

ISSN 1810-634X

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

**VOLUMEN 78 N° 4
OCTUBRE - DICIEMBRE 2012**



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ
CONSEJO DIRECTIVO
(marzo 2011 - marzo 2013)

Presidenta	: Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo
Past Presidente	: Juan José León Cam
Vice-Presidente	: Dr. Emilio Guija Poma
Secretario General	: Ing. Quím. Manuel Otiniano Cáceres
Tesorera	: Ing. Quím. Ana María Osorio Anaya
Secretaria del Consejo	
Directivo	: Quím. María Angélica Best de Rodríguez
Directora de Biblioteca	: Quím Farm. Gabriela Soriano Chávez
Director Administrativo	: Quím. Neptalí Ale Borja
Vocales	: Dr. José Juárez Eyzaguirre
	: Quím. Lucía Mondragón Hernández
	: Dra. María Luisa Castro de Esparza
	: Dra. María del Rosario Sun Kou
	: M. Sc. Jorge Eduardo Loayza Pérez
	: M.Sc. Graciela Untiveros Bermúdez
	: Quím Farm. Nora Herrera Hernández
	: Mg. Patricio Muñoz Huillcas

Comisión de Economía y Finanzas

Presidente: Dr. José Amiel Pérez

Comisión de Publicaciones

Presidenta: Dra. Ana María Muñoz Jáuregui

Comisión de Actuaciones Científicas

Presidenta: M.Sc. Graciela Untiveros Bermúdez

INSTITUCIONES Y EMPRESAS PROTECTORAS DE LA
SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

LABORATORIO DANIEL ALCIDES CARRIÓN S.A.
UNIÓN DE CERVECERÍAS PERUANAS BACKUS & JHONSTON S.A.
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA - UNMSM
UNIVERSIDAD NORBERT WIENER

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

(Rev Soc Quím Perú)

ISSN 1810 - 634X

Revista Trimestral

Comité Editor

Presidenta : Ana María Muñoz Jáuregui

Editor en Jefe : Luis Valles Fernández

Miembros : Ana Valderrama Negrón
Julio Santiago Contreras

Comité Consultivo

Beyer, Lothar

Universidad de Leipzig - Alemania

Calvo Buendía,

Univ. Nac. Mayor de San Marcos - Perú

García Herbosa, Gabriel

Universidad Burgos - España

Gamboa Fuentes, Nadia

Pontificia Universidad Católica del

Guija Poma, Emilio

Universidad Científica del Sur - Perú

Muñoz Jáuregui, Ana

Universidad San Martín de

Lock Sing, Olga

Pontificia Universidad Católica del Perú

Santiago Contreras, Julio

Facultad de Quím. e Ing. Quím.

UNMSM - Perú

Angulo Cornejo, Jorge

Univ. Nac. Mayor de San Marcos - Perú

Korswagen Ederi, Richard

Pontificia Universidad Católica del Perú

Picasso, Gino

Universidad Nacional de Ingeniería - Perú

Rueda Sánchez, Juan Carlos

Pontificia Universidad Católica del Perú

Rabinovich Jaitin, Daniel

University of N. Carolina, USA

Troncoso Corzo, Luzmila

Facultad de Medicina UNMSM - Perú

Gutiérrez Correa, Marcel

Universidad Nacional Agraria La Molina - Perú

Guzmán Duxtán, Aldo

Facultad de Quím. e Ing. Quím. UNMSM - Perú

Alarcón Caveró, Hugo Arturo

Facultad de Ciencias. UNI - Perú

**Revista indizada en el Chemical Abstracts, SciELO y Latindex
Licenciada en EBSCO**

Sede: Av. Nicolás de Araníbar 696 Santa Beatriz – Lima 01

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

Teléfono (511) 472-3925 Fax: (511) 265-9049

e-mail: revsqp@gmail.com / sqperu@gmail.com

Portal web: www.sqperu.org.pe

Ley 26905 – Hecho el depósito legal a la Biblioteca Nacional del Perú

Certificado N° 95-1567

Vol 78

OCTUBRE - DICIEMBRE 2012

N°4

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00

CONTENIDO

(Vol 78 N° 4 - 2012)

- Editorial	223
-------------------	-----

Trabajos originales

- Identificación de una potencial feromona sexual de <i>Copitarsia corruda</i> por cromatografía de gases y electroantenografía, con miras al manejo integrado de plagas del espárrago, por Giovana Espinoza, Joanna Gambetta, Rosario Rojas.	225
- Acción neutralizante de la toxicidad del veneno de <i>Bothrops atrox</i> por extracto de plantas amazónicas, por Armando Yarlequé, Mirella Clavo, Fanny Lazo, Betty Millán, Julio Mendoza, Dan Vivas, César Ortiz.	234
- Síntesis y estructura cristalina de los complejos de coordinación de plomo (II) con 1,10 – fenantrolina y nitratos, por Fiorella L. Olivera, Guillermo A. Santillán.	242
- Compuestos fenólicos y actividades antioxidante, antielastasa, anticlagenasa y fotoprotectora <i>in vitro</i> de <i>Myrciaria dubia</i> (“camu camu”) y <i>Caesalpinia spinosa</i> (“tara”), por Víctor Hugo Doroteo, Cecilia Terry, Camilo Díaz, Abraham Vaisberg, Rosario Rojas.	254
- Estudio fitoquímico de <i>Usnea durietzii</i> Mot. (Usneaceae), por B. Ruth Zelada, Ana Pastor de Abram.	264

Revisión (Review)

- Complejos de cinc como potenciales metalofármacos antidiabéticos: Avances recientes en su desarrollo y mecanismo molecular de acción, por Zoila Moreano de Villena, Nora Alvino De La Sota, Carla Galli Rigo-Righi.	277
--	-----

INFORMACIONES

- XXVI Congreso Peruano de Química.	296
- Agenda química virtual.	301
- Índices.	302

Revista Arbitrada

Derechos Reservados : Prohibido el uso total o parcial del material de esta revista sin indicar la fuente de origen.

Nota: Las referencias comerciales que aparecen en los trabajos no constituyen una recomendación de la Sociedad Química del Perú.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

La Revista de la Sociedad Química del Perú publica trabajos originales e inéditos de carácter científico, tecnológico y técnico en el campo de las ciencias químicas. La Revista acepta preferentemente los trabajos que expresen resultados valiosos, producto de las investigaciones científicas básicas o aplicadas, así como, los de divulgación que, por su importancia y la claridad de su exposición, constituyan un material valioso para la comunidad científica y tecnológica.

La Revista, en formato impreso o electrónico, está dividida en las siguientes secciones: artículos de investigación, comunicaciones cortas, cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y divulgación.

Los trabajos son recibidos por el Comité Editorial, quien revisará cumplan con las “Instrucciones para los autores”, la ortografía y redacción (incluida la puntuación). A continuación pasa a la Comisión de Publicaciones y Árbitros para que se pronuncien sobre el contenido científico. Si existen observaciones se comunicará al autor corresponsal para que se proceda a levantar dichas observaciones.

Los artículos de investigación son el resultado de un trabajo experimental o teórico, producto de una investigación científica o tecnológica, que aporta un nuevo conocimiento. Se recomienda una extensión entre 10 a 15 páginas a espacio y medio.

Las comunicaciones cortas son trabajos cuya extensión no debe ser mayor a 4 páginas a espacio simple, escritas bajo las mismas características que un artículo de investigación. Están referidos a trabajos cortos concluidos, pero en los que hay urgencia en su publicación.

Las cartas al editor son comunicaciones que brindan la oportunidad para discutir, criticar o ampliar algunos puntos sobre los trabajos publicados en la Revista. Su extensión no debe exceder una hoja a espacio simple.

Los trabajos de revisión se basan en recopilaciones bibliográficas de temas en los que el autor tiene amplia experiencia. La Comisión de Publicaciones encomendará estos trabajos a especialistas en la materia.

Los artículos de enseñanza de la química son aquellos que proporcionan, en especial a los profesores y alumnos, una nueva visión, interpretación o aclaran los conceptos, teorías o experimentos químicos. Los requisitos que deben tener son: originalidad, importancia pedagógica, relevancia y claridad.

Las notas informativas corresponden a temas que no están relacionados a una investigación, pero son artículos que merecen ser divulgados, por ser de gran interés para la comunidad química.

Los autores de los trabajos publicados son los únicos responsables de la autenticidad y opiniones expresadas en los mismos. Todos los autores de un artículo deberán firmar una carta de presentación del trabajo como garantía de haber participado activamente en la investigación y redacción del artículo. Todas las comunicaciones entre la Comisión de Publicaciones y el autor corresponsal se realizarán vía correo electrónico. El autor corresponsal deberá responder los correos electrónicos en el plazo que se señale.

Los autores enviarán sus artículos impresos y en formato electrónico (disco compacto o al correo electrónico sqperu@gmail.com) a la Comisión de Publicaciones, junto con una carta dirigida al editor y abonarán 30 dólares por concepto de gastos administrativos, como adelanto del pago de la publicación, no reembolsables.

La publicación de cada trabajo está sujeta al pago de las siguientes sumas:

Cuando todos los autores son socios: S/. 120,00

Cuando todos los autores no son socios: S/. 200,00

Si entre los autores hay socios y no socios: S/. 150,00

Si los autores residen en el extranjero US \$ 110,00

Cuando el número de autores es superior a 3 se añadirá, además, S/. 30,00 por cada autor en exceso.

Si el trabajo es enviado del extranjero, será US \$ 15,00 más por cada autor en exceso.

Por exceso de correcciones de estilo se cobrará después de la segunda, un mínimo de S/. 30,00.

The publication of each work is subject to payment of the following ones:

When all the authors are partners of the Peruvian Chemical Society: S/. 120,00

When all the authors are not partners: S/. 200,00

If among the authors there are partners and non partners: S/. 150,00

If the authors reside abroad US \$ 110,00

When the number of authors is superior to 3 it will be paid, also, US \$ 15,00 for each author in excess.

