

**EXTRACCIÓN, PURIFICACIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL  
ISOESPINTANOL, DE *Oxandra xylopioides* (ANNONACEAE)**

**JULIÁN ANDRÉS SALAS PÁJARO**



**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
MONTERÍA  
2020**

**EXTRACCIÓN, PURIFICACIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL  
ISOESPINTANOL, DE *Oxandra xylopioides* (ANNONACEAE)**

**JULIÁN ANDRÉS SALAS PÁJARO**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Químico**

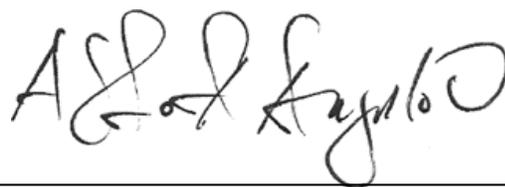
**DIRECTOR:**

**ALBERTO ANTONIO ANGULO ORTIZ, M .Sc.**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
MONTERÍA  
2020**

## NOTA DE ACEPTACIÓN

El trabajo de grado en modalidad monografía titulado “**EXTRACCIÓN, PURIFICACIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL ISOESPINTANOL, DE *Oxandra xylopioides* (ANNONACEAE)**”, realizado por el estudiante **JULIÁN ANDRÉS SALAS PÁJARO**, cumple con los requisitos exigidos por la facultad de ciencias básicas para optar el título de químico y ha sido aprobado.



---

Director del trabajo de grado.

**ALBERTO ANTONIO ANGULO ORTIZ, M .Sc.**

---

Jurado

**FERNIS JOSE MARIN SEVERICHE, M .Sc.**

---

Jurado

**MIGUEL SEGUNDO GUZMAN NAVAS, M .Sc.**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo se lo dedico de manera especial a mi madre Julia Patricia Pájaro Milanés quien han sido el pilar fundamental en la construcción de mi vida, sentando en mí las bases de responsabilidad, deseos de superación, y que a lo largo de mi vida me motivo constantemente para alcanzar mis metas y de la cual me siento muy orgulloso.

A mi familia, que me apoya incondicionalmente. A mis amigos y compañeros por la confianza brindada y por todos quienes me han ayudado a crecer como persona.

## **AGRADECIMIENTOS**

Doy gracias a Dios primero, por su presencia en mi vida, por la fuerza, porque sin ella nada sería posible.

Agradezco de una manera infinita a Julia Patricia Pájaro Milanés, quien aparte de ser mi mamá ha sido mi mejor amiga, quien me ha apoyado en todo momento siempre y me ha tenido la suficiente confianza. Que a pesar de todo, siempre ha corregido mis errores y me ha hecho entrar en razón. Gracias a ti soy quien soy ahora. A William Izquierdo, por ser el apoyo de mi madre y su compañero de vida. A mi hermano William Jesús, por ser un gran amigo para mí, y por ser uno de las personas más importantes en mi vida.

A mis abuelos, tíos, primos y a todos mis familiares por su cariño constante, su ayuda y por creer siempre en mí. Gracias por todo. Los amo mucho.

A mis amigos Leandro Fuentes, Alberto Barrera, Manuela Gómez, Ana Ortega, Samarys Flórez, Diana Quintero, Karen Hernández, Cristian Garcés y Lina Gonzales, por estar conmigo estos años, por su apoyo incondicional, y por compartir momentos de alegría y tristeza. Gracias por demostrarme que cuento con ustedes.

Al Profesor Alberto Angulo por su apreciable orientación, oportunidad, amistad, paciencia y el valioso conocimiento transmitido a lo largo de este trabajo.

A los compañeros del Laboratorio de Productos Naturales Mary Montaña, Lucas Humanez, Rosa Pastrana, Karina Causil, Vanessa Montes, Luisa Mercado, Camilo Salgado, Jamer Martínez, Camilo Cárdenas, Juan José Morelo, Hernando Guerrero y Neira Osorio, por su amistad y gran coexistencia.

A todos los docentes del departamento de química de la Universidad de Córdoba, por las experiencias compartidas, enseñanzas, consejos y conocimientos brindados para impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.

Finalmente, me gustaría agradecer a todos aquellos que, de cualquier forma, contribuyeron directa o indirectamente a este trabajo y estuvieron conmigo a lo largo de esta trayectoria. ¡Muchas gracias!

## TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION .....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. OBJETIVO GENERAL .....	14
2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	14
3. METODOLOGIA .....	15
4. GENERALIDADES .....	16
4.1. LA FAMILIA ANNONACEAE .....	16
4.1.1. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LA FAMILIA ANNONACEAE .....	18
4.1.2. UBICACION GEOGRAFICA .....	19
4.1.3. USOS ETNOBOTANICOS DE LA FAMILIA ANNONACEAE.....	19
4.1.4. CLACIFICACIÓN TAXONOMICA .....	20
4.1.5. LAS ANNONACEAES EN COLOMBIA .....	21
4.1.6. CONSTITUYENTES FITOQUIMICOS .....	21
4.2. GENERO OXANDRA .....	25
4.2.1. CONSTITUYENTES FITOQUÍMICOS .....	25
4.3. <i>Oxandra xylopioides</i> .....	28
4.3.1. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS Y UBICACION .....	28
4.3.2. CONSITUYENTES FITOQUIMICOS .....	29
5. ISOESPINTANOL .....	31
5.1. METODOS DE EXTRACCION Y PURIFICACION .....	31
5.1.1. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA .....	31
5.1.2. HIDRODESTILACIÓN .....	32
5.2. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS .....	34
5.2.1. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	34
5.2.2. ACTIVIDAD CITOTÓXICA .....	39
5.2.3. ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA .....	42
5.2.4. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA.....	43
5.2.5. ACTIVIDAD INSECTICIDA .....	44
5.2.6. ACTIVIDAD VASODILATADORA.....	45
6. CONCLUSIONES .....	48
7. REFERENCIAS.....	49

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Hojas y frutos de la especie <i>Annona squamosa</i> .....	18
<b>Figura 2.</b> Distribución mundial de la familia Annonaceae [21].....	19
<b>Figura 3.</b> Tronco, ramas y hojas de la especie <i>Oxandra xylopioides</i> .....	28
<b>Figura 4.</b> Distribución geográfica de <i>Oxandra xylopioides</i> en Colombia.....	29
<b>Figura 5.</b> Formación de peróxidos en la oleína de palma suplementados con isoespintanol, hidroxitoluenobutilado y control (sin antioxidante) [53].....	36
<b>Figura 6.</b> Capacidad antioxidante de radicales (ORACs) para isoespintanol y butilhidroxitolueno [53].....	36
<b>Figura 7.</b> Inhibición de especies reactivas de oxígeno por el isoespintanol en semen equino congelado-descongelado [59].....	37
<b>Figura 8.</b> Inhibición de la producción de especies reactivas de oxígeno por el timol en semen equino congelado-descongelado [59].....	38
<b>Figura 9.</b> Efectos del isoespintanol, bromuro de isoespintanol, e isoespintanol desmetilado sobre la viabilidad celular de las células polimorfonucleares.....	40
<b>Figura 10.</b> Efectos del isoespintanol, bromuro de isoespintanol, e isoespintanol desmetilado sobre la viabilidad celular de los macrófagos RAW 264,7 a tres diferentes concentraciones [48].....	41
<b>Figura 11.</b> Parte superior: trazados representativos de las contracciones inducidas en los anillos aórticos de control y tratados con isoespintanol. Parte inferior: resultados promedio de la fuerza máxima de contracción (F / W) y T-50 de relajación [54].....	46
<b>Figura 12.</b> A: Resultados promedio de la fuerza máxima de contracción (F / W). B: t para el control y los anillos aórticos ISO en presencia de L-NAME vs sin L-NAME [54].....	47

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Lista de los géneros de Annonaceae actualmente reconocidos.....	16
<b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica de la familia Annonaceae .....	20
<b>Tabla 3.</b> Recuperación de volátiles por tratamiento .....	33
<b>Tabla 4.</b> Resultados de los ensayos de actividad antioxidante del isoespintanol y butilhidroxitolueno (BHT).....	35
<b>Tabla 5.</b> Capacidad de captación de radicales (ORAC) para isoespintanol y butilhidroxianisol (BHA).....	39
<b>Tabla 6.</b> Actividad antifúngica del Isoespintanol contra hongos.....	43
<b>Tabla 7.</b> Mortalidad de larvas de Spodoptera frugiperda en respuesta a la acción biocida. .....	44

## RESUMEN

La Familia Annonaceae es la más sobresaliente en número de especies del orden Magnoliales con alrededor de 2500 especies. Oxandra es un género perteneciente a esta familia, con aproximadamente 27 especies que se distribuyen desde América Central y las Antillas hasta la Amazonía. 10 de estas especies se encuentran en Colombia, ubicadas en la zona amazónica, andina, caribe y pacífica. El isoespintanol es un monoterpeno aislado de las hojas de *Oxandra xylopioides* con disolventes de baja polaridad. El objetivo del presente trabajo fue hacer una recopilación sobre los métodos de extracción, purificación y actividades biológicas del isoespintanol. En las investigaciones recopiladas se encontró que hasta el momento solo se han reportado dos maneras de extraer este compuesto, por cromatografía en columna e hidrodestilación. Además, este metabolito secundario reporto actividad antioxidante, antifúngica, citotóxica, insecticida, antiespasmódica y vasodilatadora con favorables resultados, de los cuales se hizo una breve descripción.

## ABSTRACT

The Annonaceae Family is the most outstanding in number of species of the Magnoliales order with around 2500 species. Oxandra is a genus belonging to this family, with approximately 27 species that are distributed from Central America and the Antilles to the Amazon. 10 of these species are found in Colombia, located in the Amazon, Andean, Caribbean and Pacific zones. Isospintanol is a monoterpene isolated from Oxandra xylopioides leaves with low polarity solvents. The objective of the present work was to compile a compilation on the methods of extraction, purification and biological activities of isoespintanol. In the collected investigations it was found that so far only two ways of extracting this compound have been reported, by column chromatography and hydrodistillation. In addition, this secondary metabolite reported antioxidant, antifungal, cytotoxic, insecticidal, antispasmodic and vasodilator activity with favorable results, of which a brief description was made.

## 1. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos, la humanidad siempre ha utilizado las plantas como una opción para contrarrestar muchos tipos de enfermedades. Actualmente la medicina herbaria se caracteriza por sus bajos índices de toxicidad y su economía, en comparación con los productos de síntesis; esta es utilizada por el 80 % de la población mundial, es decir, que aproximadamente, cuatro mil millones de personas utilizan las plantas como principal remedio medicinal [1-2]. Esto ha despertado un creciente interés en el porqué de las propiedades medicinales de las plantas, gracias a la inocuidad y eficacia que ellas presentan, lo que ha llevado a diversos países, principalmente a los desarrollados, a explorar posibilidades de utilizarlas en la atención primaria de la salud [3].

Colombia es uno de los 12 países más ricos en biodiversidad a nivel mundial, debido a que cuenta con una gran variedad climática y geológica, así mismo posee el mayor número de ecosistemas representados en un mismo territorio. Es el segundo país de Latinoamérica con mayor número de registros en cuanto a diversidad de especies de plantas. Se han reportado 50.000 especies, de las cuales, al menos 6.000 poseen propiedades medicinales [4-5].

En la actualidad, la resistencia a los antimicrobianos por parte de los microorganismos responsables de muchas enfermedades ha adquirido gran importancia, debido a la alta tasa de mortalidad y morbilidad presentada en los últimos años. Esta resistencia se produce cuando los microorganismos, ya sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios en respuesta al uso continuado de los medicamentos, y por lo tanto, dejan de ser eficaces, a causa de numerosos factores como el uso indiscriminado e irracional de antimicrobianos para usos no médicos, la administración de diversidad de fármacos a los pacientes, y la automedicación, entre otros. Esto demuestra que la utilización de antimicrobianos a gran escala, como en los hospitales, ha causado que los microorganismos desarrollen ciertos mecanismos de resistencia que hacen que la medicina quede prácticamente sin alternativas para el tratamiento de las infecciones. [6-7]. Por otro

lado, la modernidad y los avances tecnológicos y científicos, incremento la producción de medicamentos sintéticos y otra serie de productos que han ido desplazando cada vez más el uso directo de las plantas. También hay que tener en cuenta la pérdida del hábitat como principal factor del desgaste de la biodiversidad y el agotamiento de los recursos naturales **[8]**.

