico de frutos, usando como fase móvil la mezcla CHCl_3 -MeOH en polaridad creciente (9:1 a 7:3), obteniéndose 9 fracciones. De la fracción 2 se obtuvo escualeno (13,4 mg) mediante cromatografía flash con un sistema de elución de n-hexano-AcOEt 95:5. De la fracción 7 por cromatografía flash repetitiva con los sistemas de elución CH_2Cl_2 -MeOH 8:2, CHCl_3 -MeOH 7:3 y CHCl_3 -MeOH 75:25, se obtuvo β -1-O-metoxiglucopiranososa (8,5 mg).

El extracto etanólico de la parte aérea sólo fue sometido a fraccionamiento por CLV utilizando solventes en orden de polaridad creciente. Las fracciones obtenidas corresponden a hexano (6,0 g), cloroformo (6,6 g), acetato de etilo (3,2 g), butanol (26,8 g) y metanol (30,1 g).

Ensayo fitoquímico preliminar

El análisis fitoquímico de los extractos se llevó a cabo mediante los ensayos descritos por Sanabriay Lock de Ugaz.^{11,12} En forma general se tomó 1 g de cada

extracto etanólico y se sometió a las pruebas para evaluar la presencia de alcaloides, flavonoides, quinonas, taninos, saponinas, triterpenos, cumarinas, lactosas sesquiterpénicas, y cardiotónicos.

Determinación de la actividad antioxidante

La capacidad de eliminación de radicales libres (RSC) fue determinada mediante la metodología descrita por Jing y Argolo^{13,14} con algunas modificaciones. Una alícuota (100 µL) de extracto, fracción y compuesto puro (200, 150, 100 y 50 ppm) fue mezclada con 900 µL de una solución del radical DPPH (60 ppm). Un volumen igual de metanol puro fue empleado como control. La desaparición del radical DPPH fue monitoreada por la disminución de la absorbancia a 517 nm, la cual fue medida después de 0, 5, 10, 20, y 30 minutos tiempo en el cual el radical fue estable. La concentración del radical DPPH en la mezcla fue calculado a partir de la curva de calibración que sigue la ecuación de la regresión lineal ($r = 0,9975$): $A_{517nm} = 0,0092[DPPH] - 0,01$, donde [DPPH] está expresado en ppm. El porcentaje de DPPH restante (porcentaje DPPH_{REM}) fue calculado de como: porcentaje DPPH_{REM} = $[DPPH]_T / [DPPH]_{T_0} \times 100$, donde T es el tiempo de estabilidad del radical (30 min) y T₀ es el tiempo cero. La concentración de la muestra que inhibe el 50 % de los radicales libres de DPPH (CI₅₀) fue calculada mediante el trazado del porcentaje DPPH_{REM} en el tiempo de equilibrio (30 min) contra varias concentraciones de extracto y fracción. El resultado fue expresado como ppm de antioxidante ± desviación estándar.

Para la determinación del porcentaje de inhibición (PI), una alícuota (100 µL) de muestra a 200 ppm fue mezclada con una solución metanólica (900 µL) del radical libre DPPH a 60 ppm. El PI fue calculado de acuerdo a la expresión: $PI = [(A_{T_0} - A_{T_S}) / A_{T_0}] \times 100$, donde A_{T₀} es la absorbancia al tiempo cero y A_{T_S} es la absorbancia hasta el estado de equilibrio (30 min). El resultado fue expresado como porcentaje de inhibición. Como parámetro de comparación se utilizó ácido ascórbico a una concentración de 100, 50 y 10 ppm, siguiendo la misma metodología para el cálculo de CI₅₀ y PI.

Los experimentos se realizaron por triplicado utilizando un espectrofotómetro Termo Scientific UV-Visible Spectrophotometer Evolution 300 (Bogotá, Colombia).

Actividad tóxica frente a *Artemia salina*

El ensayo de toxicidad en *A. salina* se realizó de acuerdo con el protocolo sugerido por Mc Laughlin y colaboradores¹⁵ y Ticona y colaboradores.¹⁶ Los huevos de *A. salina* se incubaron durante 24 h a una temperatura de 28 °C en una solución acuosa de sal marina a una concentración de 38 g/L. Los extractos y fracciones se solubilizaron inicialmente en (1,0 mL) dimetilsulfóxido (DMSO) y se prepararon soluciones de extracto, fracción (1000, 500, 250, 100 y 10 ppm) y compuesto puro (100, 50 y 10 ppm) usando solución de sal marina. Se realizó un control negativo empleando DMSO a la concentración máxima en solución de sal marina. Los ensayos se realizaron por triplicado empleando 10 nauplios por pozo. Al cabo de 24 horas se hicieron las lecturas, y se registró el número de sobrevivientes en cada pozo. Los datos obtenidos fueron procesados con el programa estadístico "Epaprob analysis program" con el fin de determinar la concentración de muestra letal 50 (CL₅₀) con un rango de confianza de 95 %.