Formato para los artículos

Baje la plantilla de artículo. Los autores pueden solicitar la plantilla de artículo al correo electrónico sqperu@gmail.com

1. El texto completo, debe ser escrito en formato Microsoft Word, tamaño de página A4. Márgenes; izquierdo 3 cm, derecho 3 cm, superior 3 cm, inferior 3 cm. Espacio 2, fuente Times New Roman, estilo de fuente regular (salvo indicación contraria), color de fuente negro (texto y gráficos) y tamaño de fuente 12. Se imprimirá de manera vertical. Todo el texto, excepto el título, debe estar alineado a la derecha y a la izquierda (usar la opción "justificar"). Los decimales deben llevar coma.
2. Los idiomas de publicación son español e inglés.
3. El título del trabajo, que debe ser **breve y claro**, en español y en inglés (este último antes del abstract) se escribe con tamaño de fuente 16, centrado y en negritas. Los nombres completos de los autores aparecerán a continuación con tamaño de fuente 12, el autor corresponsal se identificará con un asterisco. Las instituciones de la cual proceden los autores se escriben con tamaño de fuente 10 e irán a pie de página, donde también sólo el autor corresponsal colocará su correo electrónico después de la dirección postal completa de su institución.
4. Se presentarán dos resúmenes, uno en español y otro en inglés (Abstract), con una extensión aproximada entre 50 y 200 palabras. Las palabras Resumen y Abstract se escriben con tamaño de fuente 14, centrado y en negrita. Además, después del Resumen se deberá incluir entre 3 y 6 palabras clave, en español. Tanto Palabras clave como Key words se escriben a la izquierda del texto, con tamaño de fuente 12 y en negrita.).
5. Deberá respetarse las normas internacionales referentes a la nomenclatura, símbolos y sistemas de medida. Los nombres científicos de género y especie van en cursiva (itálica).
6. El caso de artículos originales y comunicaciones cortas, el texto debe contener las siguientes secciones: Introducción, Parte Experimental, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias. Éstas se escriben con tamaño de fuente 14, en negritas y centradas. Las cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y notas informativas, tendrán las secciones que el autor crea más conveniente.
7. Las tablas, figuras y esquemas, que no deben ser mayores que una página A4, tienen numeración arábica seguido de punto. A continuación se coloca la leyenda que explique su significado. La numeración y leyenda en una tabla, cuyo formato debe ser básico 1, se colocan en la parte superior a diferencia de las figuras y los esquemas que se ubican en la parte inferior. Las figuras deben ser originales y de alta resolución.
8. Las tablas, fotos, figuras y esquemas deben estar incluidos en el documento de Microsoft Word.
9. Las referencias, se citan en el texto correlativamente como superíndice. El número de estas referencias no debe ser excesivo. Deberían fluctuar entre 7 y 15. La sección Referencias se escribe con tamaño de fuente 14, centrado y **en negrita**. Las abreviaturas de la revistas se escribirán según el Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) y List of Journals Indexed in Index Medicus. (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html>) Las referencias citadas se escribirán con el tamaño de fuente 10 y se seguirá el estilo de Vancouver.

Editorial

El XXVI Congreso Peruano de Química

El Primer Congreso Peruano de Química, se realizó del 18 al 23 de Julio de 1938 y fue organizado por la Sociedad Química del Perú quien nombró al Ing. Germán Morales Macedo como Presidente de tan magno evento.

A partir de esa fecha se han llevado a cabo veintiséis Congresos Peruanos de Química, un Congreso Sudamericano, dos Congresos Latinoamericanos y tres Congresos Iberoamericanos, todos ellos organizados por nuestra Institución.

En este editorial queremos realzar la importancia que tiene la realización de los Congresos Científicos y especialmente los de Química, los cuales cada dos años reúne a investigadores nacionales e internacionales, docentes universitarios, de escuelas, alumnos de química y de todas las ciencias afines a la química, empresas y empresarios, así como autoridades en general.

Los Congresos Científicos se realizan con la finalidad de difundir los resultados de trabajos de investigación desarrollados por investigadores que en su mayoría son docentes de las universidades públicas y privadas del país. De la misma manera, los congresos permiten el intercambio de conocimientos e información científica entre los investigadores y el público asistente, propiciando un enriquecimiento mutuo, algo que hoy es indispensable para el desarrollo de las Ciencias, sobre todo si se trata de un intercambio interdisciplinar, pues es muy común que a partir de esta transmisión de conocimientos, que propicia un congreso científico, se formen los pares y se generen nuevos temas de investigación.

En este XXVI Congreso Peruano de Química, llevado a cabo del 17 al 19 de octubre de 2012 en la ciudad de Arequipa, el número de inscritos sobrepasó con creces las expectativas que tuvo el comité organizador dirigidos por el Profesor M. Sc. Manuel Otiniano Cáceres (UNMSM), quien al lado de Dra. Teresa Cano de Terrones (UNSA) recibieron a los invitados nacionales y extranjeros cuyos temas de exposición abarcaron las diversas áreas de la química.

Es grato poderles comentar que para este XXVI Congreso Peruano de Química se aceptaron 159 resúmenes de investigación, que abarcaban una serie de temáticas que van desde la química clásica (Inorgánica, Analítica, Fisicoquímica y Orgánica) hasta las interdisciplinarias como Química computacional, Ciencia de los materiales y nanotecnología, Tecnologías limpias, Agroquímica, Química de los alimentos, Química industrial y Educación química.

Otro par importante para la realización de los eventos científicos es la EMPRESA, que en el caso del XXVI Congreso Peruano de Química, tuvo un espacio dentro de la programación para exponer sus productos y transmitir sus conocimientos a todos los asistentes a través tanto de conferencias que realizaron los especialistas que ellas mismas se encargaron de invitar como a sesiones demostrativas de sus modernos equipos.

Es meritorio también reconocer a nuestros colegas de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa que han logrado con su esfuerzo la descentralización del conocimiento, dándonos una lección del trabajo en equipo que debe conllevar también a la ansiada acreditación de las carreras de química en las universidades del país.

Antes de culminar este editorial, se debe recordar que la Sociedad Química del Perú fundada en 1933, cumplirá en el 2013, **80 AÑOS DE VIDA INSTITUCIONAL**, por lo que desde ya los convocamos a que estén atentos a los eventos que amerita la ocasión pues sus miembros, en honor a estos 80 años, estarán organizando diversidad de actuaciones científicas, como el **CONGRESO LATINOAMERICANO DE QUÍMICA**, que se llevará a cabo en nuestra ciudad en el año 2014.

Ana Cecilia Valderrama Negrón

IDENTIFICACIÓN DE UNA POTENCIAL FEROMONA SEXUAL DE *Copitarsia corruda* POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y ELECTROANTENOGRAFÍA, CON MIRAS AL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS DEL ESPÁRRAGO

Giovana Espinoza¹, Joanna Gambetta¹, Rosario Rojas^{1*}

RESUMEN

Copitarsia corruda (Lepidoptera: Noctuidae) es una plaga que afecta al espárrago, causando graves pérdidas económicas a los agricultores. Con miras a su control por medio de feromonas sexuales, se estudió la composición de los compuestos volátiles de un extracto diclorometánico de las glándulas sexuales de insectos hembras, por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Este mismo extracto fue luego sometido a un análisis por cromatografía de gases acoplada a un electroantenodetector para evaluar la respuesta de las antenas de machos de *C. corruda* ante el estímulo de los compuestos contenidos en el extracto. Se pudo observar que los insectos machos de *C. corruda* reaccionan positivamente ante la presencia del compuesto (Z)-9-tetradecenil acetato. Este compuesto al parecer sería la principal feromona sexual presente en las glándulas sexuales de los insectos hembras. Estos hallazgos serán corroborados por experimentos en campo.

Palabras clave: *Copitarsia corruda*, electroantenografía, espárrago, feromona sexual

IDENTIFICATION OF A POTENTIAL SEXUAL PHEROMONE OF *Copitarsia corruda* BY GAS CHROMATOGRAPHY AND ELECTROANTENNOGRAPHY, FOR THE INTEGRATED ASPARAGUS PEST MANAGEMENT

ABSTRACT

Copitarsia corruda (Lepidoptera: Noctuidae) is a pest of asparagus, that causes serious economic losses to farmers. With the aim of controlling this insect by means of sex pheromones, the female sex glands volatiles were extracted with dichloromethane and analyzed by means of gas chromatography coupled to mass spectrometry. This same extract was then subjected to an analysis by gas chromatography coupled to Electroantennography to evaluate the response of the male antennae of *C. corruda* to the stimulus of the compounds contained in the extract. It was observed that male insects of respond positively to (Z)-9-tetradecenyl acetate. This compound appears to be the main sexual pheromone in the sex glands of female insects. These findings will be confirmed by field experiments.

Key words: Asparagus, *Copitarsia corruda*, electroantennography, sexual pheromone

¹ Unidad de Investigación en Productos Naturales, Laboratorio de Investigación y Desarrollo, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, Lima 31, Perú

* rosario.rojas @upch.pe

INTRODUCCIÓN

El espárrago (*Asparagus officinalis* L.) es actualmente uno de los principales cultivos peruanos, alcanzando en el año 2011 las exportaciones de espárrago fresco un valor total de US\$ 291 078 625 (IPEH, 2012).¹ Una de las principales plagas que ataca al espárrago es el lepidóptero *Copitarsia corruda*. Este insecto, considerado hasta el momento como una plaga cuarentenaria en EEUU (principal mercado de destino de las exportaciones de espárrago) significa una barrera para su comercialización, ya que su presencia implica un fuerte tratamiento con bromuro de metilo en el puerto de destino, lo cual va en detrimento de su calidad y posterior valor de mercado.¹

El control de *C. corruda* se realiza principalmente a través del uso de pesticidas químicos (metomil, clorpirifós, benzoato de emamectina, lufenuron) cuyos efectos negativos sobre la salud del consumidor y el medio ambiente son ya conocidos.²⁻⁵ La utilización de pesticidas organofosforados y organoclorados se encuentra cada vez más restringida en países como EEUU y la comunidad europea, en donde se fomentan estrategias alternativas del control de plagas, como el uso de semioquímicos.