Los estudios realizados a numerosas especies de la flora en los últimos años, han tenido favorables resultados, logrados mediante ensayos de actividad biológica *in vitro* en el laboratorio, como antioxidante y actualmente, en antifúngica y antibacteriana **[9]**. Estos logros incitan a la profundización y ampliación de los estudios hacia las especies vegetales como potenciales fuentes de metabolitos secundarios (alcaloides, terpenoides, flavonoides, entre otros) con gran poder farmacológico, y por ende se deberían exigir medidas de protección hacia la flora, que recientemente ha sido gravemente destruida, especialmente, por la contaminación y las practicas forestales agrícolas **[10-14]**.

Por lo anterior se justifica fortalecer, mantener y expandir el estudio químico en especies vegetales pertenecientes a la flora colombiana, con el objetivo de dar a conocer estudios que tuvieron resultados positivos de distintas actividades biológicas y que puedan solucionar diversos factores que afectan el deterioro de la salud mediante fitoterapias efectivas y con bajos efectos adversos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GENERAL

- Realizar una revisión bibliográfica de los métodos de extracción y purificación del isoespintanol, originario de la especie *Oxandra xylopioides*, así como, su actividad biológica.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Buscar, recolectar y clasificar información relacionada con la especie *Oxandra xylopioides*, perteneciente a la familia Annonaceae.
- Examinar los compuestos aislados reportados en los estudios realizados a la especie *Oxandra xylopioides*.
- Identificar los métodos de extracción y purificación del isoespintanol, metabolito reportado en la especie *Oxandra xylopioides*.
- Examinar la variedad de resultados ya tenidos de las evaluaciones biológicas del isoespintanol en los últimos 5 años.

### 3. METODOLOGIA

Se realizó una revisión sistemática de documentos y estudios científicos de sociedades acreditadas, universidades, bases de datos y revistas tanto en Colombia como en el contexto internacional dedicadas al estudio de especies de plantas pertenecientes a la familia Annonaceae y siendo más específicos, a estudios fitoquímicos de la especie *Oxandra xylopioides*. Se buscó tanto en español, inglés y portugués. En la búsqueda de literatura se incluyó todo tipo de artículos, libros, tesis, trabajos de grados, monografías y revisiones aportados por las diferentes sociedades y asociaciones profesionales que han realizado estudios en esta especie sobre métodos de extracción, aislamiento y purificación de metabolitos secundarios en esta especie, así como sus diferentes evaluaciones biológicas. De los documentos, artículos, tesis y revisiones analizadas se extrajo la información relevante y de mayor interés.

## 4. GENERALIDADES

### 4.1. LA FAMILIA ANNONACEAE

La Familia Annonaceae es la más sobresaliente en número de especies dentro del orden Magnoliales junto con otras familias como Degeneriaceae, Eupomatiaceae, Himantandraceae, Magnoliaceae y Myristicaceae, siendo esta la más grande del grupo, en cuanto a número de géneros y de especies. Posee alrededor de 2.500 especies descritas en todo el mundo, repartidas en unos 130 géneros [15-17]. Otros investigadores opinan que existen 107 géneros, con aproximadamente 2.400 especies [18].

**Tabla 1.** Lista de los géneros de Annonaceae actualmente reconocidos.

Géneros	N° de especies	Géneros	N° de especies	Géneros	N° de especies
<i>Afroguatteria</i>	2	<i>Excellia</i>	1	<i>Oxandra</i>	35
<i>Alphonsea</i>	30	<i>Fissistigma</i>	80	<i>Pachypodanthium</i>	7
<i>Ambavia</i>	2	<i>Fitzalamia</i>	1	<i>Papualthia</i>	22
<i>Anaxagorea</i>	27	<i>Friesodielsia</i>	56	<i>Petalolophus</i>	1
<i>Ancana</i>	2	<i>Froesiodendron</i>	4	<i>Phaeanthus</i>	30
<i>Annickia</i>	10	<i>Fusaea</i>	4	<i>Phoencanthus</i>	1
<i>Annona</i>	100	<i>Gilbertiella</i>	1	<i>Piptostigma</i>	17
<i>Anomianthus</i>	4	<i>Goniothalamus</i>	124	<i>Platymitra</i>	2
<i>anonidium</i>	7	<i>Greenwayodendron</i>	2	<i>Polyalthia</i>	150
<i>Artabotrys</i>	141	<i>Guamia</i>	1	<i>Polyaulax</i>	1
<i>Asimina</i>	31	<i>Guatteria</i>	390	<i>Polyceratocarpus</i>	9
<i>Asteranthe</i>	4	<i>Guatteriella</i>	2	<i>Popowia</i>	134
<i>Balonga</i>	1	<i>Guatteriopsis</i>	6	<i>Porcelia</i>	7
<i>Bocagea</i>	35	<i>Haplostichanthus</i>	5	<i>Pseudartabotrys</i>	1
<i>Bocageopsis</i>	4	<i>Heteropetalum</i>	2	<i>Pseudephedranthus</i>	1
<i>Boutiquea</i>	1	<i>Hexalobus</i>	17	<i>Pseudoxandra</i>	10
<i>Cananga</i>	7	<i>Hornschuchia</i>	13	<i>Pseuduvaria</i>	40

<i>Cardiopetalum</i>	3	<i>Isolona</i>	28	<i>Pyramidanthe</i>	1
<i>Chieniodendron</i>	1	<i>Letestudoxa</i>	3	<i>Raimondia</i>	7
<i>Cleistochlamys</i>	1	<i>Lettowianthus</i>	1	<i>Rhodosphaera</i>	1
<i>Cleistopholis</i>	10	<i>Malmea</i>	22	<i>Richella</i>	24
<i>Crematosperma</i>	23	<i>Marsypopetalum</i>	2	<i>Rollinia</i>	105
<i>Cyantocalyx</i>	42	<i>Meiocarpidium</i>	2	<i>Ruizodendron</i>	1
<i>Cyatostemma</i>	18	<i>Meiogyme</i>	20	<i>Sageraea</i>	9
<i>Cymbopetalum</i>	35	<i>Melodorum</i>	87	<i>Sanrafaelia</i>	1
<i>Dasoclema</i>	1	<i>Mezzettia</i>	8	<i>Sapranthus</i>	11
<i>Dasymaschalon</i>	19	<i>Mezzettiopsis</i>	2	<i>Schefferomitra</i>	1
<i>Deeringotamus</i>	2	<i>Miliusa</i>	40	<i>Sphaerocoryne</i>	7
<i>Dendrokingstonia</i>	3	<i>Mischogyme</i>	2	<i>Stelechocarpus</i>	7
<i>Dennettia</i>	1	<i>Mitrella</i>	8	<i>Stenanona</i>	3
<i>Desmopsis</i>	20	<i>Mitrephora</i>	40	<i>Tetrameranthus</i>	6
<i>Desmos</i>	54	<i>Mkilua</i>	1	<i>Tetrapetalum</i>	2
<i>Diclinanona</i>	3	<i>Monabthotaxis</i>	56	<i>Toussaintia</i>	3
<i>Dielsiothammus</i>	1	<i>Monocarpia</i>	5	<i>Tridemeris</i>	3
<i>Disepalum</i>	10	<i>Monocyclanthus</i>	1	<i>Trigynaea</i>	20
<i>Duckeanthus</i>	1	<i>Monodora</i>	30	<i>Trivalvaria</i>	9
<i>Duguetia</i>	120	<i>Neostenanthera</i>	11	<i>Unonopsis</i>	44
<i>Ellipeia</i>	15	<i>Neouvaria</i>	2	<i>Uvaria</i>	320
<i>Ellipeiopsis</i>	2	<i>Oncodostigma</i>	6	<i>Uvariastrum</i>	10
<i>Enantia</i>	9	<i>Onychopetalum</i>	5	<i>Uvariadendron</i>	18
<i>Enicosanthum</i>	19	<i>Ophrypetalum</i>	1	<i>Uvariopsis</i>	17
<i>Ephedranthus</i>	6	<i>Oreomitra</i>	1	<i>Woodiellantha</i>	1
<i>Euphomatia</i>	4	<i>Orophea</i>	101	<i>Xylopia</i>	150

#### 4.1.1. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LA FAMILIA ANNONACEAE

Una característica importante de esta familia y que la hace diferente de otras, es que muchas de sus especies contienen en su corteza, hojas y partes florales conductos para el transporte de aceites, además, muchas de las especies poseen ramas largas y caedizas, donde se sitúan las hojas alternas, simples, exestipuladas, pecioladas, enteras y con venación pinnada, además de poseer una morfología ovada, obovada o lanceolada [19-21].



**Figura 1.** Hojas y frutos de la especie *Annona squamosa*.

<https://antropocene.it/es/2020/03/22/annona-squamosa/>

También puede mencionarse que sus tallos son leñosos, ramificados, erectos y duros. Sus flores pueden presentarse como inflorescencias cimosas o como flores solitarias, compuestas por tres meras y tres sépalos casi siempre libres raramente connatos. Sus frutos por lo general son bayas con carpelos numerosos libres o fusionados, semillas grandes [18-21].

#### 4.1.2. UBICACION GEOGRAFICA

Con respecto a su ubicación geográfica, se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales de ambos hemisferios; desde el Nuevo y Viejo mundo, hasta el norte de Australia y las islas del Pacífico, habitando en los bosques siempre verdes de tierras bajas [19-20].

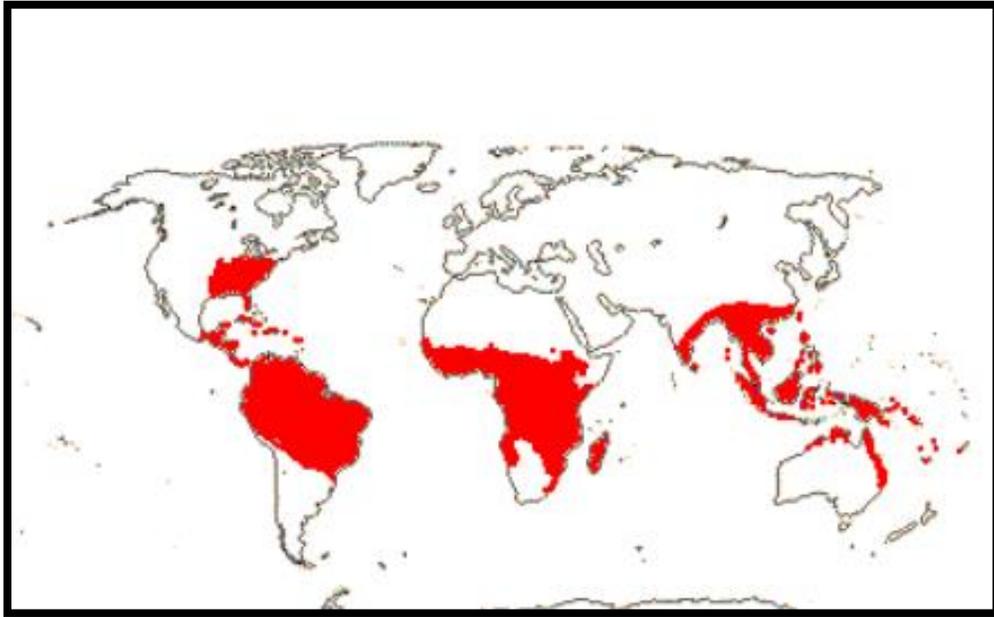


Figura 2. Distribución mundial de la familia Annonaceae [21].

#### 4.1.3. USOS ETNOBOTANICOS DE LA FAMILIA ANNONACEAE

Las especies pertenecientes a esta familia cuentan con una considerable notoriedad en diferentes partes del mundo, en aspectos como la medicina y la economía. Por ejemplo, en Brasil el jugo de la hoja macerada de *Annona muricata* es usada para la artritis, el reumatismo y la neuralgia [22]. Asimismo, se utiliza fruta fresca de *Annona dioica* en la cicatrización de heridas en heridas frescas [23]. En la parte noroeste de Brasil, las hojas y ramitas de *Duguetia chrysocarpa* se muelen juntas y el extracto de esta mezcla se usa como remedio para enfermedades inflamatorias y úlceras gastrointestinales [24-25].

La especie *Cananga odorata* comúnmente conocida como árbol del perfume es muy famosa en esta región debido a su fuerte actividad antiinflamatoria. Las heridas frescas se lavan con el extracto de la corteza y decocción para reducir la inflamación y facilitar la cicatrización de la herida [26].