Determinación de la actividad antialimentaria

Los insectos *Sitophilus zeamais* y *Tribolium castaneum* fueron obtenidos de un cultivo que reposa en el laboratorio de productos naturales vegetales de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Los insectos fueron mantenidos en cámaras de cultivo a 27 ± 1 °C y 65 ± 5 % de humedad relativa (HR).

Para determinar la actividad antialimentaria de los extractos, fracciones y compuestos puros se empleó el método de discos de harina descrito por Xie y colaboradores¹⁷ y Lui y colaboradores¹⁸ con algunas modificaciones. Se preparó una suspensión agua-harina mezclando harina de trigo (1,0 g) con 5 mL de agua destilada agitando con ayuda de ultrasonido. Posteriormente se adicionó 1 gota de Tween 20 y se agitó nuevamente la mezcla. A la suspensión anterior se le adicionaron 50µL de una solución stock de la sustancia a evaluar para obtener concentraciones finales de 1000 y 500 ppm de extractos y fracciones y de 100 y 300 ppm para compuestos puros. Alícuotas de 200 µL de la suspensión final se colocaron en la parte inferior de una caja de Petri de plástico formando discos. Los discos se dejaron secar a temperatura ambiente por 24 horas y posteriormente se transfirieron a una incubadora para equilibrarlos a 27 °C y 65-70 % HR. Cada disco harina pesaba entre 36 y 39 mg. Una vez secos los discos, se colocaron en viales para pesarlos, posteriormente se ubican dentro de cada vial diez (10) insectos sin sexar y se pesó el conjunto vial-disco-insectos. Todos los insectos empleados en el ensayo se mantuvieron sin alimento por 24 h. El montaje del experimento se dejó en la cámara de cultivo durante 3 días (27 ± 1 °C y 65 ± 5 % HR). Para cada ensayo se realizaron tres réplicas. Los Índices de disuasión alimentaria (IDA) se calcularon comparando los resultados obtenidos con el alimento tratado con los observados con el alimento sin tratar, empleando la siguiente fórmula: ¹⁸ IDA= ((C-T)/C) X 100, donde (C) es el consumo de discos del control y (T) el consumo de discos tratados. De acuerdo al porcentaje observado de IDA se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros: ¹⁸

IDA < 20 % (-)	No presenta Disuasión Alimentaria
50 % > IDA ≥ 20 %	(+) Débil Disuasión Alimentaria
70 % > IDA ≥ 50 % (++)	Moderada Disuasión Alimentaria
IDA ≥ 70 % (+++)	Fuerte Disuasión Alimentaria

Análisis estadístico

Las diferencias estadísticas representadas por letras se obtienen mediante el análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) seguido de la diferencia significativa con $p < 0,05$, en el programa STATGRAPHICS Centurion.

RESULTADOS

Análisis fitoquímico preliminar

En la [tabla 1](#) se presentan los resultados del análisis fitoquímico preliminar para los extractos de frutos y parte aérea de *P. prostrata*. Los metabolitos presentes según los ensayos químicos aparecen con un signo positivo (+) y con signo negativo (-) aquellos que están ausentes según las pruebas químicas.

Tabla 1. Resultados del análisis fitoquímico preliminar para los extractos etanólicos de frutos y parte aérea de *P. prostrata*

METABOLITO	PRUEBA	FRUTO				AÉREA			
ALCALOIDES	Dragendorff	-				-			
	Valser	-				-			
	Mayer	-				-			
	Wagner	-				-			
FLAVONOIDES	CIANIDINA	+				+			
	HCl 10 %	+				+			
NAFTOQUINONAS Y/O ANTRAQUINONAS	Bornträger-Kraus	-				-			
TANINOS	Gelatina-sal	+				+			
	Cloruro Férrico	+				+			
SAPONINAS	ESPUMA	-				-			
	ROSENTHALER	-				-			
ESTEROIDES Y (O) TRITERPENOIDES	Liebermann-Burchard	+				+			
	Vainillina-Ácido orto-fosfórico	+				+			
	CCD	Placa W	Placa X	Placa Y	Placa Z	Placa W	Placa X	Placa Y	Placa Z
CUMARINAS		-		-	-	-		-	-
CARDIOTÓNICOS			-				-		
LACTONASSESQUITERPENICAS		-				-			
Placa W: Revelada con hidroxamato férrico									
Placa X: Revelada con Raymond									
Placa Y: Revelada con vainillina									
Placa Z: Revelada con KOH 5 % en etanol									