El uso de semioquímicos como las feromonas sexuales para el control de pestes agrícolas es una técnica que ha tenido un rol creciente en el manejo de plagas ya que aumenta la efectividad de los pesticidas utilizados y disminuye el impacto ambiental de los mismos.⁶ Esta técnica consiste en la atracción del insecto hacia trampas cebadas con el (los) compuesto(s) feromonal(es), previamente identificados y sintetizados.⁷

El aislamiento e identificación de feromonas presenta algunos problemas, como el hecho de que éstas se encuentran, por lo general, a nivel de trazas, acompañadas de grandes cantidades de compuestos sin actividad biológica. Dado que la mayor parte de las feromonas son térmicamente estables y se volatilizan a una temperatura inferior a 300 °C, la cromatografía de gases constituye la técnica de separación ideal gracias a su alta sensibilidad.⁸ La técnica para la identificación de feromonas sexuales de insectos se basa en que la antena del insecto macho, al ser estimulada por ciertos compuestos volátiles presentes en la glándula sexual del insecto hembra, produce un potencial eléctrico que puede ser registrado en un electroantenograma (EAG). El tamaño de dicho potencial eléctrico es proporcional a la concentración de la feromona potencial.^{6,9,10}

El objetivo del presente trabajo de investigación fue: primero determinar la composición de compuestos volátiles presentes en las glándulas sexuales de *Copitarsia corruda* hembras por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, para posteriormente identificar las potenciales feromonas sexuales de dicha especie por medio de experimentos con cromatografía de gases acoplada a un electroantenodetector.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipos. Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 7890A* acoplado a detector FID y a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies 5975*. Electroantenodetector (Syntech).

Reactivos. Se utilizaron como estándares el (Z)-9-tetradecenil acetato y D-limoneno (Sigma). Los solventes diclorometano, éter de petróleo y etanol fueron de grado HPLC (Merck, Perú).

Crianza de insectos. Las larvas de *C. corruda* fueron colectadas en campos de cultivo de espárrago de Piura e Ica e identificadas por los biólogos del Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas (IPEH). Las larvas fueron alimentadas con dieta natural (espárrago) y cuando pasaron a estadio pupal fueron sexadas y colocadas en forma individual en vasos de plástico y mantenidas a 25 ± 2 °C y fotoperiodo de 12:12 (L:O) h. Cuando emergieron los adultos fueron alimentados a base de una dieta consistente en polen, miel de abeja y agua en proporción 1:1:3,

embebido en una torunda de algodón. Las hembras adultas vírgenes fueron mantenidas en fotoperiodo invertido 12:12 (O:L). Para los experimentos de cromatografía de gases acoplada a un electroantenodetector, se utilizaron insectos adultos machos y hembras vírgenes de dos a cinco días de edad.

Preparación de extracto glandular. Las bolsas eversibles de 100 hembras vírgenes de *C. corruda* se obtuvieron mediante disección. Luego, las glándulas sexuales fueron extraídas con 2 mL de diclorometano y agitación con ultrasonido por 30 min. Luego de la filtración, el solvente fue evaporado en corriente de nitrógeno hasta un volumen aproximado de 1,5 mL.

Análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS). Para el análisis de la composición de los extractos se inyectó 1 μ L del extracto glandular en el cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Se empleó una columna apolar DB5-MS (60 m, diámetro interno 250 μ m y espesor de película 0,25 μ m). La temperatura del inyector se mantuvo a 250 °C y la inyección se realizó en modo splitless. El programa de temperaturas del horno fue como sigue: temperatura inicial de 50 °C, mantenida por 3 minutos; posteriormente se incrementó 5 °C/min hasta 240 °C, manteniendo la temperatura final por 5 min. Se utilizó helio como gas de arrastre a un flujo constante de 1 mL/min.

Los constituyentes del extracto glandular fueron identificados utilizando el software proporcionado por Agilent: MSD Chemstation (versión E02.00.493), por comparación de los espectros de masas de cada pico con los resultados de la librería de espectros de masa de la base de datos del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, versión 2.0f, 2008), y de estar disponibles, por comparación con el espectro de masas y tiempo de retención de estándares (Sigma).

Análisis por cromatografía de gases con detector de ionización de llama acoplado a electroantendector (GC-FID-EAD): Para el análisis por GC-FID-EAD se montó primero la antena en los electrodos del equipo. Para la amplificación de los potenciales EAG se utilizó un arreglo electrónico que consiste de un pre-amplificador, un amplificador principal, un filtro de frecuencia y un amplificador de ajuste. Tanto el pre-amplificador (impedancia de entrada de 100 M Ω) como el amplificador principal proporcionan una amplificación de un factor de 10, lo que resulta en una amplificación total de 100. La verificación de la viabilidad de las antenas se hizo por observación de la línea base en el programa EAG 2.0 (Syntech). La viabilidad de las antenas se verificó estimulando la antena por insuflación de aire limpio con una pipeta Pasteur. Además, se comprobó la respuesta de la antena al compuesto en estudio mediante su insuflación.

Se inyectó 1 μ L de extracto o de solución estándar diluida en el cromatógrafo de gases 7890 A acoplado al detector FID. Tanto la columna como las condiciones cromatográficas fueron las mismas detalladas anteriormente. El splitter (Agilent) colocado al final de la columna cromatográfica distribuyó (1:1) los compuestos eluidos tanto al detector FID como a la línea de transferencia del electroantenógrafo que incluía la antena del insecto macho. Los resultados obtenidos en el detector FID y el EAD se registraron simultáneamente en el monitor de la computadora usando el programa EAG 2.0 (Syntech).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según nuestros resultados, es necesario un mínimo de 100 hembras adultas vírgenes de 2 a 5 días de edad para poder obtener una concentración suficiente para el análisis por GC-MS y GC-FID-EAD. Se observó que las antenas eran viables solamente durante aproximadamente una hora luego de su escisión del insecto. La sensibilidad de las mismas disminuyó a lo largo del tiempo, por lo que se decidió efectuar como máximo, tres mediciones por antena.

En el análisis por GC-MS de los compuestos volátiles de las glándulas sexuales de *C. corruda* hembras se detectaron 33 compuestos, de los cuales los principales fueron miristato de colesterol (22,6%), D-limoneno (17,1%), 2-hexadecanol (14,5%) y *o* eimol (4,87%) (figura 1, tabla 1).

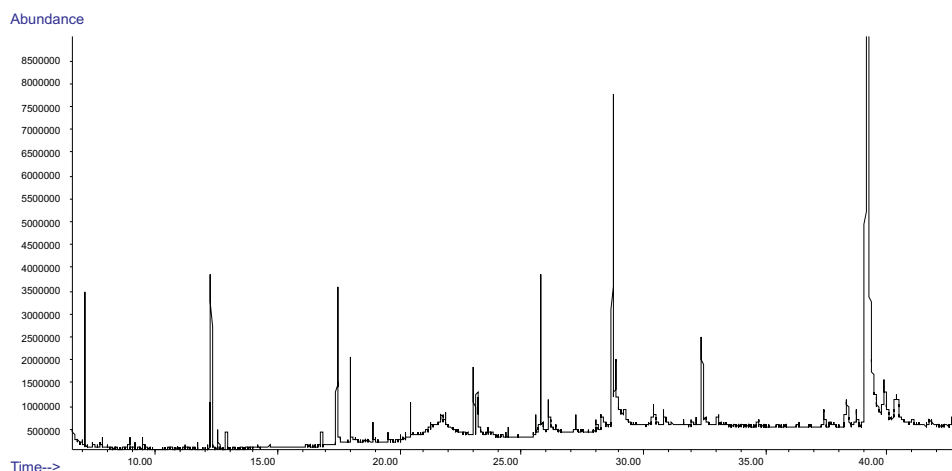


Figura 1. Cromatograma GC-MS de los compuestos volátiles de las glándulas sexuales de *Copitarsia corruda*

Al parecer, la mayor parte de los componentes encontrados fueron terpenos, que en total representan, aproximadamente, el 41% de la composición de la glándula y que se derivan del alimento (planta hospedera) consumido por el insecto, tal como indica Wadhams (1990) en su estudio sobre *Scolytus scolytus* ⁶.

Tabla 1 .Composición de compuestos volátiles de glándulas sexuales de insectos hembras de *Copitarsia corruda*

No.	Nombre científico del compuesto	t _R (min)	Área relativa (%)
1	3-Metil-2-butanona	7,48	0,45
2	Cloruro de metileno	7,79	0,50
3	(Z)-tetradecenal	10,38	0,55
4	β-Mirceno	11,72	0,51
5	1,4-Cineol	12,10	0,25
6	Acetato de 1-terpinen-4-ol	12,13	0,33
7	(Z)-Geraniol	12,16	0,07
8	<i>o</i> -Cimol	12,25	4,87
9	D-Limoneno	12,32	17,1

sigue ...

... viene

10	α -Terpineno	12,61	3,25
11	Terpinoleno	12,90	3,36
12	Indeterminado	12,94	0,49
13	1-Terpinen-4-ol	13,98	1,01
14	α -Terpineol	14,07	3,74
15	Indeterminado	14,12	0,47
16	Isovanillina	15,97	0,78
17	2-[(trimetilsilil)oxi]-1- [[[(trimetilsilil)oxi]metil]etil éster del ácido 9,12,15-octadecatrienoico	16,19	0,56
18	4-Etoxi-, etil éster del ácido benzoico	16,95	0,20
19	4-Etoxibenzoato de etilo	16,98	0,96
20	4-(4-Hydroxyfenil)-2-butanona	17,18	2,17
21	d-Undecalactona	17,37	0,16
22	Ac. 9-hexadecenoico	18,02	0,86
23	(Z)-9-tetradecen-1-ol	18,94	0,33
24	(Z)-9-tetradecen-1-ol	19,88	0,50
25	(Z)-11-Hexadecen-1-ol	20,48	0,65
26	Indeterminado	21,32	2,20
27	Linolenato de metilo	21,37	3,97
28	12-Metil-, metil éster del ácido tetradecanoico	21,51	0,39
29	Heptacosano	25,81	2,23
30	Heneicosano	28,77	6,81
31	Indeterminado	32,45	3,35
32	2-Hexadecanol	35,33	14,5
33	Miristato de colesterol	39,32	22,6

Como se observa en las figuras 2 y 3, mediante el GC-FID se detectaron cuatro compuestos en la glándula sexual de *C. corruda* hembras, que generaron una respuesta positiva en las antenas de los machos (EAD). La estructura de los compuestos detectados en el GC-FID fueron identificadas en el GC-MS como: (Z)-9-tetradecenal, (Z)-9-tetradecen-1-ol, (Z)-9-tetradecenil acetato y (Z)-11-hexadecen-1-ol (t_R = 10,33; 18,94; 19,88 y 20,48 minutos, respectivamente). Según la clasificación publicada por Ando *et al.* (2004),¹¹ estos compuestos se encuentran dentro del grupo de las feromonas Tipo I de insectos de la familia Lepidóptera, que corresponden a alcoholes primarios y sus derivados (principalmente acetatos y aldehídos) de cadena larga (C_{10} - C_{18}), sin ramificaciones.