En las selvas tropicales de Malasia peninsular, las especies de esta familia son famosas por su diversidad ecológica, han sido el origen de numerosos remedios caseros para enfermedades inflamatorias. Por ejemplo, en Sabah y Sarawak, en la parte occidental de Malasia, varias especies de Annonaceae, entre ellas *Enicosanthellum pulchrum*, *Friesodielsia latifolia*, *Uvaria grandis*, *Uvaria rufa*, se utilizan como remedio para el dolor corporal generalizado y antiinflamatorio [27-28].

*Xylopiya aethiopyca*, es utilizada en todo el continente africano como estimulante o aditivo de otros remedios en el tratamiento de la tos, fiebre y enfermedades cutáneas o digestivas [29].

Estos diferentes usos muestran las propiedades biológicas que poseen las especies que pertenecen a la familia Annonaceae y por consecuencia su variedad estructural.

#### 4.1.4. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La clasificación taxonómica de la familia Annonaceae se puede observar en la siguiente tabla:

**Tabla 2.** Clasificación taxonómica de la familia Annonaceae

Taxonomía	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Magnoliales
Familia	Annonaceae

#### 4.1.5. LAS ANNONACEAES EN COLOMBIA

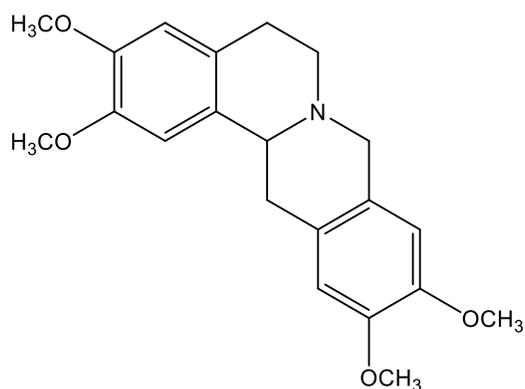
En Colombia se reportó para la familia Annonaceae alrededor de 240 especies pertenecientes a 30 géneros. La familia está distribuida en todo el país, la mayor diversidad de especies se encuentra en las regiones amazónicas, seguida la región pacífica y por última la andina. De los géneros de la familia Annonaceae encontrados en Colombia están: *Xylopia* (22 spp), *Annona* (26 spp), *Duguetia* (27 spp), *Anaxagorea* (11 spp), *Cananga* (1 spp), *Guatteria* (74 spp), *Rollinia* (11 spp), *Oxandra* (17), *Unonopsis* (13 spp), *Crematosperma* (4), *Cymbopetalum* (6 spp), *Desmopsis* (1), *Pseudoxandra* (4 spp), *Ephedranthus* (2 spp), *Klarobelia* (2 spp), *Mosanona* (3 spp), *Porcelia* (2 spp), *Malmea* (1 spp), *Tetrameranthus* (3 spp), *Stenanona* (1 spp), *Bocageopsis* (2 spp), *Raimondia* (2 spp), *Fusaea* (2 spp), *Pseudomalmea* (2 spp), *Trigynaea* (1 spp), *Guatteriopsis* (1 spp), *Diclinanona* (2 spp), *Froesiodendron* (2 spp), *Guatteriella* (1 spp), *Ruizodendron* (1 spp) [16].

#### 4.1.6. CONSTITUYENTES FITOQUIMICOS

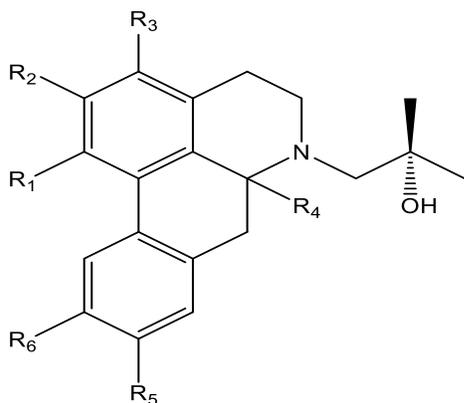
Algunas especies de esta familia son utilizadas en la medicina tradicional para tratar todo tipo enfermedades, y gracias a los estudios presentados en los últimos años, de sus metabolitos secundarios, como alcaloides isoquinolínicos, flavonoides C-metilados y C-bencilados, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenoides ciclicos, lignanos y acetogeninas, los cuales se les ha asociado diversas propiedades terapéuticas, tales como: antimalárica [30], citotoxicidad [31], antimicrobiana [32], antifúngica [33], antioxidante [34] e insecticida [35].

A continuación, se mostraran estudios fitoquímicos y bioactividades de algunas especies pertenecientes a esta familia Annonaceae, destacando los más importantes y de mayor interés para esta recopilación:

Un estudio del extracto etanólico de *Annona purpurea* mostró grandes resultados antibacterianos sobre las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Pseudonoma aeruginosa*; atribuyéndose tal efecto a cuatro alcaloides presentes en el extracto, xilopinina **(1)**, N-2-metil-2-propanol-10-hidroxinorpurpureina **(2)**, N-2-metil-2-propanol-3-hidroxinorpurpureina **(3)**, N-2-metil-2-propanol-3, 10-dihidroxinorpurpureina **(4)**, N-2-metil-2-propanol-3,9,10-trihidroxinorpurpureina **(5)**. Donde los últimos cuatro alcaloides, son aporfínicos [17].

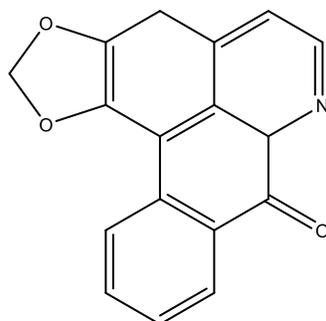


**(1)**



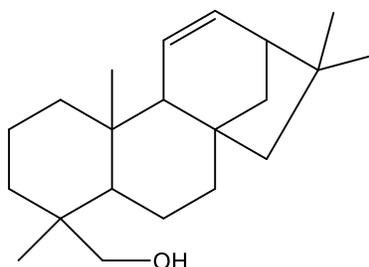
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
<b>(2)</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>(3)</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>(4)</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>(5)</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OH	OH

Por otro lado, las actividades antifúngicas de los extractos metanólicos y hexánicos de las hojas, corteza y raíces de *Sapranthus microcarpus* fueron evaluadas frente a 6 hongos. Los dos extractos inhibieron el crecimiento de los seis fitopatógenos. Donde además, se aisló y se identificó el alcaloide liriodenina **(6)**, mostrado como uno de los metabolitos antifúngicos **[33]**.



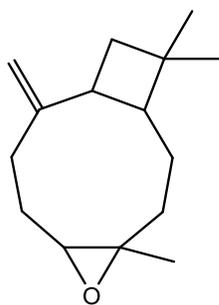
**(6)**

Al extracto hexánico de las ramas finas de la especie *Fusaea longifolia*, se evaluó su actividad tripanocida, reportando favorables resultados. El estudio sugirió que esta actividad farmacológica está relacionado por la presencia del diterpeno curano **(7)** en el extracto **[36]**.

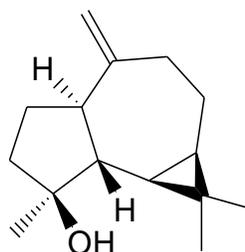


**(7)**

Del estudio fitoquímico del aceite esencial de *Guatteria elliptica*, se demostró la presencia de dos compuestos que eran mayoritarios: el óxido de cariofileno **(8)** y el espatulenol **(9)**. Este extracto tuvo una gran actividad antitumoral frente a células MCF-7. **[37]**

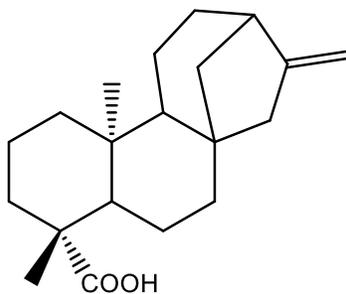


**(8)**

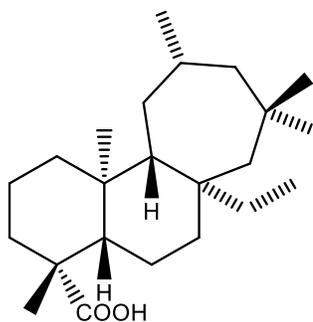


**(9)**

Así mismo, el estudio a la corteza del tallo de *Xylopiya frutescens* condujo al aislamiento e identificación de una mezcla de ácido diterpenos: ácido ent-caur-16-en-19-oico **(10)** y el ácido ent-traquiloban-19-oico **(11)**. Son los primeros diterpenos reportados para la especie **[38]**.



**(10)**



**(11)**

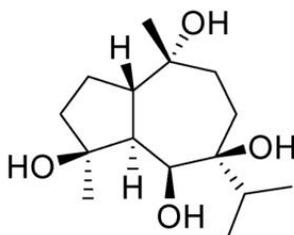
## 4.2. GENERO OXANDRA

*Oxandra* es un género perteneciente a esta gran familia con aproximadamente 35 especies que se distribuyen desde América Central y las Antillas hasta la Amazonía. En el 2001, se reportaron 10 especies del género *Oxandra* en Colombia, donde actualmente 6 de ellas están localizadas en la región de Araracuara (zona amazónica) y las 4 restantes en la región Andina y Caribe [16]. Aunque con el pasar de los años, muchos centros de investigación han realizado expediciones botánicas a zonas inexploradas en el territorio nacional, por lo que se han encontrado nuevas y antiguas especies. Entre las especies están: *O. espintana*, *O. leucodermis*, *O. longipetala*, *O. euneura*, *O. macrophylla*, *O. mediocris*, *O. oblongifolia*, *O. panamensis*, *O. polyantha*, *O. venezuelana*, *O. xylopioides*, *O. bolivarensis*, *O. rheophytica*, *O. asbeckii*, *O. Krukoffi*, *O. riedeliana*, *O. sphaerocarpa* [47].

### 4.2.1. CONSTITUYENTES FITOQUÍMICOS

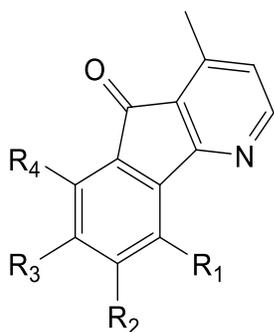
En las especies del genero *Oxandra* se han aislado una variedad de metabolitos secundarios donde la mayoría han presentado grandes resultados en ensayos de actividad biológica *in vitro*. El estudio de algunas especies pertenecientes al género *Oxandra* se muestra a continuación:

En las hojas de *Oxandra sessiliflora* R. E. Fries, se han aislado terpenos como el espatulenol (9) [39]. Además, estudios recientes del 2020 demostraron la presencia un nuevo compuesto, el 4 $\beta$ , 6 $\beta$ , 7 $\beta$ , 10 $\alpha$ -tetrahidroxi-guaieno (12) [40].



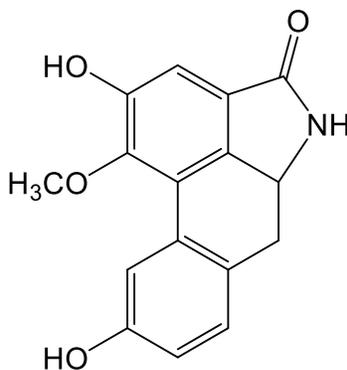
(12)

A partir de la corteza de *Oxandra longipetala* se aislaron e identificaron cuatro alcaloides de tipo azafluorenona: O-metilmacondina (**13**), aislado por primera vez como producto natural, isoursulina (**14**), ursulina (**15**) y macondina (**16**) [41].



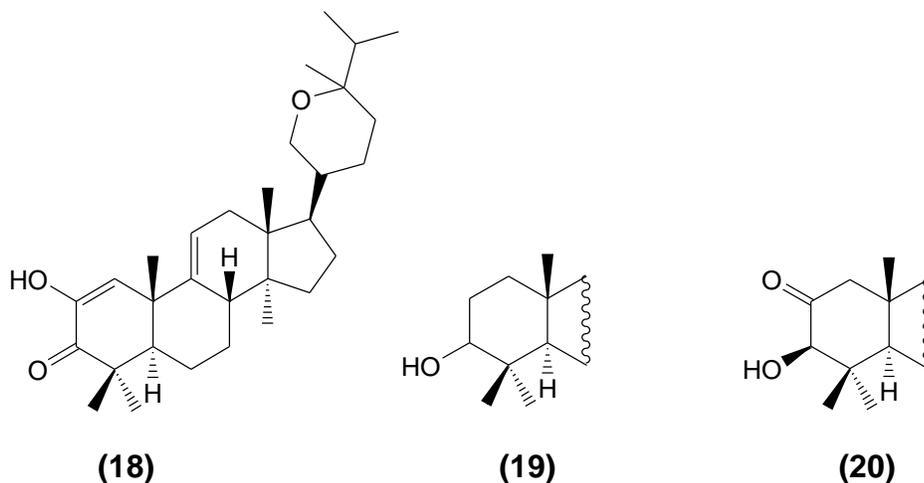
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<b>(13)</b>	H	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
<b>(14)</b>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H
<b>(15)</b>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H
<b>(16)</b>	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>

Del extracto en acetato de etilo de la corteza de *Oxandra asbeckii* se aisló el compuesto Aristolactama AIIIA (**17**), el cual en una actividad *in vitro* fue el mayor inhibidor de la de las proteína quinasas DYRK1A y CDK1 [42].