Estudio fitoquímico

Del estudio fitoquímico realizado sobre el extracto etanólico de *P. próstata* se aislaron e identificaron un triterpeno conocido como escualeno y un monosacárido denominado β -1-O-metoxiglucopiranososa. Las dos sustancias fueron elucidadas por métodos espectroscópicos y por comparación con los datos descritos en la literatura.^{21,22}

Actividad antioxidante

En la [tabla 2](#) se presentan los resultados de la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos de frutos y parte aérea, de las fracciones de la parte aérea y de los compuestos puros obtenidos de *P. prostrata*. Los resultados se presentan en concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) del radical libre DPPH expresada en ppm y el porcentaje de inhibición del radical (PI) causado por las muestras evaluadas.

Tabla 2. Actividad antioxidante de extractos, fracciones y compuestos puros de *P. prostrata* determinada por la reducción de la actividad del radical libre DPPH

Muestra analizada	PI (%) **	CI ₅₀ (ppm)**
Extracto frutos	72,8	128,5±1,6 ^c
Compuesto A	ND	>200
Compuesto B	ND	>200
Extracto parte aérea	60,9	136,7±1,7 ^c
Fracción metanólica	89,8	86,2±8,8 ^b
Fracción butanólica	56,5	165,9±7,8 ^d
Fracción acetato de etilo	50,1	181,9±7,2 ^e
Fracción clorofórmica	51,2	175,9±4,7 ^e
Fracción hexano	10,8	>200
Ácido ascórbico*	92,8	49,3±0,2 ^a

Los valores con la misma letra de superíndice no son significativamente diferentes con $p < 0,05$ (STATGRAPHICS Centurion)

*Usado como patrón de comparación. El PI fue calculado a la concentración de 100 ppm

**IC₅₀ e PI de las muestras fueron calculados al tiempo de equilibrio (30 min)

ND: No determinado

Los extractos etanólico de frutos (72,8 ppm) y parte aérea (60,9 ppm) presentan actividad antioxidante similar ya que no existe diferencia significativa entre los valores de CI₅₀ obtenidos. La fracción metanólica de la parte aérea presenta el valor más bajo de CI₅₀ (86,2 ± 8,8 ppm) y el PI más alto (89,8 %), siendo la fracción con mayor actividad antioxidante y mayor a la del ácido ascórbico usado como patrón (CI₅₀ = 49,3 ± 0,2 ppm).

Actividad tóxica frente a *Artemia salina*

La [tabla 3](#) presenta los resultados de CL₅₀ expresada en ppm exhibida frente al microcrustáceo *A. salina* por los extractos etanólicos de frutos y parte aérea, fracciones de la parte aérea y compuestos puros A y B.

Tabla 3. Actividad tóxica frente a *Artemia salina* de los extractos, fracciones y compuestos aislados de la especie *P. prostrata*

Muestra analizada	CL ₅₀ (ppm)	Limite de confianza del 95 %	
		Inferior	Superior
Extracto frutos	> 1000	-	-
Compuesto A	> 100	-	-
Compuesto B	> 100	-	-
Extracto parte aérea	> 1000	-	-
Fracción metanólica	> 1000	-	-
Fracción butanólica	> 1000	-	-
Fracción acetato de etilo	136,1	88,4	178,8
Fracción clorofórmica	288,4	163,8	564,0
Fracción hexano	359,3	279,3	443,1

Actividad antialimentaria

En la [tabla 4](#) se presentan los resultados de la actividad antialimentaria frente a *S. zeamais* y *T. castaneum* obtenidos con los extractos de frutos y parte aérea, fracciones de la parte aérea y compuestos puros obtenidos de *P. prostrata* a las dos concentraciones evaluadas de cada sustancia. La actividad antialimentaria se reporta mediante signos positivos (+) ó negativos (-), teniendo en cuenta la escala de actividad propuesta por Liu y colaboradores.¹⁸

Tabla 4. Actividad antialimentaria sobre *S. zeamais* y *T. castaneum* de los extractos etanólicos, fracciones y compuestos aislados de *P. prostrata*