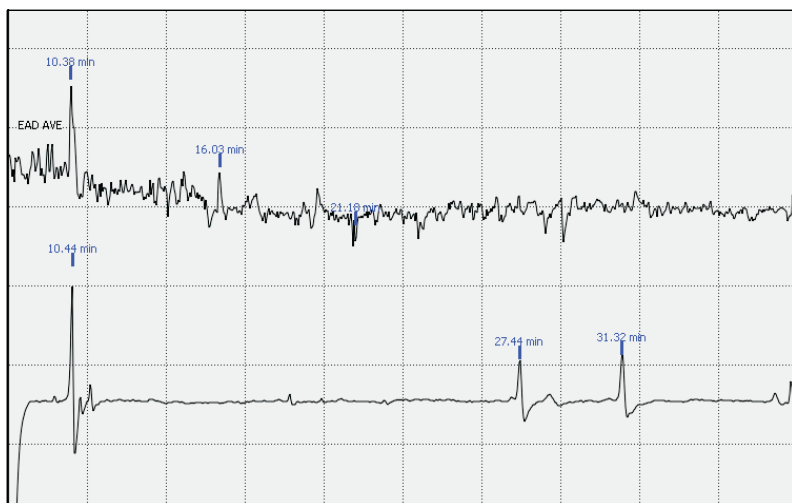


Figura 2. Cromatograma (1) GC-FID-EAD del extracto glandular de *C. corruda* (hembras)

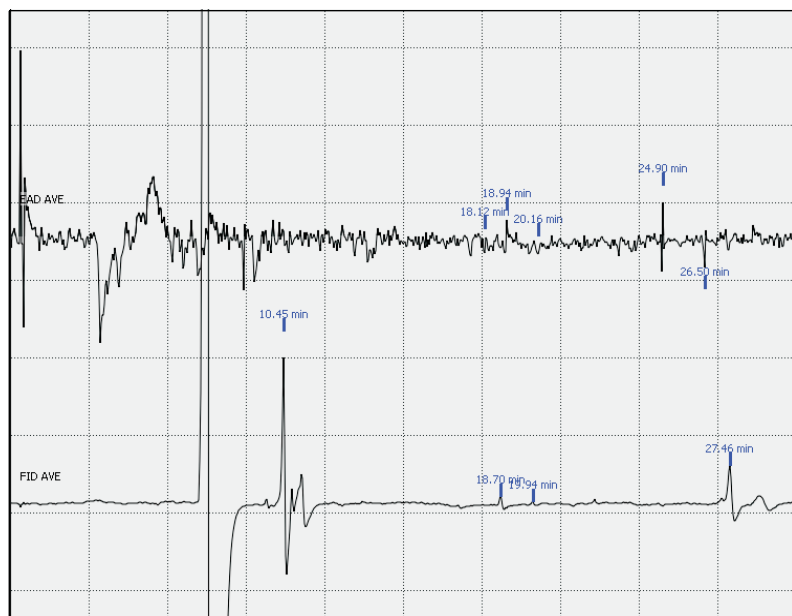


Figura 3. Cromatograma (2) GC-FID-EAD del extracto glandular de *C. corruda* (hembras)

De los compuestos identificados, tanto (Z)-9-tetradecenil acetato como (Z)-9-tetradecen-1-ol serían los mismos encontrados por Rojas *et al.* (2006) para *C. decolora*, y por otros autores en otras especies de noctuidos. Como ocurre para *C. incommoda* y *C. decolora*, esta última y *C. corruda* son dos especies relacionadas filogenéticamente y probablemente compartan las mismas feromonas, con una pequeña variación en la proporción de cada componente resultante de la especiación.^{10,12}

De los cuatro compuestos detectados como posibles feromonas sexuales de *C. corruda*, sólo se contaba con el estándar de (Z)-9-tetradecenil acetato. Mediante insuflación de dicho estándar se verificó si éste generaba alguna reacción por parte de las antenas de especímenes machos en el análisis GC-FID-EAD. Como se puede ver en la figura 4, al ser expuesto a este compuesto, las antenas muestran una clara reacción, emitiendo la señal correspondiente (t_R 19.97 min) en el EAD. La imposibilidad de conseguir los estándares químicos puros no nos permitieron llevar a cabo este mismo proceso de confirmación para el (Z)-9-tetradecenal, (Z)-9-tetradecen-1-ol y (Z)-11-hexadecen-1-ol.

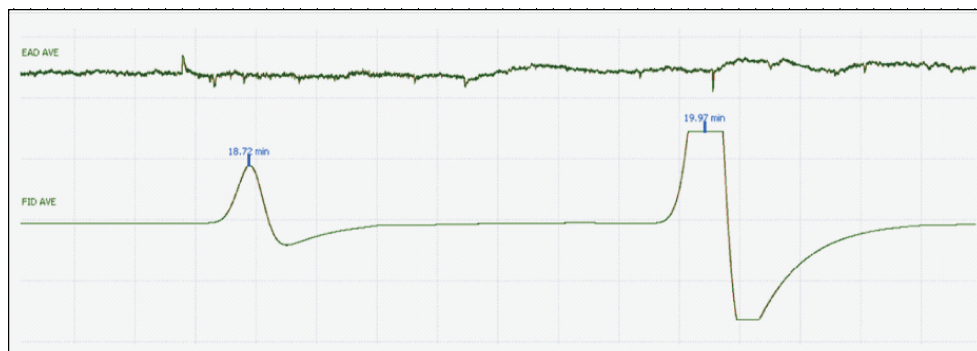


Figura 4. Cromatograma GC-FID-EAD de la inyección del estándar (Z)-9-tetradecenil acetato

Dado que el compuesto D-limoneno era uno de los componentes principales de las glándulas sexuales de los insectos hembras (tabla 1), se procedió a verificar la respuesta de las antenas ante dicho compuesto. Como esperábamos, no se observó en el electroantenograma respectivo (figura 5) ninguna respuesta por parte de las antenas de los insectos machos, descartándose entonces que el D-limoneno sea una feromona potencial de *C. corruda*. Este compuesto, al igual que muchos de los terpenos detectados en el presente trabajo, procede de la planta hospedera. Según Wadham (1990),⁶ pese a que las antenas poseen entre 2 y 3000 sensillas olfatorias; los compuestos procedentes de la planta hospedera, como el D-limoneno, sólo son percibidos por unas cuantas células, y en consecuencia, generan una respuesta débil que no es detectada por la técnica GC-EAD.

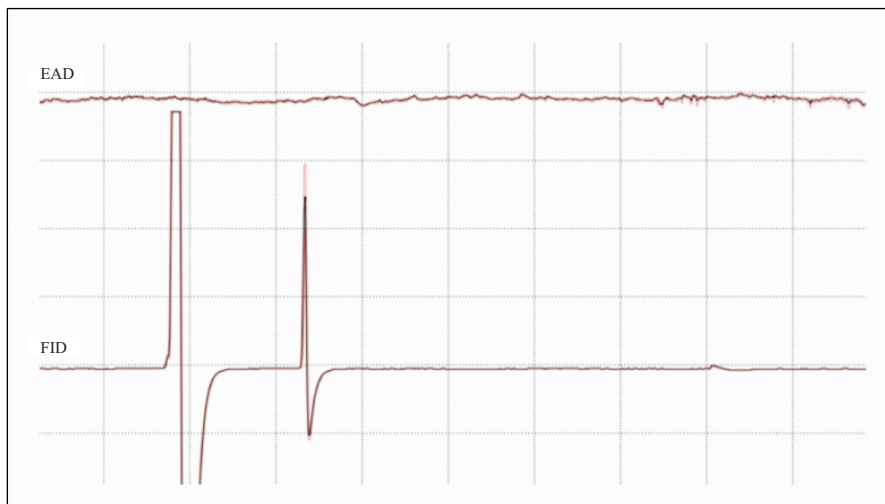


Figura 5. Cromatograma GC-FID-EAD de la inyección del estándar D-Limoneno

CONCLUSIONES

La GC-EAD es una técnica extremadamente útil para la determinación de feromonas en insectos. De los resultados de este trabajo hemos identificado cuatro compuestos que producen respuesta electrofisiológicas positivas en las antenas de machos de *C. corruda*, los cuales son: (Z)-9-tetradecenal, (Z)-9-tetradecen-1-ol, (Z)-9-tetradecenil acetato y (Z)-11-hexadecen-1-ol. El análisis por GC-FID-EAD del estándar (Z)-9-tetradecenil acetato nos permite afirmar que este compuesto sería una feromona potencial del insecto *C. corruda*. Estos hallazgos deben ser corroborados con experimentos a nivel de campo para comprobar su eficacia en el combate de esta plaga.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Julio Rojas de ECOSUR (El Colegio de la Frontera Sur, México) por el entrenamiento de uno de los coautores (G.E.) en técnicas de crianza de insectos y de Cromatografía de gases acoplada a Electroantenodetección. El presente trabajo de investigación fue financiado por el Fondo de Investigación y Desarrollo para la Competitividad-FIDECOM (Contrato No. 84-FINCyT-FIDECOM-PIPEA-2010).

BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Peruano del Espárrago (IPEH). 10 de Setiembre 2012. Comunicación personal.
2. Universidad Nacional de Costa Rica (UNA) e Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET). 2010. Plaguicidas de Centroamérica: Metomil. <http://www.ftm.una.ac.cr/plaguicidasdecentroamerica/index.php/base-de-datos/ingredientes-activos/389-metomil>. Consulta realizada el 16 de septiembre de 2012.
3. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España (PRTR). Registro Estatal de Emisiones y Fuentes Contaminantes: Clorpirifós. <http://www.prtr-es.es/Clorpirifos,15619,11,2007.html>. Consulta realizada el 16 de septiembre de 2012.
4. Instituto Nacional de Ecología de Méjico (INE). Benzoato de emamectina. http://www2.ine.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/benzoato_de_emamectina.pdf. Consulta realizada el 16 de septiembre de 2012.
5. Syngenta Agro. 2,5-dicloro-4(1,1,2,3,3,3-hexafluoro-propoxi) . www.syngenta.com.ar/.../cultivos/viewimage.aspx?id=666 .Consulta realizada el 16 de septiembre de 2012.
6. Wadhams, L.J. The use of coupled gas chromatography: electrophysiological techniques in the identification of insect pheromones. En: *Chromatography and Isolation of Insect Hormones and Pheromones*. Ed. McCaffery & Wilson, I.D. Plenum Press, New York. **1990**; 289-298 pp.
7. Barrera, J.F. ,Montoya, P. ,Rojas, J. *Bases para la aplicación de sistemas de trampas y atrayentes en manejo integrado de plagas*. En: *Simposio de trampas y atrayentes en detección, monitoreo y control de Plagas de importancia económica*. Barrera JF y Montoya P (Eds.) Sociedad Mejicana de Entomología y el Colegio de la Frontera Sur. Manzanillo, Colima, México. **2006**; 1-16 pp.
8. Jones, G., Oldham, N. Pheromone analysis using capillary gas chromatographic techniques. *J. Chrom. A*. **1999**; 843, 199–236.
9. Schneider, D.Z. Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo-und Mechanorezeptoren der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori*. *Vergl. Physiol*. **1957**; 40: 8-41.
10. Rojas, J.C. ,Cruz-López, L. ,Malo, E.A. ,Díaz-Gómez, O. ,Calyecac, G. ,Cibrian-Tovar, J. Identification of the sex pheromone of *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol*. **2006**; 99: 797-802.
11. Ando, T., Inomata, S., Yamamoto, M. Lepidopteran Sex Pheromones. *Top. Curr. Chem*. **2004**; 259: 51-96.
12. Muñiz-Reyes, E., Cibrián-Tóvar, J., Rojas-León, J., Díaz-Gómez, O., Valdés-Carrasco, J., Bautista-Martínez, N. Capturas de *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae) en trampas cebadas con diferentes proporciones de feromona sexual. *Agrociencia*. **2007**; 41: 575-581

ACCIÓN NEUTRALIZANTE DE LA TOXICIDAD DEL VENENO DE *Bothrops atrox* POR EXTRACTO DE PLANTAS AMAZÓNICAS

Armando Yarlequé^{*}, Mirella Clavo², Fanny Lazo¹, Betty Millán³, Julio Mendoza¹,
Dan Vivas¹, César Ortiz¹

RESUMEN

Se ha realizado un estudio de neutralización con extractos vegetales de la Amazonía peruana contra el veneno de la serpiente *Bothrops atrox* “jergón”. Para ello, se preparó extractos acuosos: hervidos, sin hervir e infusión de diez especies de plantas y con ellos se realizó pruebas de destoxificación del veneno empleando ratones albinos, haciéndose en paralelo el análisis bioquímico del veneno y calculándose su toxicidad. El veneno de *B. atrox* tuvo un porcentaje de proteína de 76,4%, mostrando 8 y 9 bandas electroforéticas en condiciones no reductoras y reductoras, respectivamente, con un rango de pesos moleculares de 56-12 kDa y 73-15 kDa. El análisis enzimático mostró la presencia de L-aminoácido oxidasa, fosfolipasa A₂ y actividades proteolítica y coagulante. La toxicidad (DL₅₀) fue de 3,38 µg/g de ratón. Los ensayos extracto acuoso sin hervir-veneno no neutralizan la toxicidad de la ponzoña; en cambio, los extractos hervidos de *Dracontium* sp. (MC 5990), *Philodendro ernestii* (MC 6807) y *Philodendron* sp. (MC 5984) fueron capaces de neutralizar una cantidad equivalente a 3DL₅₀ del veneno. Por otro lado, los extractos obtenidos por infusión de *Cordia nodosa* (MC 6810) y *Philodendro ernestii* (MC 6807) fueron los únicos que tuvieron acción neutralizante contra el veneno en estudio.

Palabras clave: plantas, Amazonía, veneno, serpiente, neutralización.

NEUTRALIZING ACTION FROM THE VENOM OF *Bothrops atrox* SNAKE BY AMAZONIC PLANTS

ABSTRACT

A neutralizing study against *Bothrops atrox* venom was carried out using different preparations from amazonic plants referred as antiofidic properties. Mixture of plants heated and non heated in distillate water were assayed in order to neutralize toxicity from the venom using mice to calculate LD₅₀ and some enzymatic activities. The protein content into the venom was 76,4%, showed 8 and 9 protein bands by SDS-PAGE in non reducing and reducing conditions being the range of molecular weights: 56-12 kDa and 73-15 kDa. Some enzymatic activities are present in this venom: L- amino acid oxidase, phospholipase A₂, coagulant and proteolytic actions, being its LD₅₀ 3,38 µg/g mouse. Heated extract from *Dracontium* sp. (MC 5990), *Philodendro ernestii* (MC 6807) and *Philodendron* sp. (MC 5984) are capable to blocked 3LD₅₀ until 48 hours. Other extracts by infusion *Cordia nodosa* (MC 6810) and *Philodendro ernestii* (MC 6807) were neutralizing action against the venom too.

Key words: plants, Amazonia, venom, snake, neutralization.

^{1*} Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, UNMSM, Av. Venezuela Cuadra 34 s/n, Lima 1. E-mail:ayarleque48@gmail.com

² IVITA-Pucallpa, Facultad de Medicina Veterinaria, UNMSM

³ Museo de Historia Natural, UNMSM

INTRODUCCIÓN

En países tropicales y subtropicales, como es el caso del Perú, los accidentes ofídicos u ofidismo constituyen un problema de salud por las graves consecuencias evidenciadas en lesiones irreversibles e inclusive la muerte^{1,2}. El único tratamiento reconocido internacionalmente hasta la fecha, para atender exitosamente estos accidentes, es el uso del antiveneno o suero antiofídico, el cual se obtiene por hiperinmunización de equinos y otros mamíferos³. Sin embargo, las plantas amazónicas con propiedades antiofídicas son una alternativa promisoría en este campo.

Los estudios etnobotánicos, realizados en los últimos años, nos brindan información seleccionada y probada por diversos grupos étnicos en un tiempo tan grande como su existencia; el tratamiento antiofídico usando plantas es fuente para investigaciones básicas y aplicadas. Las pruebas biológicas iniciales para probar actividad antiofídica en el Perú se hicieron del pedúnculo floral de *Dracontium lorentense*⁴, quienes probaron en ratones el extracto acuoso preincubado con el veneno de *Bothrops atrox*; los resultados mostraron una severa reducción de la actividad hemorrágica y la mionecrosis. En el 2006, Lovera *et al.*⁵, demostraron que el extracto acuoso de *D. lorentense* neutraliza la actividad letal del veneno de *B. atrox*. Mejía y Rengifo⁶, en el año 2000, indican que plantas como *Persea americana*, *Spondias monbin*, *Eleutherine bulbosa*, *Uncaria tomentosa* son usadas contra accidentes ofídicos, ya sea por ingestión o aplicaciones tópicas. Clavo *et al.*⁷, reportaron que *Hura crepitans* se usa como atenuante de los efectos por mordedura de serpientes.

La presente investigación es el inicio de un programa destinado a explorar la actividad neutralizante y otras propiedades antiofídicas de plantas propias de la región amazónica de nuestro país como un recurso potencial para el tratamiento precoz de accidentes ofídicos en complemento con el antiveneno comercial.

PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico

Se empleó veneno de *Bothrops atrox* de especímenes adultos procedentes de Pucallpa, departamento de Ucayali y mantenidos en cautiverio en el Serpentario “Oswaldo Meneses” del Museo de Historia Natural de la UNMSM. El veneno obtenido, fue liofilizado y conservado a 4°C.

Animales de experimentación

Se emplearon ratones albinos cepa Balb C machos de (18-20g), adquiridos en el bioterio del Instituto Nacional de Salud, Lima.

Plantas en estudio

Procedieron de las comunidades nativas asháninka y shipibo-conibo de la región Ucayali. En la tabla 2 se listan las 10 especies de plantas usadas en esta investigación.

Análisis bioquímico

- **Cuantificación proteica del veneno.**- Se realizó por el método de absorción ultravioleta a 280 nm y por el método de Lowry modificado por Loayza *et al.*⁸, usando como proteína estándar albúmina sérica bovina.
- **Análisis electroforético.**- La electroforesis por PAGE-SDS fue llevada a cabo usando el método de Laemmli⁹ en condiciones reductoras y no reductoras, con una cámara vertical Mini Gel System (Sigma). Las corridas se realizaron por una hora usando 15 mA por carril y las bandas proteicas se revelaron con azul brillante de Coomassie.

Actividades enzimáticas:

- **Proteolítica.**- Fue estimada empleando el método modificado por Takahashi y Ohsaka¹⁰, para lo cual se usó caseína al 2% en buffer Tris HCl 0,2M pH 8,5 y 0,1 mL de veneno 1 mg/mL. La mezcla de reacción fue incubada durante 10 minutos a 37 °C; se detuvo la reacción con la adición de ácido tricloroacético 0,44M y se midió la actividad por la formación de productos ácido-solubles a 280 nm.
- **Coagulante.**- Fue medida mediante el método de Oshima¹¹, empleando como sustrato fibrinógeno bovino 5 mg/mL en buffer Tris HCl 0,05M pH 7,4. La mezcla de reacción fue pre-incubada por 10 minutos y luego se adicionó 0,1 mL de veneno a concentraciones de 0,2 a 1 mg/mL, midiéndose los tiempos de coagulación en segundos.
- **L-aminoácido oxidasa.**- Se determinó por el método descrito en el Worthington Enzyme Manual¹². En 2,9 mL de buffer Tris HCl 0,2M pH 7,5 conteniendo L-Leucina 0,1% y O-dianisidina 0,0065%, se agregó 10 μ L de peroxidasa al 0,001%. La mezcla se preincubó durante 5 minutos a 37 °C y luego se agregó 100 μ L de veneno registrándose el incremento de la absorbancia a 436 nm
- **Fosfolipasa A₂.** Se empleó como sustrato 1,5 mL de una emulsión lipoproteica de yema de huevo al 45% en buffer Tris HCl 10 mM con CaCl₂ 10 mM a pH 7,4. Luego de adicionar 100 μ L de veneno se preincubó por 10 minutos a 37 °C. Después la mezcla fue sometida a un baño de temperatura a 100 °C, midiéndose el retardo del tiempo de coagulación de la yema de huevo¹³.