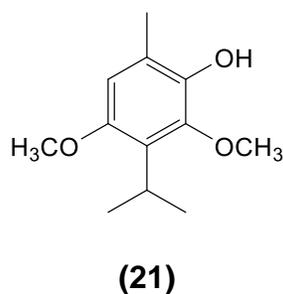


**(17)**

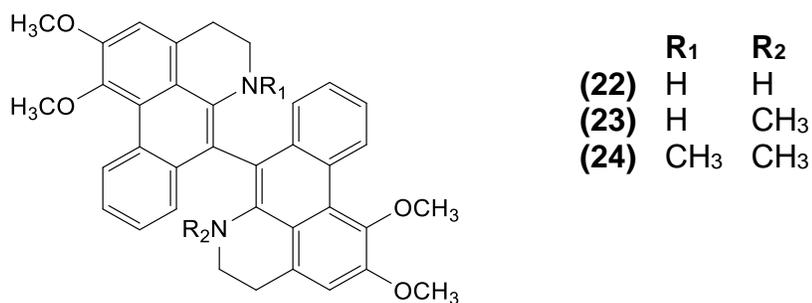
Otros estudios más profundos a las hojas a esta misma especie, permitieron el aislamiento de tres metiltriterpenos 2,3-dioxo-oxandrano (**18**), 3-Hidroxioxandrano (**19**) y 3-Hidroxioxandran-2-ona (**20**) [43].



De *Oxandra espintana* se han aislado 4 monoterpenos, entre ellos el espintanol **(21)** el cual posee actividad antiparasitaria *in vitro* contra 20 cepas de *Trypanosma cruzi* y 12 cepas *Lisbmania spp* [44].



Los estudios a la corteza de la especie *Oxandra cf. major* mostraron la presencia de tres alcaloides del tipo bisdehidroaporfínicos: urabaina **(22)**; N-metilurabaina **(23)** y N, N'-dimetilurabaina **(24)** [45].



### 4.3. *Oxandra xylopioides*

#### 4.3.1. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS Y UBICACION

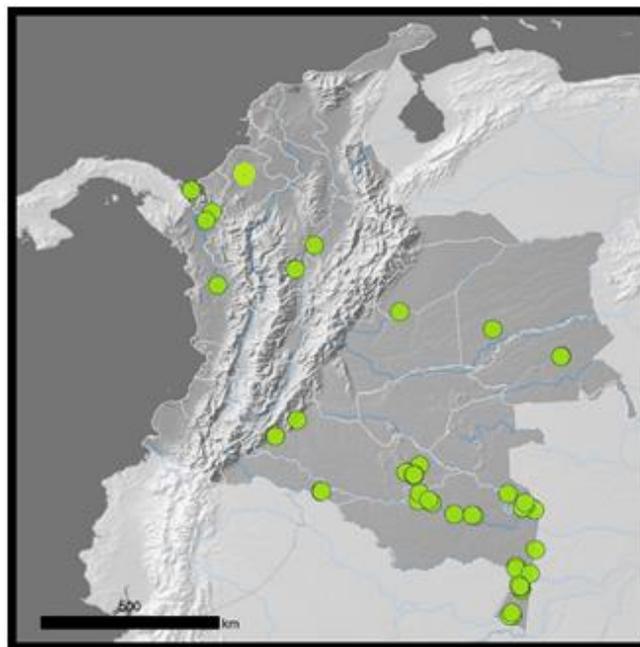
*Oxandra xylopioides* es un árbol es de 3 a 45 m de altura con un tronco recto, cilíndrico, liso y con un diámetro de 2 a 70 cm. Sus hojas son simples, enteras y alternas, con forma oblongolineal gradualmente estrechas hacia el ápice y de base truncada de 8 a 12 cm de largo y 1,5 cm de ancho, y el lado externo presenta pelos adpresos pero solo cuando el árbol es joven. Tiene flores pequeñas, solitarias con pétalos de color amarillo, blanco generalmente ovadas o elípticos [46-47].



**Figura 3.** Tronco, ramas y hojas de la especie *Oxandra xylopioides*

[https://fieldguides.fieldmuseum.org/sites/default/files/rapid-color-guides-pdfs/1159\\_peru\\_timber\\_trees\\_of\\_madre\\_de\\_dios.pdf](https://fieldguides.fieldmuseum.org/sites/default/files/rapid-color-guides-pdfs/1159_peru_timber_trees_of_madre_de_dios.pdf)

Esta especie es encontrada en Colombia en las regiones Antioquia, Chocó, Cundinamarca, Amazonas, Caquetá, Córdoba, Guainía, Vaupés [47].

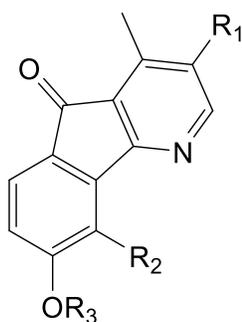


**Figura 4.** Distribución geográfica de *Oxandra xylopioides* en Colombia.

<http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:178642-2>

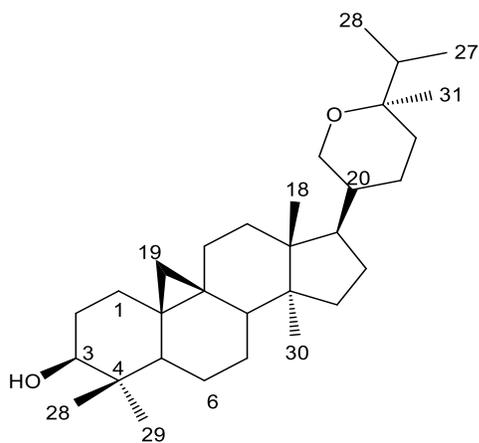
#### 4.3.2. CONSITUYENTES FITOQUIMICOS

*Oxandra xylopioides* es una especie que posee pocos metabolitos secundarios, pero que se presentan en grandes cantidades [48]. En la corteza y las ramas se reportó el aislamiento de tres alcaloides de núcleo 4-azafluorenónicos: 6-hidroxionichina (**25**); 5-hidroxi-6-metoxionichina (**26**); 2,6-dimetoxi-7-hidroxionichina (**27**) [49].

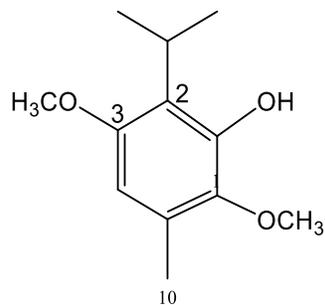


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<b>(25)</b>	H	H	H
<b>(26)</b>	H	OH	H
<b>(27)</b>	OCH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>

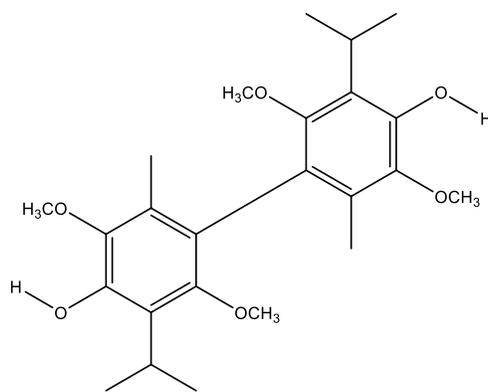
Un estudio en las hojas de esta especie, se identificó y aisló el berenjenol o 21:24-epoxi-24-metil-cicloartano **(28)**, también se aisló el monoterpenoide isoespintanol **(29)** [50-51]. Además se reportó por primera vez el compuesto diisoespintanol **(30)**, el cual se encontraba tanto en las hojas como en la corteza [52].



**(28)**



**(29)**



**(30)**

## 5. ISOESPINTANOL

El isoespintanol o 2-isopropil-3,6-dimetoxi-5-metilfenol (**29**), es un monoterpeno sólido, incoloro y cristalino de peso molecular 210 g/mol, es extraído de las hojas de *Oxandra xylopioides* con disolventes de baja polaridad [48].

### 5.1. METODOS DE EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN

El procedimiento de extracción es de gran importancia, ya que se busca obtener un mayor rendimiento al momento de la extracción y además que no se altere la naturaleza química de los compuestos que queremos separar. Del análisis de las partes experimentales de los diferentes artículos escogidos, se puede decir que solo se han reportado 2 formas de extraer el monoterpeno isoespintanol, por cromatografía de columna y por hidrodestilación.

#### 5.1.1. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

Rojano y colaboradores extrajeron y aislaron por primera vez el isoespintanol por cromatografía en columna y desde aquí, los diferentes estudios que se han ido trabajando con el monoterpeno, han utilizado este método a la hora de la extracción.

La extracción consistió en tomar 30 gramos del extracto de éter de petróleo de la especie *Oxandra xylopioides*, y la sometieron a una columna de gel de sílice, eluyendo tal columna con un 1 L de sistemas de mezclas de solventes de polaridad escalonada de hexano y diclorometano 95:5, 80:20, 70:30, y por último un sistema de solo diclorometano. Del proceso se lograron cuatro fracciones. La fracción dos se disolvió en diclorometano y el isoespintanol fue recristalizado en hexano obteniéndose un rendimiento del 1,5%. De las otras fracciones con determinados procesos se aisló el compuesto berenjenol [50].

Igualmente García, tomó el subextracto de bencina de las hojas de la especie *Oxandra xylopioides* y realizó el mismo procedimiento de Rojano, pero en este caso eluyendo con un sistema bencina:diclorometano en proporción 10:5 y bencina:diclorometano:metanol en proporción 4:6:2. Lo que permitió la recolección de 260 fracciones que fueron recolectadas en 33 subfracciones teniendo como criterio el Rf (visualización de las manchas) y la apariencia (forma de los cristales, coloración). Tres de estas subfracciones se sometieron a recristalización, luego mediante el perfil cromatográfico y características físicas se reunieron las recristalizaciones, por lo cual, se formó una sola sustancia etiquetada como OHB-6. Después, esta sustancia fue analizada con espectrometría de masas, RMN -  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , y sus resultados afirmaron que se trataba del compuesto isoespintanol, el cual representaba al 30 % en peso del subextracto bencínico de las hojas. En este procedimiento se obtuvo un rendimiento del 1,3% [52].

Así mismo y en otros estudios relacionados con el isoespintanol, utilizan este método para extraer y purificar el monoterpeno y evaluar su actividad biológica, como los estudios de Zapata [53], Buñay [48], Rinaldi [54] y Márquez [55].

### 5.1.2. HIDRODESTILACIÓN

El principio de la hidrodestilación es llevar a estado de ebullición una suspensión acuosa de un material vegetal, en este caso un extracto, de tal manera que los vapores generados puedan ser condensados y recolectados. Angulo y colaboradores en el 2015 establecieron la hidrodestilación como otro método para la obtención de isoespintanol, a partir del Extracto Bencínico de *Oxandra xylopioides*.

Inicialmente los investigadores ensayaron el procedimiento pesando tres diferentes cantidades de isoespintanol puro (20, 50 y 100 mg) donde cada uno se diluyó con 2 mL de diclorometano. Después, cada mezcla se acoplo al montaje de microdestilación, en el que previamente se agregaron 15 mL de agua al balón de destilación con la mezcla, al final se obtuvo un hidrodestilado. Los volátiles

contenidos fueron extraídos con volúmenes de diclorometano, reducido su volumen en un rotaevaporador, y por último secados y pesados, cabe decir, que en cada paso se monitoreaba la presencia del monoterpeno con cromatografía de capa delgada. Finalmente se agregaron pequeños volúmenes de hexano y un cristal de isoespintanol para que acelerara la cristalización. Todo esto se hizo con el fin de determinar el rendimiento del proceso de extracción. Igualmente, este proceso se realizó para el extracto bencínico y poder ajustar las variables operativas propias de la naturaleza de la matriz. Después de ya haber establecido las condiciones (factores internos, externos, concentración, etc) para el extracto bencínico se desarrolló el método hasta la reducción del volumen para las tres muestras ya que el paso de la cristalización es el mismo. Los investigadores consideraron utilizar 4 concentraciones diferentes del extracto (tratamientos) 2,27, 4,54, 5,88 y 8,33 mg/mL. Los mejores resultados en términos de exactitud y precisión se observaron para las muestras de 100 mg del extracto [56].