(Actividad Antialimentaria) % IDA ^a			
Muestra analizada	Concentración (ppm)	<i>S. zeamais</i>	<i>T. castaneum</i>
Extracto frutos	1000	-	-
	500	+	-
Compuesto A	300	-	-
	100	+	-
Compuesto B	300	-	-
	100	-	+
Extracto parte aérea	1000	-	-
	500	-	-
Fracción metanólica	1000	-	-
	500	-	+
Fracción butanólica	1000	-	+
	500	-	+
Fracción acetato de etilo	1000	-	+
	500	-	-
Fracción clorofórmica	1000	-	+
	500	-	+
Fracción hexano	1000	-	+
	500	-	+

^a IDA < 20 % (-) NO PRESENTA Disuasión alimentaria
 50 % > IDA ≥ 20 % (+) DÉBIL Disuasión alimentaria
 70 % > IDA ≥ 50 % (++) MODERADA Disuasión alimentaria
 IDA ≥ 70 % (+++) FUERTE Disuasión alimentaria

DISCUSIÓN

El análisis fitoquímico preliminar es una manera sencilla y práctica de conocer los constituyentes mayoritarios de una planta mediante la realización de ensayos químicos que producen cambios en la coloración, aparición de precipitados y/o desprendimiento de gases. Del análisis fitoquímico preliminar se determinó que los extractos de frutos y parte aérea contienen flavonoides, taninos, triterpenos y/o esteroides. Los metabolitos encontrados mediante el análisis fitoquímico preliminar para los extractos etanólicos de frutos y parte aérea de la especie *P. prostrata* están de acuerdo con los metabolitos reportados en la familia Ericaceae.^{8, 19}

Con respecto a la actividad antioxidante se observa que la fracción de hexano, a la concentración evaluada, no presentó dicha actividad. Lo que sugiere que los compuestos de baja polaridad no son los responsables de la actividad frente al radical libre DPPH que exhibe el extracto etanólico. La capacidad captadora del radical libre DPPH exhibida por los extractos y fracciones sugieren que deben contener sustancias capaces de donar hidrogeno y estabilizar el radical DPPH.^{14, 20}

El ensayo de toxicidad sobre *A. salina* es una herramienta útil para la determinación preliminar de bioactividad de productos naturales, pues se ha encontrado que esta actividad está relacionada con una amplia gama de actividades biológicas, reportándose principalmente la relación directa que existe entre el ensayo y la citotoxicidad frente a diferentes tipos de líneas celulares tumorales humanas.^{15,16} En los ensayos de actividad tóxica frente a *A. salina* (tabla 3) se observó que cuando se fraccionó el extracto de parte aérea de la especie *P. prostrata* se potencializó la actividad tóxica sobre los microcrustaceos, siendo la fracción de acetato de etilo la más activa (CL₅₀ = 136,1 ppm), seguida por la fracción clorofórmica (CL₅₀ = 288,4 ppm) y por último la de hexano (CL₅₀ = 359,3 ppm). De acuerdo a lo anterior, es posible que las fracciones de acetato de etilo, cloroformo y hexano de la parte aérea de la planta presenten actividad citotóxica sobre algunas líneas celulares cancerígenas.

Los insectos *S. zeamais* (gorgojo del maíz) y *T. castaneum* (gorgojo rojo de la harina), afectan los granos y semillas pos cosecha (almacenamiento), y causan pérdidas millonarias a la industria agricultora.¹⁷ Los resultados de la actividad antialimentaria para extractos y fracciones de *P. prostrata* presentados en la tabla 4, muestran entre nula y baja la disuasión alimentaria frente a estos dos insectos a las concentraciones trabajadas (1000 y 500 ppm), siendo *T. Castaneum* el insecto más sensible al tratamiento con las fracciones y extractos de *P. prostrata*.

Las dos sustancias aisladas e identificadas (escualeno y β -1-O-metoxiglucopiranososa) mediante el estudio fitoquímico realizado en el extracto de los frutos de *P. prostrata*, no habían sido aisladas en la especie, por lo que este es el primer reporte de estos metabolitos para la especie y para la familia Ericaceae. En el estudio fitoquímico no se pudieron aislar otros compuestos debido a la baja cantidad de estos y en algunos casos a la complejidad de las fracciones. Los compuestos aislados no presentaron resultados promisorios en los ensayos de actividad biológica realizados.

El presente trabajo realiza aportes al conocimiento químico y de las propiedades biológicas de la especie *P. prostrata*, mediante el aislamiento e identificación de dos sustancias nuevas para la especie, y la determinación de la actividad antioxidante de algunos extractos y fracciones.