- Pruebas de toxicidad y neutralización:

Cálculo de la DL₅₀.- El veneno de *B. atrox* fue previamente evaluado para determinar su toxicidad calculándose su dosis letal 50 (DL₅₀), es decir, la cantidad de veneno que produce la muerte de un 50% de ratones usados en el ensayo, en un lapso de 48 horas. Para ello se usaron lotes de seis ratones, a los cuales se les inoculó 0,2 mL de veneno disuelto en solución salina 0,9% a diferentes concentraciones por vía intraperitoneal. Los cálculos se efectuaron por el método computarizado de Probits¹⁴.

- **Preparación de los extractos.**- En el estudio se utilizó 10 plantas y con cada una se preparó tres tipos de extractos: extracto acuoso con agua destilada hervida y sin hervir e infusión. Para el primer caso, un gramo pulverizado de la planta en estudio se diluyó en 12 mL de agua destilada, sometiéndola a ebullición (100°C) por 10 minutos, luego que la muestra se enfrió fue filtrada con ayuda de una gasa para su utilización. Para el segundo caso, un gramo pulverizado de la planta en estudio se diluyó en 12 mL de agua destilada a temperatura ambiente y con ayuda de un mortero se preparó una mezcla que fue filtrada por medio de una gasa. Para el tercer caso, un gramo pulverizado de la planta en estudio se diluyó en 12 mL de agua destilada hirviendo dejándose en reposo por 5 minutos. Luego que la muestra se enfrió fue filtrada por medio de una gasa como en los casos anteriores.
- **Ensayos extracto-veneno.**- Para la prueba de neutralización con los extractos vegetales, se preparó diluciones equivalentes a 6 DL₅₀ del veneno y se mezclaron (V/V) con los extractos en estudio, de modo que la muestra de veneno correspondiera a 3 DL₅₀. Las mezclas fueron preincubadas por 30 minutos a 37 °C y luego se inoculó 0,2 mL a los ratones por vía intraperitoneal. Cada prueba se efectuó por triplicado, usándose ratones controles con: solución salina, veneno (3DL₅₀) y extracto vegetal, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- **Concentración proteica y análisis enzimático del veneno de *Bothrops atrox*** De acuerdo con las técnicas usadas, se determinó que 1 mg de veneno de *B. atrox* tiene una densidad óptica a 280 nm de 1,2 en tanto que la cantidad de proteína analizada por el método de Lowry, modificado por Loayza⁸, correspondió a un valor de 76,4% del peso total.

Por otro lado, el análisis electroforético del veneno en condiciones no reductoras mostró 8 bandas con un rango de pesos moleculares de 56-12 kDa; mientras que en condiciones reductoras el número de bandas fue de 9 con un rango de 73-15 kDa (tabla 1). Estos resultados concuerdan con estudios previos en relación con esta ponzoña. Así, Mendoza *et al.*¹⁵ reportaron una cantidad de proteína equivalente a 1,3 unidades de absorbancia a 280 nm y 78% por el método de Lowry modificado⁸; mientras que en un estudio comparativo de varios venenos de diferentes regiones del mundo, Yarlequé *et al.*¹⁶ señalaron valores de 1,3 unidades de absorbancia a 280 nm y 68% de contenido proteico por Lowry. En relación con el análisis electroforético es conveniente aclarar el número de bandas proteicas encontradas, que en este caso fue de 8 y 9 en condiciones no reductoras y reductoras, respectivamente, las cuales pueden variar ligeramente con la edad de los individuos, el tipo y frecuencia alimentaria, así como la región geográfica^{17,18}.

Tabla 1. Características bioquímicas del veneno en estudio

	Valor
Concentración proteica: DO 280 nm	1,2 U/mg
Porcentaje proteico	76,4%
PAGE-SDS: No. Bandas. Condiciones no reductoras	8
Rango de pesos moleculares en condiciones no reductoras	56-12 kDa
PAGE-SDS: No. Bandas. Condiciones reductoras	9
Rango de pesos moleculares en condiciones reductoras	73-15 kDa
Actividad proteolítica	54,2 U/mg
Actividad coagulante	6,2 U/mg
Actividad L-aminoácido oxidasa	0,37 U/mg
Actividad fosfolipasa A ₂	1,25 U/mg

En cuanto a los ensayos enzimáticos con el veneno en estudio, los datos de la tabla 1 señalan la presencia de las cuatro enzimas exploradas en esta ponzoña. Los valores encontrados están en concordancia con datos previos reportados para este veneno, especialmente el trabajo de Ortiz *et al.*¹⁷. Asimismo, se ha reportado la variada sensibilidad de estas enzimas a la acción del antiveneno comercial equino producido por el INS-Perú; en el caso de la actividad proteolítica es la más resistente a la inhibición por el antiveneno botrópico polivalente mientras que, la actividad coagulante es fuertemente

inhibida¹⁹. Asimismo, la actividad de la L-aminoácido oxidasa fue inhibida casi en su totalidad con dos dosis del antiveneno botrópico, en tanto que con esta misma dosis sólo se alcanzó el 80% de inhibición para la fosfolipasa A₂ del veneno de *B. atrox*²⁰.

- **Toxicidad del veneno.-** Los cálculos de la DL₅₀ establecieron un valor de 3,38 µg de veneno/g de ratón (18-20g) para el veneno de *B. atrox*. Estos valores fueron obtenidos al aplicar el método computarizado de Probits¹⁴, luego de efectuar las inoculaciones del veneno a diferentes concentraciones en ratones albinos y verificar la mortalidad a las 48 horas. García *et al.*²¹ reportaron, para este mismo veneno, una DL₅₀ de 3,33 µg/g ratón. Asimismo, Segura *et al.*²², en un estudio de varios venenos del género *Bothrops* de Centro y Sudamérica, mostraron las variaciones de la DL₅₀ en un rango de 21 a 76µg y específicamente para *B. atrox* del Perú fue de 74 µg y para *B. atrox* de Colombia fue de 76 µg; estos últimos valores corresponden a una DL₅₀ de 3,7 y 3,8 µg/g ratón, respectivamente. Por tanto, la toxicidad encontrada para el veneno en estudio está en relación con los valores reportados. Adicionalmente, es necesario indicar que para los estudios de neutralización con antivenenos comerciales, se utilizan los siguientes parámetros preclínicos: toxicidad, hemorragia, miotoxicidad, coagulación y defibrinogénación; ya que los venenos de víperidos y potencialmente el de *B. atrox* poseen estas propiedades biológicas, aunque en grado variable^{15,16}.
- **Acción neutralizante de los extractos.-** En la tabla 2 se lista las diez plantas utilizadas para la preparación de los tres tipos de extractos.

Tabla 2. Listado de plantas utilizadas para los ensayos de neutralización

No. Colecta	Nombre científico	Nombre común	Parte de la planta usada
MC 6810	<i>Cordia nodosa</i>	loviriquishite marke	corteza
MC 5950	<i>Dracontium</i> sp	jergón sachá	hoja
MC 6087	<i>Philodendron</i> sp	jergón quiro	rizoma y raíces
MC 5977	<i>Philodendron</i> sp. 2	itininga de Jergón	raíces aéreas
MC 6807	<i>Philodendro ernestii</i>	raya itininga	raíz y tallo
MC 5984	<i>Philodendron</i> sp.3	itininga de altura	raíces aéreas
MC 6083	<i>Aniba</i> sp.	moena amarilla	corteza interna
MC 6608	<i>Dracontium</i> sp.	jergón sachá	cormo y hoja
MC 7626	<i>Aniba</i> sp.	moena amarilla	hoja
MC 7622	<i>Aniba</i> sp.	moena amarilla	tallo

Todos los ratones inoculados con el extracto acuoso sin hervir de las 10 plantas en estudio, murieron en un tiempo máximo de 27 horas, al igual que los inoculados con el extracto tipo infusión a excepción de los obtenidos con *Cordia nodosa* y *Philodendro ernestii*.

Tabla 3. Ensayos de neutralización con las plantas en estudio

No. Colecta	Nombre científico	Tipo de extracto		
		Acuoso sin hervir	Acuoso hervido	Tipo infusión
MC 6810	<i>Cordia nodosa</i>			+
MC 5950	<i>Dracontium</i> sp.		+	
MC 6087	<i>Philodendron</i> sp.			
MC 5977	<i>Philodendron</i> sp. 2			
MC 6807	<i>Philodendro ernestii</i>		+	+
MC 5984	<i>Philodendron</i> sp. 3		+	
MC 6083	<i>Aniba</i> sp.			
MC 6608	<i>Dracontium</i> sp.			
MC 7626	<i>Aniba</i> sp.			
MC 7622	<i>Aniba</i> sp.			

+ Supervivencia de los ratones hasta las 48 horas post inoculación

Con respecto al extracto hervido los ratones inoculados con *Dracontium* sp., *Philodendro ernestii* y *Philodendron* sp. sobrevivieron a las 48 horas y en los otros casos murieron en tiempos de cero a 48 horas (tabla 3).

El análisis post mortem mostró una severa hemorragia, tanto en los ratones inyectados con veneno y también con las mezclas de extracto más veneno, inclusive aquellos que sobrevivieron a las 48 horas.