**Tabla 3.** Recuperación de volátiles por tratamiento

<b>Tratamiento (concentración)</b>	<b>Masa de extracto (mg) ± desviación estándar</b>	<b>Masa de volátiles recuperados (mg) ± desviación estándar</b>	<b>% volátiles recuperados</b>
<b>1</b>	50,4 ± 0,3	16,8 ± 0,6	33,4
<b>2</b>	100,3 ± 0,4	36,9 ± 2,4	36,7
<b>3</b>	100,3 ± 0,9	31,5 ± 1,5	31,4
<b>4</b>	100,4 ± 0,5	24,7 ± 0,8	24,6

Los resultados obtenidos muestran que el extracto bencínico a una concentración de 4,54 obtuvo la mayor cantidad de volátiles y un porcentaje promedio de isoespintanol de 73,12 con un rendimiento aproximado al 1,2%.

Ahora bien, comparando este rendimiento con extracciones realizadas por cromatografía en columna en los que se reporta 1,5% y 1,3% es un poco menor, pero se sabe que estas técnicas de cromatografía utilizan adsorbentes y mayor gastos de solventes, aparte de que el tiempo de duración es mayor. Es por eso que este último método se caracteriza por que los gastos de insumos y tiempo son extremadamente bajos, a la vez que es muy rápido y mucho más amigable con el medio ambiente [56].

## **5.2. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS**

### **5.2.1. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

En los últimos años se ha incrementado el interés por nuevas fuentes naturales de antioxidantes debido a que pueden impedir, retrasar o inhibir las alteraciones relacionadas con el estrés oxidativo inducido por las especies reactivas de oxígeno (EROs) y radicales libres. Otra razón sería la utilización de antioxidantes sintéticos en las industrias, por ejemplo en la alimenticia, como el butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT), ya que poseen efectos tóxicos, se bioacumulan en el tejido graso y han mostrado ser carcinógenos [57]. El isoespintanol ha demostrado ser el mejor captador y reductor de radicales siendo descrito como dos veces el mejor antioxidante, como lo demuestran diferentes estudios al respecto.

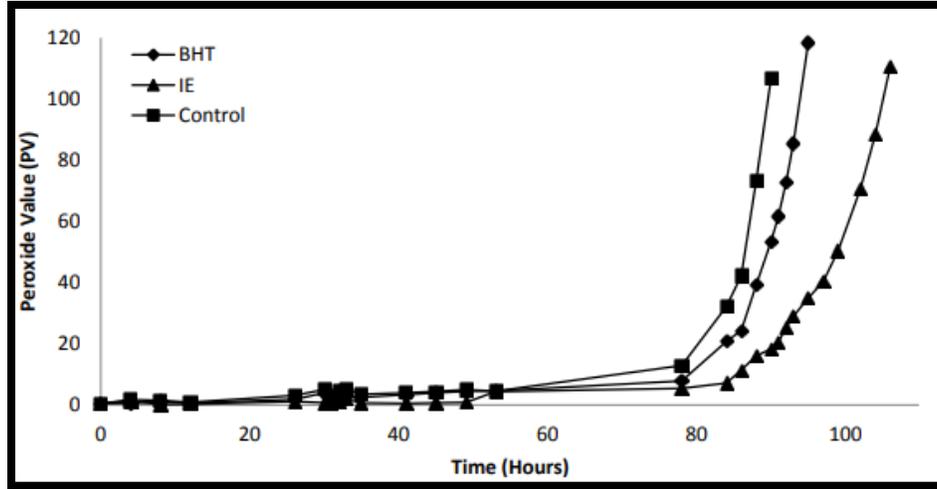
Tal es el caso del estudio de Rojano y colaboradores, los cuales evaluaron la actividad antioxidante del isoespintanol con diferentes ensayos y los compararon con el antioxidante sintético de mayor uso en la industria de alimentos y farmacéutica, el butilhidroxitolueno (BHT).

**Tabla 4.** Resultados de los ensayos de actividad antioxidante del isoespintanol y butilhidroxitolueno (BHT).

Compuesto	DPPH IC <sub>50</sub> μM	DPPH cinética	ABTS IC <sub>50</sub> μM	β- CAROTEN O IC <sub>50</sub> μM	Fe- Ascorbato IC <sub>50</sub> μM	FRAP gAA/100g	SUPER OXIDO ppm
<b>Isoespintanol</b>	295±12	0,01553± 0,00940	11,4±2,5	80,5±8,7	19,4±1,5	65,9±4,0	>1000
<b>BHT</b>	39±1,4	0,02020± 0,0060	7,8±0,2	66,7±7,1	5,6±0,4	30,1±1,2	>1000

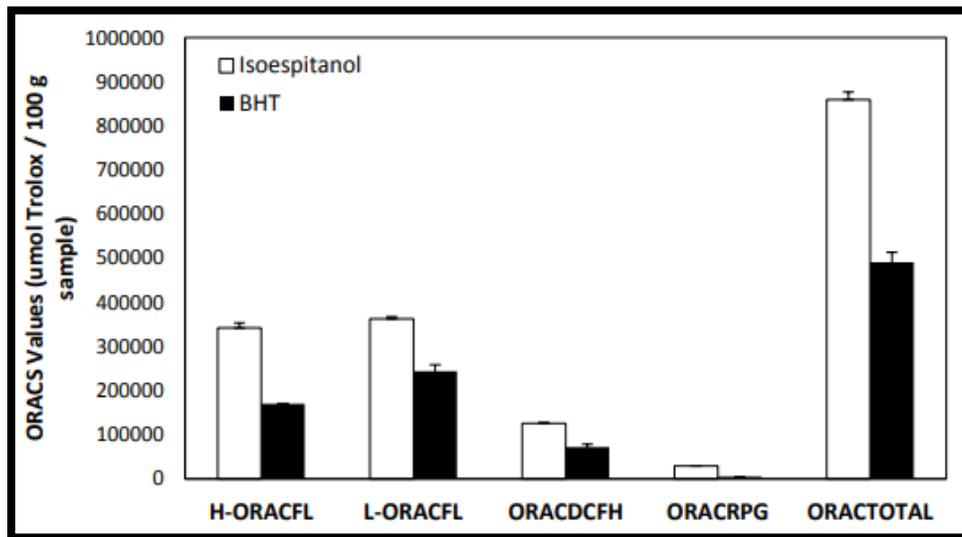
Los resultados del estudio indicaron que el isoespintanol es mejor reductor que el antioxidante sintético, esto se evidencia en la capacidad que tiene para reducir el ion Fe<sup>3+</sup> hasta Fe<sup>2+</sup> en el ensayo FRAP. En los ensayos ABTS, DPPH y en la decoloración de β-caroteno, el BHT es un mejor atrapador de radicales libres que el isoespintanol. En el ensayo de peroxidación lipídica en el sistema Fe-Ascorbato la capacidad protectora de ambos compuestos es muy similar, pero el isoespintanol reacciona mucho más lento a la hora de atrapar radicales libres, por lo tanto su efecto protector es tardío, pero posiblemente se pueda usar en la conservación de alimentos con alto contenido de grasas o sistemas emulsificados [58].

Otro estudio en el 2016, utilizó el isoespintanol como estabilizador de la oleína de palma. Se evaluó la capacidad de absorción de especies reactivas del oxígeno (ORAC) del monoterpeno y el butilhidroxitolueno (BHT) en la oleína de palma, utilizando técnicas como: ORAC hidrofílico (H-ORAC<sub>FL</sub>), ORAC lipofílico (L-ORAC<sub>FL</sub>), ORAC con diclorofluoresceinadiacetato (ORAC<sub>DCFD</sub>) y ORAC con rojo de pirogalol (ORAC<sub>RPG</sub>).



**Figura 5.** Formación de peróxidos en la oleína de palma suplementados con isoespintanol, hidroxitoluenobutilado y control (sin antioxidante) [53].

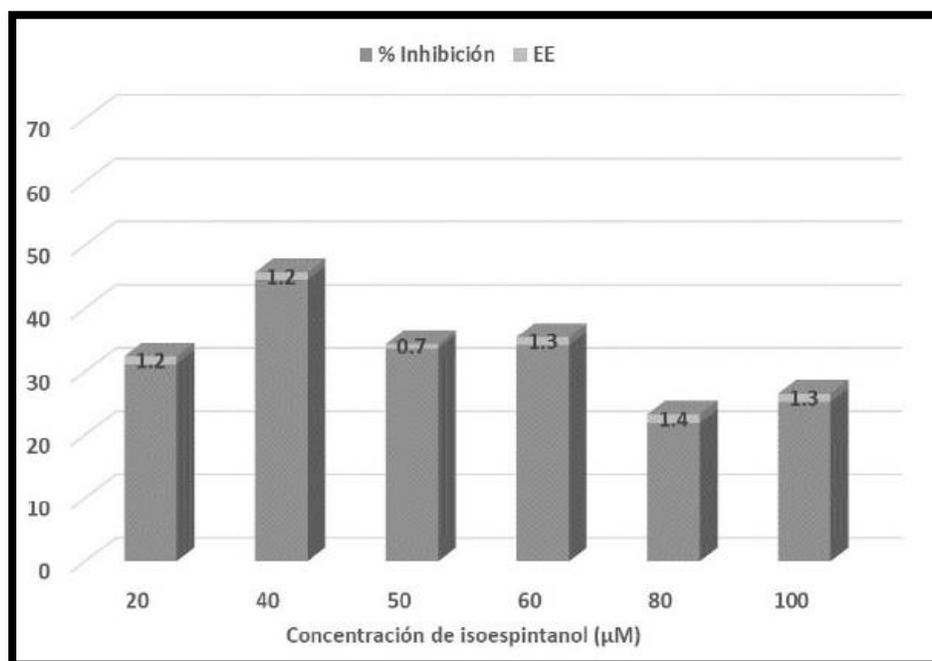
En presencia de isoespintanol, el tiempo de formación de especies reactivas es reducido en 17.2% en comparación con el control, mientras que el uso de BHT solo implica una reducción del 4,2%. Estos hallazgos se atribuyen a la mayor capacidad del isoespintanol para atrapar los radicales generados en el proceso oxidativo [53].



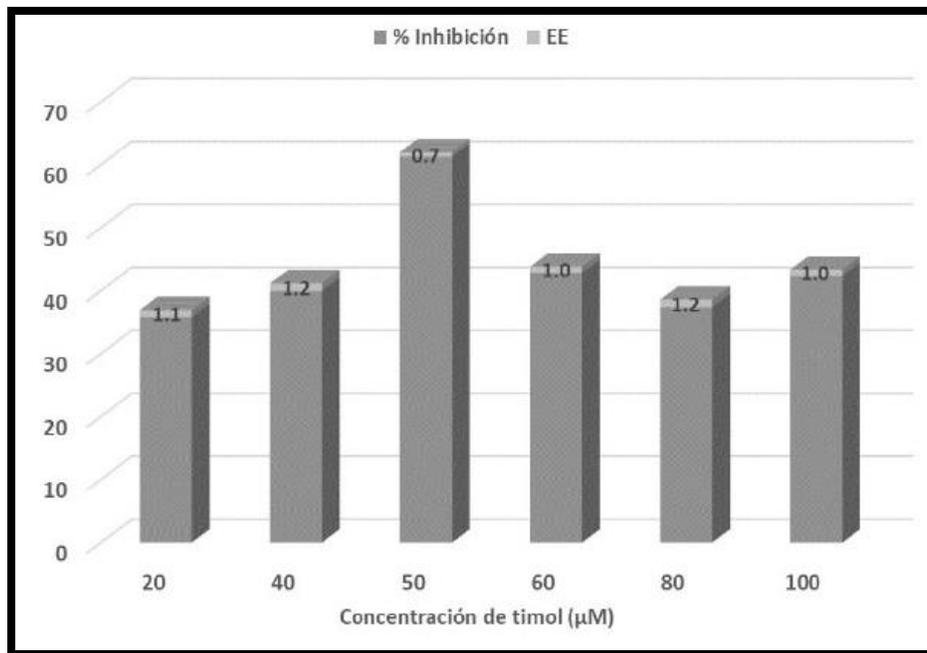
**Figura 6.** Capacidad antioxidante de radicales (ORACs) para isoespintanol y butilhidroxitolueno [53].