AGRADECIMIENTOS

Al grupo de Bioprospección y Biotecnología de la Universidad de Bogotá "Jorge Tadeo Lozano" por la financiación del proyecto. Al Jardín botánico de Bogotá "José Celestino Mutis", al biólogo Héctor Lancheros por la recolección e identificación de la especie. Al grupo de Productos Naturales Vegetales de la Universidad Nacional de Colombia (Sede Bogotá) por su asesoría en los ensayos de actividad biológica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salinas NR y Betancur J. Las ericáceas de la vertiente pacífica de Nariño, Colombia (1ra ed.). Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales e Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; 2005. pp. 12-29.
2. Jun Li, Fu Li, Yuan-Yuan L, Xiao-Jian S, Cui-Ping H, Xue-Wen L. A new dilactone from the seeds of *Gaultheria yunnanensis*. *Fitoterapia*. 2010;81(1):35-7.
3. Li-Quan W, Guo-Wei Q, Gang L, Kin-Fai C. *Grayanoids* from *Pieris formosa*. *Phytochemistry*. 1998;49(7):2045-8.
4. Li-Quan W, Guo-Wei Q, Shao-Nong Chen, Can-Jun Li. Three diterpene glucosides and a diphenylamine derivative from *Pieris formosa*. *Fitoterapia*. 2001;72(7):779-87.
5. Yuhua C, Qingcui C, Jiannong Y. Chromatographic and electrophoretic methods for pharmaceutically active compounds in *Rhododendron dauricum*. *Journal of Chromatography B*. 2004;812(1-2):231-40.
6. Schultes R. The botanical and chemical distribution of hallucinogens. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 1970;21:571-98.
7. Shigeki H, Iwao M, Masaru K, Orlando M y Mariano C. Sesquiterpenes from *Pernetty afurens*. *Phytochemistry*. 1985;24(10):2317-23.
8. Correa J, Bernal H. Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello. Tomo 7. Bogotá: Convenio Andrés Bello en coedición con la Junta de Acuerdo de Cartagena, la Corporación Andina de Fomento y el Ministerio de Educación y Ciencia de España; 1992. pp. 156-180.
9. García H. Flora Medicinal de Colombia, Botánica Médica. (3ra ed). Bogotá: Tercer Mundo Ediciones; 1992. pp.165-179.
10. Vicente T, Omar M, Paola V, Giovanni V, Chabaco A, Tomás Z. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchipec, Ecuador. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;111(1):63-81.
11. Sanabria A. Colección de especies vegetales y análisis fitoquímico preliminar. Bogotá: Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia; 1999. pp.134-190.
12. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Perú: Pontificia Universidad Católica; 1988. pp.73-150.

13. Jing D, Wangyuan C, Guangzhong Y. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*. 2011;125(4):1430-5.
14. Argolo AC, Sant'Ana AE, Pletsch M, Coelho LC. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. *Bioresource Technology*. 2004; 95(2):229-33.
15. Mc Laughlin J, Rogers L, Anderson J. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal*. 1998; 32(2):513-24.
16. Ticona V, Nieta M, Irahola P, Gimenez A. Pruebas biológicas destinadas a evaluar citotóxicos como indicadores de potenciales antitumorales. *Biofarbo*. 1998; 6(6):11-16.
17. Xie Y, Bodnaryk R. A rapid and simple flour-disk bioassay for testing substances active against stored-product insects. *The Canadian Entomologist*. 1996;128(5):865-75.
18. Liua Z, Goh S, Hob S. Screening of Chinese medicinal herbs for bioactivity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*. 2007; 43(3):290-296.
19. Häkkinen S, Kärenlampi S, Heinonen I, Mykkänen HM, Törrönen AR. Content of the Flavonols Quercetin, Myricetin, and Kaempferol in 25 Edible Berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999;47(6):2274-9.
20. Soler-Rivas C, Espín JC, Wichers HJ. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochemical Analysis*. 2000;11(5):330-8.
21. Khurshid A, Aziz AR, Abdullahil B, Golam S. Chemical constituents of *Hemigraphis hirta* T. Anders (Acanthaceae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2002;5(11):1264-6.
22. Mattias U, Petri T, Matthias N, Rainer S. Complete assignments of the ¹H and ¹³C chemical shifts and JH, H coupling constants in NMR spectra of D-glucopyranose and all D-glucopyranosyl-D-glucopyranosides. *Carbohydrate Research*. 2008;343(1):101-12.

Recibido: 7de abril de 2013.

Aprobado: 7 de febrero de 2014.

Lic. Carlos Mario Rincón Aguilar. Universidad Distrital Francisco José de Caldas.
Dirección: Carrera 4 No. 22-61 - Módulo 7A - Sexto piso. Teléfono: 2427030 Ext. 1886. Correo electrónico: camrinconag@unal.edu.co