Estas pruebas efectuadas demuestran que si bien es cierto los extractos ya indicados poseen capacidad neutralizante sobre la toxicidad del veneno de *B. atrox*, dicha capacidad es relativa puesto que, en todos los casos, se producen daños internos severos y por tanto la supervivencia a las 48 horas sólo sería un índice de retardo en el efecto tóxico. Los datos señalados por los miembros de las comunidades nativas acerca de la utilidad de plantas ofídicas en el tratamiento de los accidentes deberían ser considerados entonces en el sentido de retrasar el grado de envenenamiento y por ende el efecto letal del veneno, lo que podría dar lugar a un mayor tiempo para que el paciente pueda ser atendido con el antiveneno específico en un servicio de salud. Teniendo en cuenta que Morante *et al.*⁴ reportaron la reducción de la actividad hemorrágica y mionecrosis por el uso de extracto de *Dracontium* sp y que en esta investigación *Dracontium lorentense* aparece entre las plantas con acción neutralizante, es importante considerar la necesidad de un estudio profundo, no sólo sobre las cuatro plantas que neutralizan la toxicidad del veneno sino, en particular, sobre *D. lorentense* que, al parecer, es la más promisoría en este tipo de trabajo.

CONCLUSIONES

- Tomando como punto de partida la información ancestral de comunidades nativas del departamento de Ucayali sobre plantas con posible acción antiofídica, en la presente investigación se ha podido determinar la capacidad de los extractos hervidos e infusión de *Dracontium* sp., *Philodendro ernestii*, *Philodendron* sp. y *Cordia nodosa* para neutralizar el envenenamiento experimental con el veneno de *B. atrox*. Sin embargo, este efecto neutralizante está dirigido a retardar el cuadro de envenenamiento, lo que podría ser una ventaja a favor de la víctima de un accidente ofídico para su tratamiento con el antiveneno comercial.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al VRI-UNMSM por su apoyo en la ejecución de este trabajo a través de un proyecto multidisciplinario.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yarlequé A. Las serpientes peruanas y sus venenos. Lima Perú: Fondo Editorial UNMSM; 2000.
2. Zavaleta A. Mordedura de serpiente (ofidismo): Un problema de salud en el Perú. *Rev Med Hered*. 2004;15(2):61-63.
3. Mendoza J, Vivas D, Rodríguez E, Inga R, Sandoval G, Lazo F, Yarlequé A. Eficacia experimental de anticuerpos IgY producidos en huevos, contra el veneno la serpiente peruana *Bothrops atrox*. *Rev Perú Med Exp Salud Pública* 2012; 29(1): 69-75.
4. Morante HY, Málaga O, Yarlequé A; Clavo Z, Millán B. Antídotos naturales: Investigación preliminar sobre extracto vegetal neutralizante de veneno de serpientes. Lima - Perú: Informe del Proyecto al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Programa de Apoyo al Investigador. 1988.
5. Lovera A, Bonilla C, Hidalgo J. Efecto neutralizador del extracto acuoso de *Dracontium lorentense* (jergón sachá) sobre la actividad letal del veneno de *Bothrops atrox*. *Rev Perú Med Exp Salud Pública* 2006; 23(3):177-181
6. Clavo ZM, Seijas Z, Alegre J. Plantas medicinales usadas por mujeres nativas y mestizas en la región Ucayali. Pucallpa, Perú: IVITA-INIA-ICRAF 2003.
7. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana. Lima-Perú: Agencia Española de Cooperación Internacional; 2000
8. Loayza S, Morante HY, Campos S, Yarlequé A. Enzimas proteolíticas en el veneno de la serpiente peruana *Lachesis muta* y *Bothrops atrox*. *Bol. Soc Quím Perú* 1985; 52(#):151-163.
9. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227 (5259):680-685.
10. Takahashi T, Ohsaka A. Purification and characterization of a proteinase in the venom of *Trimeresurus flavoviridis*. Complete separation of the enzyme from hemorrhagic activity. *Biochim Biophys Acta* 1970; 198(2): 293-307.
11. Oshima G, Sato-Ohmori T, Suzuki T. Proteinase, argininester hydrolase and a kinin releasing enzyme in snake venoms. *Toxicon* 1969; 7(3): 229-233.
12. Worthington Biochemical Corporation. L-amino acid oxidase. The Worthington Enzymes Manual. Enzymes related Biochemicals. New Jersey 1993.
13. Vidal JC, Stoppani AO. Isolation and purification of two phospholipases A from *Bothrops* venom. *Arch Biochem Biophys* 1971; 145(2): 543-555.

14. Castro de la Mata R, Zavaleta Martínez-Vargas A. Programa en “Basic” para el cálculo de la DL50 por el método de Probits. *Rev Med Exp* 1998; 15(1/2): 45-54.
15. Mendoza JC, Vivas D, Inga R, Arbaiza E, Rodríguez E, Yarlequé A. Patrones electroforéticos de los venenos de serpientes peruanas de los géneros *Bothrops* sp. y *Lachesis* sp. *Rev. Soc. Quím. Perú* 2009; 75(2): 235-42.
16. Yarlequé M, Ortiz C, Morante H, Yarlequé A. Estudio comparativo de algunas propiedades bioquímicas de venenos de serpientes de diferentes regiones del mundo. *Rev. Soc Quím Perú* 2012; 78(1):27-36
17. Ortiz C, Lazo F, Bellido C, González E, Yarlequé A. Variaciones en las actividades enzimáticas del veneno de la serpiente *Bothrops atrox* “jergón”, de tres zonas geográficas del Perú. *Rev. Perú Med Exp Salud Pública* 2012; 29(2): 198-205.
18. Málaga O, Pantigoso C, Morante Y, Heredia V, Cárdenas J, Yarlequé A. Variaciones de la composición proteica, actividades enzimáticas y biológicas del veneno de la serpiente *Bothrops atrox* (vipéridae) en relación a la edad. *Rev Perú Biol* 2000; 7(2): 161-170.
19. Yarlequé A, Vivas D, Inga R, Rodríguez E, Sandoval G, Pessah S, Bonilla C. Acción del antiveneno botrópico polivalente sobre las actividades proteolíticas presentes en los venenos de serpientes peruanas. *Rev Med Exp Salud Pública* 2008; 25(2): 169-173.
20. Mendoza J, Lazo F, Yarlequé L, Ruiz N, Yarlequé A, Pessak S, Flores V, Bonilla C. Efecto del antiveneno botrópico sobre las actividades de fosfolipasa A₂, L- aminoácido oxidasa y hialuronidasa de los venenos de serpientes peruanas. *Rev Med Exp Salud Pública* 2008; 25(2): 174-178
21. García P, Yarlequé A, Bonilla C, Pessah S, Vivas D, Sandoval G, Lazo F. Características Bioquímicas y evaluación preclínica de un antiveneno botrópico liofilizado contra el veneno de la serpiente *Bothrops atrox*. *Rev Med Exp Salud Pública* 2008; 25(4): 386-390.
22. Segura A, Castillo M, Núñez N, Yarlequé A, Gonçalves L, Villalta M, Yano MY, Araujo HP, Boller MA, León P, Tintaya B, Sano-Martins JS, Gómez A, Fernández GP, Geoghegan P, Higashi HG, León G, Gutiérrez JM. Pre-clinical assessment of the neutralizing capacity of antivenoms produced in six Latin American countries against medically-relevant *Bothrops* snake venoms. *Toxicon* 2010; 56(6): 980 - 989.

SÍNTESIS Y ESTRUCTURA CRISTALINA DE DOS COMPLEJOS DE COORDINACIÓN DE PLOMO (II) CON 1,10-FENANTROLINA Y NITRATOS

Fiorella L. Olivera¹, Guillermo A. Santillán^{1*}

RESUMEN

Se ha sintetizado dos complejos de coordinación mediante la reacción del nitrato de plomo (II) con la 1,10-fenantrolina en una mezcla de solventes (1:1) metanol/agua. Los cristales de estos complejos fueron obtenidos usando el método de difusión y caracterizados estructuralmente por difracción de rayos X. Ambos complejos cristalizaron en el grupo espacial monoclinico $P2_1/c$. El análisis mediante difracción de rayos X muestra que en ambos complejos, la coordinación alrededor del ion plomo (II) es una estructura octaédrica distorsionada, donde el ion está unido a dos átomos de nitrógeno de la 1,10-fenantrolina, a tres átomos de oxígeno de los tres grupos nitrato y a un oxígeno de la molécula de agua. La diferencia entre los complejos radica en el modo de coordinación del ion nitrato cuando están presentes ácidos carboxílicos aromáticos. Debido al modo de coordinación de los nitratos, los complejos de plomo forman diferentes polímeros de coordinación, interacciones Pb-O, puentes de hidrógeno e interacciones π - π .

Palabras clave: complejos de plomo (II); 1,10-fenantrolina; coordinación por nitratos; puentes de hidrógeno; interacciones π - π ; polímeros de coordinación.

SYNTHESIS AND CRYSTAL STRUCTURE OF TWO LEAD (II) COMPLEXES WITH 1,10-PHENANTHROLINE LIGAND

ABSTRACT

Two coordination complexes have been synthesized by the reaction of lead nitrate (II) with 1,10-phenanthroline in methanol/water. The crystals of these complexes were obtained by using the diffusion method and structurally characterized by X-ray single crystal diffraction. Both complexes crystallized in the monoclinic space group $P2_1/c$. The analysis by crystal X-ray diffraction reveals that in both complexes the coordination around the lead (II) ion is a distorted octahedral structure where the ion is bonded to the heterocyclic nitrogen atoms of chelating ligand 1,10-phenanthroline, three oxygen atoms of three nitrate groups and one oxygen from the water molecule. The difference between the complexes lies in the way of nitrate ion in presence of carboxylic acid aromatics. In addition, the crystal structure of complexes can be regarded as a 3D coordination polymer through Pb-O weak interactions, hydrogen bonds and π - π stacking interactions.

Key words: Lead (II) complex; 1,10-phenanthroline; nitrate coordination; hydrogen bonding; π - π stacking interaction; coordination polymers.