Los resultados mostraron que el isoespintanol tiene mayor capacidad antioxidante que BHT en todos los ensayos experimentales. Además, estos resultados son positivos considerando que los Institutos Nacionales de Salud consideran que el butilhidroxitolueno es un promotor de carcinogénesis en humanos, como uretano y N-fluorenilacetamida [53].

De la misma forma se evaluó la actividad antioxidante del isoespintanol y el timol en el semen equino criopreservado, donde se determinó el porcentaje de inhibición de la producción de especies reactivas de oxígeno y la peroxidación lipídica en el semen de cinco caballos criollos colombianos, el cual se sometió a un protocolo de congelación, en un diluyente con isoespintanol o timol a concentraciones de 20, 40, 50, 60, 80, 100  $\mu\text{M}$ .



**Figura 7.** Inhibición de especies reactivas de oxígeno por el isoespintanol en semen equino congelado-descongelado [59].



**Figura 8.** Inhibición de la producción de especies reactivas de oxígeno por el timol en semen equino congelado-descongelado [59].

Los resultados obtenidos evidencian que el semen equino produce constantemente EROs, las cuales fueron inhibidas en diferentes proporciones, según la concentración de los antioxidantes. Las concentraciones con mayor inhibición de EROs para el timol e isoespintanol fueron de 50 μM con 61,3% ± 0,7 y 40 μM con 44,5% ± 1,2 respectivamente (Figura 7 y 8) y que a partir de estas concentraciones se produjo un descenso de la inhibición, en coincidencia con el incremento en la concentración de los compuestos [59]. En el estudio se concluyó que el isoespintanol y el timol en diferentes concentraciones tienen un efecto antioxidante en el semen equino poscongelado, produciendo una disminución de la producción de especies reactivas de oxígeno.

Márquez y colaboradores evaluaron la capacidad de captación de radicales de oxígeno en el ADN de linfocitos humanos mediante los métodos ORAC<sub>FL</sub> y ORAC<sub>PGR</sub> comparándolo el antioxidante sintético butilhidroxianisol (BHA). Los resultados se expresaron en μM equivalentes de Trolox por gramos de muestra

**Tabla 5.** Capacidad de captación de radicales (ORAC) para isoespintanol y butilhidroxianisol (BHA).

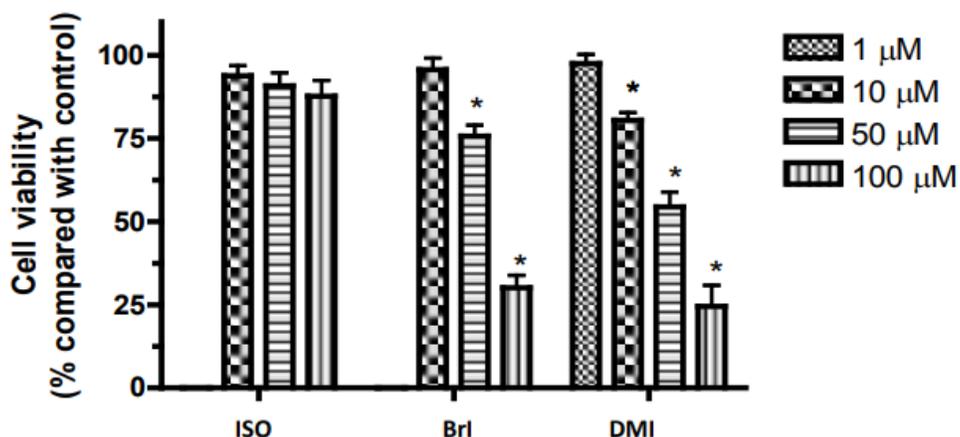
<b>Compuesto</b>	<b>ORAC<sub>FL</sub></b>	<b>ORAC<sub>PGR</sub></b>	<b>ORAC<sub>PGR</sub>/ ORAC<sub>FL</sub></b>
<b>BHA</b>	8667,9±632,6	1619±23,25	0,19
<b>Isoespintanol</b>	3657,6±148,6	1255±16,28	0,34

Los resultados demostraron que la capacidad de captación del BHA es superior a la del isoespintanol, pero consideraron que el Isoespintanol es más rápido para neutralizar los radicales que el BHA, por conceptos de reactividad consultados en bibliografías. Cabe recordar, que el antioxidante sintético ha presentado efectos adversos sobre la salud de los consumidores [55].

### **5.2.2. ACTIVIDAD CITOTÓXICA**

El isoespintanol ha demostrado ser moderadamente efectivo en lo que se refiere a actividad citotóxica. Un estudio evaluó mediante diferentes ensayos al isoespintanol y dos derivados del mismo, el bromuro de isoespintanol (Brl) y el isoespintanol desmetilado (DMI), la capacidad de inducir la apoptosis los leucocitos polimorfonucleares aislados de la sangre de donantes sanos.

Las muestras se incubaron con los 3 compuestos a 37 °C durante 3 horas en un buffer de fosfato. Los estudios de citotoxicidad se llevaron a cabo utilizando los ensayos de actividad mitocondrial y de exclusión del yoduro de propidio. Con citometría de flujo (Anexina V) y yoduro de propidio se determinó la naturaleza de la citotoxicidad.



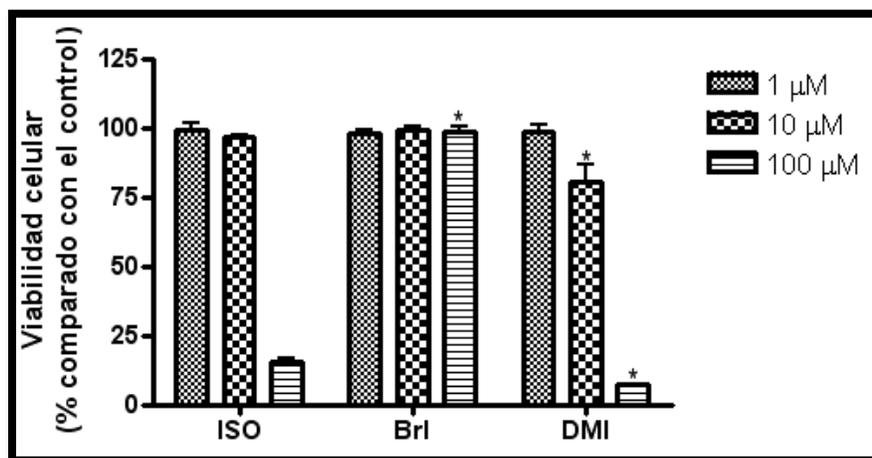
**Figura 9.** Efectos del isoespintanol, bromuro de isoespintanol, e isoespintanol desmetilado sobre la viabilidad celular de las células polimorfonucleares.

El ensayo MTT reveló que la capacidad de las células para reducir la sal MTT a formazán disminuyó significativamente en presencia de Brl y DMI (Figura 9). Los resultados se expresaron como porcentaje del control (células tratadas con DMSO al 0,5%). No se detectó actividad citotóxica en concentraciones seleccionadas de isoespintanol.

Por último en la prueba de detección de células apoptóticas, con isoespintanol solo una pequeña proporción de los leucocitos sufrieron apoptosis. En cambio con los derivados, el bromuro de isoespintanol obtuvo un  $62,3 \pm 8,2\%$  frente a  $2,1 \pm 0,5\%$  de control y  $39\%$  y el isoespintanol desmetilado un  $43,4 \pm 5,2\%$  frente a  $0,4 \pm 0,3\%$  de control. Aunque el isoespintanol no tuvo grandes respuestas apoptóticas, sus dos derivados indujeron la apoptosis a la mayoría de las células, por lo tanto, si se exploraran y sintetizaran más derivados de este monoterpeneo, pudiesen encontrarse resultados más satisfactorios en esta y otro tipo de actividades [60].

Igualmente Márquez utilizando los mismos ensayos evaluó la actividad citotóxica de los 3 compuestos mencionados anteriormente, pero en este caso, sobre macrófagos murinos RAW 264,7. En los ensayos de actividad mitocondrial el isoespintanol y desmetiloespintanol redujeron la viabilidad de las células

cultivadas, no obstante, el bromuro de isoespintanol no disminuyó la viabilidad a las concentraciones ensayadas [48].



**Figura 10.** Efectos del isoespintanol, bromuro de isoespintanol, e isoespintanol desmetilado sobre la viabilidad celular de los macrófagos RAW 264,7 a tres diferentes concentraciones [48].

En el ensayo de exclusión, las células tratadas con isoespintanol y el bromuro revelaron una pequeña permeabilidad al yoduro de propidio,  $8,1 \pm 0,3 \%$  y  $10,0 \pm 2,4 \%$  respectivamente, mostrando una diferencia muy pequeña con respecto al control  $7.2 \pm 0,01\%$ . Por otro lado las tratadas con isoespintanol desmetilado mostraron una elevada permeabilidad con  $29 \pm 2,9\%$ . En la detección de la proporción de células apoptóticas se tomó la concentración de  $10\mu\text{M}$  para los 3 compuestos. Con el isoespintanol desmetilado la proporción fue de  $8,1 \pm 0,7 \%$  frente al control  $4,6 \pm 0,4\%$ ; para el isoespintanol fue de  $4,4 \pm 0,3$  y para el bromuro  $4,3 \pm 0,2$ . El isoespintanol y sus derivados demostraron no ser citotóxicos a concentraciones menores de  $10 \mu\text{M}$  en el modelo experimental utilizado y por ende no afectaron la viabilidad de los macrófagos RAW 257,4 [48].

### 5.2.3. ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA

Los antiespasmódicos son de uso frecuente en la medicina popular. Se dan para el tratamiento de cólicos gastrointestinales, cólicos hepáticos, obstrucción esofágica, gastroenteritis, timpanitis funcional, vómitos, espasmos del sistema urogenital y oclusión intestinal funcional, entre otros [61]. Igualmente el isoespintanol se ha caracterizado por tener actividad antiespasmódica. Esto se ha observado en varios estudios como el de Gavilánez Buñay [48]. Aquí se evaluaron las propiedades farmacológicas del isoespintanol, y de dos compuestos de uso comercial, el floroglucinol y su derivado metoxilado, el trimetoxibenceno.

Esto se realizó en el intestino, vejiga y útero aislados de ratas. Durante el procedimiento se realizaron curvas concentración versus respuesta (CCR) en intestino y vejiga con el agonista colinérgico carbacol, y en el útero con serotonina, en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de los tres compuestos. Como resultados se obtuvo que el isoespintanol se comportó como antiespasmódico, ya que inhibió no competitivamente a la CCR de carbacol en el intestino y la vejiga, con una concentración inhibitoria al 50% (IC<sub>50</sub>) de  $12,5 \pm 4,2$   $\mu\text{M}$  y  $38,64 \pm 3,1$   $\mu\text{M}$  respectivamente. De igual forma, el monoterpeno inhibió en forma no-competitiva la CCR de serotonina en el útero, con un IC<sub>50</sub> de  $13,7 \pm 2,7$   $\mu\text{M}$ . Con respecto a los dos compuestos, el isoespintanol fue más potente que el trimetoxibenceno y similarmente al floroglucinol en el intestino y vejiga, mientras que en el útero el isoespintanol redujo la contracción producida por la serotonina de manera no competitiva y completa [48].

Los resultados demuestran que el isoespintanol es un muy buen antiespasmódico intestinal, urinario y uterino, con mayor eficacia y mayor potencia manejando un I<sub>50</sub> más bajo que los derivados de uso comercial.

#### 5.2.4. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

El desarrollo de resistencias por parte de agentes patógenos se ha convertido en un tema muy difícil últimamente. Es por esos que los científicos se han dedicado a la búsqueda de principios activos que sean efectivos y a la vez amigable con el medio ambiente y el ser humano [62]. Las características antifúngicas del isoespintanol fueron evaluadas contra los hongos *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum acutatum* causantes de la enfermedad antracnosis, que atacan las plantas en las hojas provocando ovals de color oscuro sobre estas. El isoespintanol se manejó a 3 concentraciones diferentes (500, 250 y 100 mg/L) y el método utilizado fue el de placa perforada, con un diámetro de 9 mm, en un agar de papa dextrosa, donde se midió el halo de inhibición cada 24 horas.

**Tabla 6.** Actividad antifúngica del Isoespintanol contra hongos.

<b>Especie</b>	<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>% de inhibición</b>
<b><i>Colletotrichum gloeosporioides</i></b>	100	30,9
	250	47,8
	500	33,6
<b><i>Colletotrichum acutatum</i></b>	100	44,6
	250	48,9
	500	48,9

El estudio antifúngico mostro que a las 168 horas de la siembra, el monoterpeno presentó una mayor actividad contra el hongo *C. acutatum*, mostrando una inhibición del halo de 44.6 % a una concentración de 100 mg/L y para las concentraciones 250 y 500 mg/l se mostró una inhibición de 48.9 %. Contra el hongo *C. gloeosporioides* se observaron valores de 30,9% a la concentración de 100 mg/L, 47,8% a 250 mg/L y 33,6 a 500 mg/L. Esto resultados demuestran que el isoespintanol es un compuesto con un buen potencial antifúngico, además que el compuesto podría tener un impacto positivo en la agricultura, principalmente en el

tratamiento de enfermedades por hongos pertenecientes al género *Colletrotichum* [63].

### 5.2.5. ACTIVIDAD INSECTICIDA

De igual manera el isoespintanol ha mostrado ser un agente insecticida contra determinados tipos de insectos. Por ejemplo, el estudio frente al gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda*, el cual mostro ser neutralizado por el monoterpeno. En esta investigación, el isoespintanol fue aplicado por inmersión en las hojas del maíz en diferentes concentraciones (100, 300, 900 y 2700 ppm) sobre larvas del segundo instar de *Spodoptera frugiperda*. Al cabo de 24, 48 y 72 horas se determinó el porcentaje de mortalidad y se calculó la dosis letal 50 y 90.

**Tabla 7.** Mortalidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* en respuesta a la acción biocida.

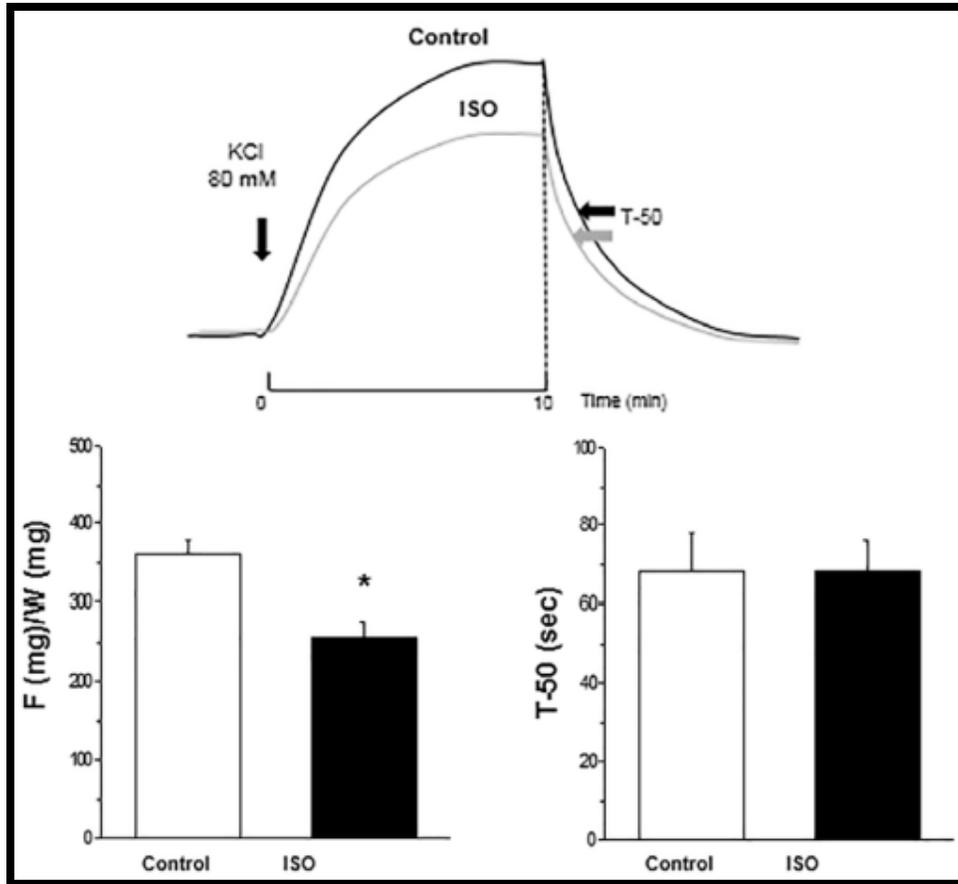
Tiempo (horas)		24		48		72	
Tratamiento (ppm)	Repetición	% de mortalidad	% de fuga	% de mortalidad	% de fuga	% de mortalidad	% de fuga
Testigo	1	0	10	0	0	10	0
	2	0	0	0	0	0	0
	3	0	10	0	10	10	0
	4	0	0	0	0	10	0
Blanco	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	10	0
	3	0	0	0	0	10	0
	4	0	0	0	0	0	0
100	1	0	10	30	0	60	10
	2	0	20	10	0	70	0
	3	0	10	20	0	90	0
	4	0	0	40	0	80	10
300	1	0	10	80	0	90	0
	2	0	10	90	0	90	0
	3	0	20	60	0	80	0
	4	0	10	80	0	90	0
900	1	10	0	60	0	100	0
	2	20	20	80	0	80	0
	3	0	0	100	0	100	0
	4	20	10	60	0	90	0

2700	1	30	0	100	0	100	0
	2	0	10	80	0	100	0
	3	10	0	80	0	100	0
	4	10	10	80	10	100	0

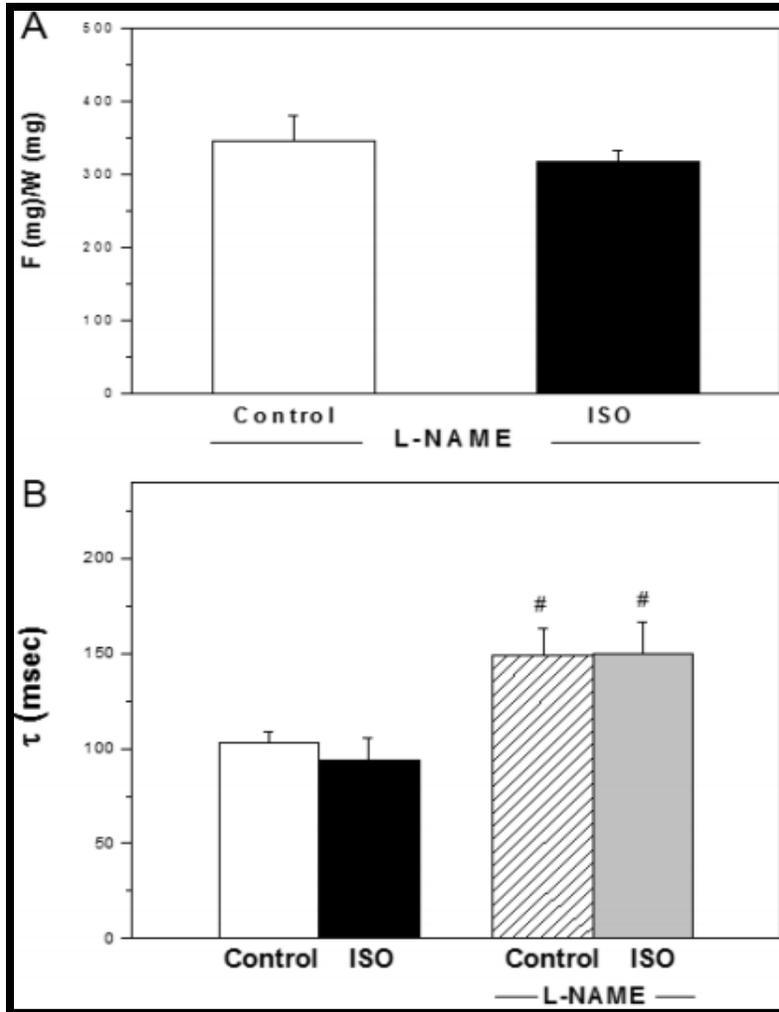
Con los resultados, seguidamente se hizo un análisis de mortalidad, el cual demostró que el isoespintanol tiene un efecto tóxico frente a la larva de *Spodoptera frugiperda* mostrando que la dosis con mayor mortalidad es de 2700 ppm. La dosis letal 50 y 90 fue de 147,07 ppm y 1394 ppm respectivamente, a las 48 horas postratamiento. Estos resultados permitirán avanzar en el estudio y aplicación de insecticidas biológicos para el manejo integrado de plagas [64].

#### 5.2.6. ACTIVIDAD VASODILATADORA

Se ha observado que el isoespintanol también posee un efecto vasodilatador, mucho mejor que el óxido nítrico, el cual es catalogado como el mejor factor relajante derivado del endotelio. Esto se demuestra en los resultados del estudio en los que se tomaron anillos de aortas torácicas aislados de ratas Wistar, los cuales fueron contraídos con cloruro de potasio y luego relajadas por exposición a una solución libre de  $Ca^{2+}$  en ausencia y presencia de isoespintanol a una concentración de 0,6  $\mu\text{g/mL}$ . Para evaluar mejor esta actividad se realizaron experimentos adicionales bajo la inhibición de la óxido nítrico sintetasa con L-NAME (L-NG-éster metílico de nitroarginina). Las respuestas contráctiles se calcularon en mg de fuerza por mg de peso húmedo de tejido (FW) y además se midió el tiempo para obtener el 50% de relajación (T-50) [54].



**Figura 11.** Parte superior: trazados representativos de las contracciones inducidas en los anillos aórticos de control y tratados con isoespintanol. Parte inferior: resultados promedio de la fuerza máxima de contracción (F / W) y T-50 de relajación [54].



**Figura 12.** A: Resultados promedio de la fuerza máxima de contracción ( $F/W$ ). B:  $t$  para el control y los anillos aórticos ISO en presencia de L-NAME vs sin L-NAME [54].

Se evidencio que la presencia de isoespintanol disminuyó la  $F/W$  notablemente de  $257 \pm 19$ , con respecto al control que fue de  $360 \pm 18$ . La relajación fue similar en los anillos aórticos de control y los tratados con isoespintanol, mostrando valores iguales de T-50 en ambos. El estudio concluyo que el pretratamiento con isoespintanol produce un efecto relajante sobre la aorta que fue significativamente atenuado por la inhibición de NOS con L-NAME.

## 6. CONCLUSIONES

Esta revisión documenta que las especies de la familia Annonaceae producen un número importante de compuestos con una gran variabilidad estructural, y un extendido rango de actividades biológicas; muchos de ellos con actividad antioxidante, antibacteriana, antifúngica, citotóxica, antimalárica e insecticida establecidas y soportadas por información obtenida por varias investigaciones del tipo fitoquímico y farmacológico, lo cual convierte a estas especies en potenciales fuentes de compuestos importantes en la búsqueda de nuevos fármacos de interés terapéutico y/o medicinales.

Además, se permitió describir los métodos utilizados para la extracción y purificación del monoterpeno isoespintanol, la cromatografía en columna y la hidrodestilación; esta última caracterizada por su rapidez, pocos materiales y mínimo daño ambiental.

Aún más importante, basándose en la revisión bibliográfica del isoespintanol aislado de la especie *Oxandra xylopioides*, sus actividades biológicas (antioxidante, citotóxica, antiespasmódica, antifúngica, insecticida y vasodilatadora) convierten a este metabolito en un potencial producto objeto de estudio de futuras investigaciones en el área de la salud y la industria; dándole herramientas con indicios experimentales para el desarrollo, por ejemplo de nuevos medicamentos o productos soportados en la efectividad de sus bioensayos.

## 7. REFERENCIAS

1. Pascual Casamayor, Dianelis, et al. "Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional." *Medisan* 18.10 (2014): 1467-1474.
2. Organización mundial de la salud. "Medicina tradicional." Asamblea Mundial de la Salud. Informe de la Secretaría (2010).
3. Acosta, L. "La producción agrícola de plantas medicinales en Cuba garantiza de calidad en la producción de fitofármacos. *Herbociencia*." (2015).
4. Toloza Quintero, Cristian Fernando, and María Angélica González Sánchez. "Análisis del uso tradicional de plantas medicinales que se comercializan en Bogotá Colombia: un abordaje desde las ciencias ambientales." (2018).
5. Colombia, Proexport. "Estudio de Oferta y Demanda del Sector de Productos Naturales." (2003).
6. Serra Valdes, MA. "La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana." *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 16. 3 (2007): 402-419.
7. Hernández-Gómez, Cristhian, et al. "Evolución de la resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos en Colombia." *Biomédica* 34.1 (2014): 91-100.
8. Palacios, Guillermina Palacios, Laura Patricia Perea Moreno, Carlos Augusto Hincapia. "Estudio etnobotánico de plantas medicinales en tres municipios de Antioquia, Colombia." *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 23.4 (2018).
9. Vivot, Eduardo P., et al. "Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos." *Ciencia, docencia y tecnología* 23. 45 (2012): 165-185.
10. Sánchez, Karen, et al. "Actividad inhibitoria de alcaloides obtenidos a partir de plantas colombianas sobre la replicación del virus del Dengue." *Revista Facultad de Ciencias de la Salud UDES* 4.2. S1 (2017): 23.

11. Tenorio Vergara, José Luís, Gustavo Adolfo Vallejo, John Dairo Ramos. "Actividad tripanomicida en el *Tripanosoma cruzi* del extracto etanólico de las semillas de la *Xylopia aromatica*." *Revista Cubana de Farmacia* 40.3 (2006).
12. Morocho Agurto, Nelly Yomira, Vásquez Luque, and Narcisa Giomara Narcisa Giomara Narcisa Giomara. Comparación del efecto normoglicemiante de extractos de las hojas de *Annona reticulata* L. Y *Annona cherimola* M. en animales de experimentación. Diss. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas, (2019).
13. Velásquez, Margarita, Fredyc Díaz, and Carlos Moneriz. "Plantas de la región Caribe Colombiana con potencial actividad antimalárica." *Revista Cubana de Farmacia* 50.4 (2016).
14. Vivot, Eduardo P., et al. "Estudio de las actividades antifúngica y antigotosa de extractos vegetales de la flora de Entre Ríos." *Ciencia, Docencia y Tecnología* 14. 27 (2003):131-144.
15. Lúcio, Ana Silvia Suassuna Carneiro. "Alcaloides de annonacea: ocorrência e compilação de suas atividades biológicas e avaliação fitoquímica e biológica de *Anaxagorea dolichocarpa* (Annonaceae)." (2015).
16. Murillo, José. "Las Annonaceae de Colombia." *Biota Colombiana* 2.1 (2001).
17. Jiménez Contreras, Anyi Patricia, and Yalenis del Carmen Támara Román. "Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos de corteza de tallo de *Annona purpurea* Moc. (Annonaceae) frente a dos patógenos nosocomiales de importancia clínica." (2018).
18. Guo, Xing, et al. "A mega-phylogeny of the Annonaceae: taxonomic placement of five enigmatic genera and support for a new tribe, Phoenicantheae." *Scientific Reports* 7.1 (2017): 1-11.
19. Agustín, J., Hernandez, L. "Biología, diversidad, conservación y uso sostenible de los recursos genéticos de Annonaceae en México." Universidad Autónoma Chapingo (2011): 49.
20. Sharma, O. "Plant Taxonomy. Second edition." Tata McGraw-Hill Education private limited (2009): 564.

21. Loga, BIÓ. Revisión Taxonómica De Annonaceae Juss. Del estado de guerrero, México. Diss. Universidad Nacional Autónoma de México. (2015).
22. Cercato, L. M., White, P. A., Nampo, F. K., Santos, M. R., and Camargo, E. A. A systematic review of medicinal plants used for weight loss in Brazil: is there potential for obesity treatment? *J. Ethnopharmacol.* (2015): 176, 286–296.
23. Formagio, A. S., Kassuya, C. A., Neto, F. F., Volobuff, C. R., Iriguchi, E. K., Vieira Mdo, C., et al. The flavonoid content and antiproliferative, hypoglycaemic, anti-inflammatory and free radical scavenging activities of *Annona dioica* St. Hill. *BMC Complement. Altern. Med.* (2013): 13-14.
24. Almeida, J., Oliveira, M., Guimarães, A., Oliveira, A., Ribeiro, L., Lúcio, A., et al. Phenolic quantification and antioxidant activity of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysocarpa* (Annonaceae). *Int. J. Pharmacol. Biol. Sci.* 2, (2011): 367–374.
25. Almeida, J. R., Araújo, E. C., Ribeiro, L. A., de Lima, J. T., Nunes, X. P., Lúcio, A. S., et al. Antinociceptive activity of ethanol extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). *ScientificWorldJournal* (2012):859210
26. Tan, L. T., Lee, L. H., Yin, W. F., Chan, C. K., Abdul Kadir, H., Chan, K. G., et al. Traditional uses, phytochemistry, and bioactivities of *Cananga odorata* (Ylang-Ylang). *Evid Based Complement. Altern. Med.* (2015):896314.
27. Araujo, C. D. S., de Oliveira, A. P., de Oliveira-Junior, R. G., de Siqueira-Filho, J. A., Braz-Filho, R., Tavares, J. F., et al. Chemical constituents isolated from extracts of *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae) leaves. *J. Med. Plants Res.* (2017): 11, 439–444.
28. Buncharoen, W., Saenphet, K., Saenphet, S., and Thitaram, C. *Uvaria rufa* Blume attenuates benign prostatic hyperplasia via inhibiting 5 $\alpha$ -reductase and enhancing antioxidant status. *J. Ethnopharmacol.* (2016): 194, 483–494.

29. Obiri, D. D.; Osafo, N.; Ayande, P. G.; Antwi, A. O., *Xylopiya aethiopica* (Annonaceae) fruit extract suppresses Freund's adjuvant-induced arthritis in Sprague-Dawley rats. *J. of ethnopharmacology*, (2014):152 (3), 522-531
30. Santos, Jakeline Mylelis Pinheiro dos. "Composição química e avaliação antimalárica in vitro de *Xylopiya amazonica* RE Fries (Annonaceae)." (2017).
31. Araujo, Morgana de Souza. "Constituintes Químicos e Investigação do Potencial Citotóxico das cascas e folhas de *Guatteria olivacea* (Annonaceae)." (2019).
32. Huamán Torre, Evelin Yesica, and Violeta Angélica Seguil Alvarado. "Análisis de la actividad antimicrobiana del extracto Etanólico de *Annona Muricata* frente a microorganismos patógenos Huancayo 2017." (2019).
33. De la Cruz Chacón, Iván, et al. "Antifungal activity in vitro of *Sapranthus microcarpus* (Annonaceae) against phytopathogens." *Acta Botanica Mexicana* 126 (2019): 5.
34. Andrade, Rodrigo Silva de. "Avaliação da atividade antioxidante e fotoprotetora de espécies da família annonaceae." (2017).
35. Alegre, Alfonzo, José Iannacone, and Mario Carhuapoma. "Toxicidad del extracto acuoso, etanólico y hexánico de *Annona muricata*, *Minthostachys mollis*, *Lupinus mutabilis*, y *Chenopodium quinoa* sobre *Tetranychus urticae* y *Chrysoperla externa*." *Chilean journal of agricultural & animal sciences* 33.3 (2017): 273-284.
36. Ferreira, Vinícius de Souza. "Investigação fitoquímica e avaliação da potencial atividade tripanocida dos ramos finos de *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff. (Annonaceae)." (2017): 23
37. Ferreira, Agnieszka Katarzyna Rajca. Análise química e atividades biológicas de *Guatteria elliptica* RE Fries (Annonaceae). Diss. Universidade de São Paulo, (2016).
38. Figueiredo, Fiama Ferreira. "Constituintes químicos e avaliação da atividade biológica de *Xylopiya frutescens* Aubl. (Annonaceae)." (2019).
39. De Sousa, E., et al. "Terpenes and steroids from leaves of *Oxandra sessiliflora* R. E. Fries". *Phytochemistry Letters* 8 (2014): 193–195.

40. De Sousa, Elcilene A., et al. "Evaluación in vitro anti-*Trypanosoma cruzi* de sesquiterpenos de las ramas de *Oxandra sessiliflora*". *Cartas de fitoquímica* 37 (2020): 59-62.
41. Angulo, A., et al, Azafluorenonas en corteza de *Oxandra longipetala* R. E. FR. (Annonaceae). *Scientia et Technica*. 33 (2007): 177-178.
42. Marti, Guillaume, et al. "Natural aristolactams and aporphine alkaloids as inhibitors of CDK1/Cyclin B and DYRK1A." *Molecules* 18.3 (2013): 3018-3027.
43. Tinto, w. et al, Terpenonoid constituents of *Oxandra asbeckii*, *J. Nat. Prod.* 55, (1992): 701-706.
44. L. Hocquemiller R., et al. "Isoelement et synthese de l'espintanol, nouveau monoterpene antiparasitaire." *Journal of Natural Products* 54 (1991): 445-452.
45. Arango, G. et al, Three bis-dehydroaporphines from *Oxandra cf. major*, *Phytochem.* 26, (1987):1227-1229.
46. Quispe Asto, Sandra. "Estudio anatómico de las maderas de *Hyeronima alchorneoides* Allemao, *Licania octandra* (Hoffmanns. ex Roem. y Schult.) Kuntze y *Oxandra xylopioides* Diels." (2010).
47. Junikka, L., et al. "Revision of *Oxandra* (Annonaceae)." *Blumea-Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants* 61.3 (2016): 215-266.
48. Gavilánez Buñay, Tatiana Carolina. Estudio farmacológico del isoespintanol metabolito secundario aislado de hojas de *Oxandra xylopioides*. Universidad Nacional de La Plata, (2016).
49. Slatkin, D.J. et al. "New azafluorene alkaloids from *Oxandra xylopioides*." *J. Nat. Prod.* 50 (1987): 800-806
50. Rojano, B., et al. "Constituents of *Oxandra cf. xylopioides* with antiinflammatory activity." *Journal of Natural Products* 70 (2007): 835-838.
51. Rojano, B., et al. "Berenjenol aislado de *Oxandra cf. xylopioides* (Annonaceae) como insecticida." *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 14 (2007): 95-100.

52. Garcia, Muñoz, J.D., Universidad de Córdoba, Facultad de ciencias básicas, programa de química, Montería-Córdoba Tesis Maestria: Estudio químico, actividad antioxidante y bactericida de los extractos y subextractos de las hojas y corteza de *Oxandra xylopioides* (Annonaceae). (2014).
53. Zapata, Karol, et al. "Oxidative stabilization of palm olein with isoespintanol (2-isopropyl-3, 6-dimethoxy-5-methylphenol) isolated from *Oxandra xylopioides*." *Journal of Medicinal Plants Research* 11.11 (2017): 218-225.
54. Rinaldi, Gustavo J., et al. "Participation of NO in the Vasodilatory Action of Isoespintanol." *Vitae* 26.2 (2019): 78-83.
55. Marquez-Fernandez, Maria Elena, et al. "Effect of isoespintanol isolated from *Oxandra xylopioides* against DNA damage of human lymphocytes." *Pakistan journal of pharmaceutical sciences* 31.5 (2018): 1777-1782.
56. Ramírez, Rubén D., Manuel S. Páez, and Alberto A. Angulo. "Obtención de Isoespintanol por Hidrodestilación y Cristalización a partir del Extracto Bencínico de *Oxandra xylopioides*." *Información tecnológica* 26.6 (2015): 13-18.
57. Gastaldi, Bruno. "Análisis de los compuestos fenólicos y volátiles de plantas medicinales y aromáticas del noroeste de la Patagonia Argentina, estudio de las actividades antioxidante y citotóxica." (2019).
58. Rojano, Benjamín A., et al. "Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios." *Vitae* 15.1 (2008): 173-181.
59. Restrepo, Giovanni, and Benjamín A. Rojano. "Actividad antioxidante del isoespintanol y el timol en el semen equino criopreservado." *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 29.1 (2018): 205-216.
60. Dade, Martín, et al. "Apoptotic activity of isoespintanol derivatives in human polymorphonuclear cells." *Vitae* 23.1 (2016): 11-17.
61. Villavicencio Araujo, Nils Yonatan. "Evaluación de la actividad antiespasmódica del extracto hidroalcohólico de hojas de *Porophyllum ruderale* (Jac.) cassini "rupay wachi", sobre el íleon aislado de *Cavia porcellus* "cobayo", Ayacucho 2016." (2017).

62. Scalvenzi, Laura, et al. "Actividad antifúngica in vitro de aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. y *Piper aduncum* L." *Bioagro* 28.1 (2016): 39-46.
63. Arango, Natalia Andrea, et al. "Actividad antifungica del isoespintanol sobre hongos del género *colletotricum*." *Scientia et technica* 1.33 (2007).
64. Rojano, Benjamín Alberto, Et Al. "Evaluation of Isoespintanol Isolated From *Oxandra xylopioides* (Annonaceae) On *Spodoptera Frugiperda* Je Smith (*Lepidoptera Noctuidae*)." *Revista Facultad Nacional De Agronomía Medellín* 60.1 (2007): 3691-3702.