¹ Laboratorio de Química de Coordinación y Materiales, Laboratorios de Investigación y Desarrollo, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

* Autor de correspondencia: guillermo.santillan.z@upch.pe, Av. Honorio Delgado 430, San Martín de Porres, Lima, Perú, Tel +51 13190000 Anexo 2403.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un gran interés en el desarrollo de nuevos polímeros de coordinación debido a sus potenciales aplicaciones en diferentes áreas, como magnetismo molecular,¹⁻³ conductividad electrónica,⁴ química supramolecular,⁵⁻⁸ sensores⁹ y propiedades ópticas.¹⁰ La construcción de estos nuevos compuestos se da a partir de centros metálicos conectados a través de ligandos orgánicos; además, involucra interacciones covalentes¹¹ o contactos supramoleculares (como puentes de hidrógeno y/o interacciones π - π),¹² los cuales permiten que se extiendan a varias dimensiones.^{13,14} Los ligandos que contienen grupos carboxilos y nitrógenos heterocíclicos han sido ampliamente usados en el desarrollo de complejos de coordinación.^{15,16} En la actualidad, la capacidad para predecir y controlar las interacciones metal-ligando y producir polímeros de coordinación, es todavía un gran reto por lo que se requiere mayor investigación.

Los compuestos de coordinación de plomo (II) han sido considerablemente estudiados debido a que este metal tiene aplicaciones en aditivos, baterías, minería y soldadura.¹⁶ El plomo, al ser un metal pesado y estar presente en diferentes procesos industriales, es uno de los 10 principales contaminantes ambientales en el mundo.¹⁷ La mayor parte de los casos de intoxicación por plomo, ya sea por inhalación o ingestión, se da por exposición a la especie catiónica de plomo (II).^{18,19} Un estudio más amplio de los compuestos de coordinación de plomo (II) permitiría determinar qué ligandos son selectivos y estables en su unión a este metal. A su vez, estos ligandos podrían ser usados en la detección y cuantificación del ion plomo (II).²⁰

En la actualidad, se ha desarrollado numerosos complejos de coordinación de plomo (II) con ligandos que contienen átomos de nitrógeno heterocíclico debido a su afinidad con metales blandos.²¹⁻²⁴ Uno de estos ligandos es la 1,10-fenantrolina, que posee una gran capacidad para quelarse. Además, tiene una alta solubilidad en medio acuoso y baja toxicidad.²⁵ Debido a las propiedades mencionadas anteriormente, este ligando es factible para ser usado en la detección y captación del ion plomo (II) en medio acuoso.

En el presente trabajo se ha demostrado que el ion plomo (II) con la 1,10-fenantrolina y el ion nitrato pueden formar dos complejos de coordinación diferentes en presencia de distintos tipos de ácidos carboxílicos: ácido gálico, ácido salicílico y ácido p-nitrobenzoico, manteniendo las demás condiciones constantes, como pH, temperatura, anión y solvente. A su vez, estos ácidos aceleran de manera significativa la velocidad de cristalización de los complejos.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Todos los experimentos fueron realizados en condiciones ambientales $T = 25^{\circ}\text{C}$, $P = 1$ atm. Las sales de nitrato de plomo (II) y el ácido gálico fueron adquiridos de Merck; el ácido salicílico de Riedel de Haen; la 1,10-fenantrolina de Mallinckrodt, y el ácido p-nitrobenzoico de Aldrich.

[Pb(phen)(NO₃)₂H₂O]_n (1)

La solución metanólica de 1,10-fenantrolina (270,17 mg, 1,5 mmol) se agregó por difusión (gota a gota) a una solución acuosa de Pb(NO₃)₂ (563,06 mg, 1,7 mmol). A la solución resultante se le agregó por difusión la solución metanólica de ácido gálico (204,20mg, 1,2 mmol). Se obtuvo cristales incoloros luego de 1 hora, aproximadamente, con un rendimiento del 58 %. Estos complejos también se pueden obtener reemplazando el ácido gálico por el ácido salicílico.

[Pb(phen)(NO₃)₂H₂O]_n (2)

Este complejo se preparó de manera análoga al complejo 1, pero se utilizó ácido p-nitrobenzoico en lugar del ácido salicílico o ácido gálico. Se obtuvo cristales incoloros luego de 1 hora, aproximadamente. El rendimiento de la reacción fue del 64 %.

Métodos físicos

Cristalografía de rayos-X

Los cristales de los complejos 1 y 2 fueron montados en loops de nylon usando aceite Paratone (Hampton Research) y puestos en el vapor frío (200–240 K) del difractorómetro Bruker X8 APEX CCD que opera a 50 k V y 30 m Å usando una radiación de Mo-Kα ($\lambda = 0,71073$). Las estructuras fueron resueltas usando métodos directos o por la función de Patterson; se completaron con la función de Fourier y fueron refinados usando el método de mínimos cuadrados en F². Todos los átomos que no son hidrógenos fueron refinados usando los coeficientes de desplazamiento anisotrópicos. Los átomos de hidrógenos fueron tratados como contribuciones idealizadas usando un modelo de conducción. Todos los cálculos fueron realizados usando el paquete de software cristalográfico SHELXTL 5.1 (G.Sheldrick, Siemens XRD, Madison, WI). Los datos cristalográficos y los parámetros de refinamiento son presentados en la tabla 1.

RESULTADOS

Síntesis y caracterización

El primer complejo se obtuvo de la reacción del nitrato de plomo (II) con la 1,10-fenantrolina y ácido gálico, usando como solvente una mezcla (1:1) metanol/agua. Cabe señalar que este mismo resultado se obtiene reemplazando el ácido gálico por ácido salicílico. El complejo obtenido tiene la fórmula C₁₂H₁₀N₄O₇Pb. En cambio, el segundo complejo se obtuvo con el procedimiento anterior pero reemplazando el ácido gálico o ácido salicílico por ácido p-nitrobenzoico. No obstante la fórmula química de este complejo es similar al complejo anterior, existen marcadas diferencias en los modos de coordinación de los ligandos. La disposición de los ligandos en la esfera de coordinación del plomo es completamente diferente. Estas diferencias en los modos de coordinación producen diferentes polímeros de coordinación: en el primer complejo están unidos por grupos nitrato y en el segundo complejo están unidos por interacciones intermoleculares, tales como puentes de hidrógeno e interacciones π - π . Adicionalmente, se ha observado que la adición de ácido carboxílico acelera en ambos casos la cristalización de los complejos.

Tabla 1. Resumen de los datos cristalográficos y parámetros estructurales para Pb C₁₂H₁₀N₄O₇ (1 y 2)

	1	2
Fórmula molecular	C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₇ Pb	C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₇ Pb
Fw	511,36	531,36
Temperatura (K)	296	296
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c
a (Å)	7,0685(12)	6,3383(16)
b (Å)	9,9380(17)	20,221(5)
c (Å)	20,917(4)	12,129(3)
α (deg)	90,00	90,00

sigue ...

... viene

β (deg)	100,542(5)	113,091(10)
γ (deg)	90,00	90,00
V (Å ³), Z	1444,5(4), 4	1430,0(6), 4
μ (mm ⁻¹)	11,715	11,848
δ_{calc} (g/cm ³)	2,351	2,468
$F(000)$	936	936
Goodness-of-fit on F^2	1,075	1,063
$R(F)^a$, $R_w(F^2)^b$	0,0345, 0,0849	0,0457, 0,0935
Largest diff peak hole (e/Å ³)	1,735 y -3,32	2,668 y -3,46

$$^a R = [\sum |\Delta F| / \sum |F_o|]. \quad ^b R_w = [\sum w(\Delta F)^2 / \sum wF_o^2].$$

Tabla 2: Longitudes de enlace (Å) y ángulos de enlace (°) seleccionados para el compuesto C₁₂ H₁₀ N₄ O₇ Pb (1 y 2)

C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₇ Pb (1)		C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₇ Pb (2)	
Longitudes de enlace (Å)		Longitudes de enlace (Å)	
Pb(1)–N(1)	2,491(4)	Pb(1)–N(1)	2,473(5)
Pb(1)–O(1)	2,724(4)	Pb(1)–O(1)	2,549(5)
Pb(1)–O(3)	2,445(4)	Pb(1)–O(4)	2,736(5)
Pb(1)–N(2)	2,569(5)	Pb(1)–N(2)	2,523(5)
Pb(1)–O(2)	2,747(4)	Pb(1)–O(5)	2,660(5)
		Pb(1)–O(7)	2,574(4)
Ángulos de enlace (°)		Ángulos de enlace (°)	
O(3)–Pb(1)–N(1)	83,08(13)	N(1)–Pb(1)–N(2)	65,88(17)
O(3)–Pb(1)–N(2)	72,44(13)	N(1)–Pb(1)–O(1)	77,57(15)
N(1)–Pb(1)–N(2)	65,92(13)	N(2)–Pb(1)–O(1)	71,62(16)
O(3)–Pb(1)–O(1)	80,86(12)	N(1)–Pb(1)–O(7)	79,08(15)
N(1)–Pb(1)–O(1)	79,25(13)	N(2)–Pb(1)–O(7)	138,66(15)
N(2)–Pb(1)–O(1)	137,90(12)	O(1)–Pb(1)–O(7)	80,29(15)
O(3)–Pb(1)–O(2)	142,70(13)	N(1)–Pb(1)–O(4)	74,21(15)
N(1)–Pb(1)–O(2)	77,18(12)	N(2)–Pb(1)–O(4)	114,53(15)
N(2)–Pb(1)–O(2)	70,67(12)	O(1)–Pb(1)–O(4)	144,33(13)
O(1)–Pb(1)–O(2)	124,97(11)	O(7)–Pb(1)–O(4)	73,36(14)
N(5)–O(2)–Pb(1)	100,6(3)	N(1)–Pb(1)–O(5)	71,38(15)
N(4)–O(1)–Pb(1)	102,4(3)	N(2)–Pb(1)–O(5)	71,04(16)
C(2)–N(1)–Pb(1)	121,8(4)	O(1)–Pb(1)–O(5)	138,60(15)
C(1)–N(1)–Pb(1)	120,1(3)	O(7)–Pb(1)–O(5)	118,61(14)
Pb(1)–O(3)–H(3)	109.5		

Estructura del estado sólido y el empaquetamiento cristalino

[Pb(phen)(NO₃)₂H₂O]_n (1)

Las distancias y ángulos de enlace seleccionados para este polímero de coordinación se muestran en la tabla 2, mientras que la figura 1 contiene el diagrama térmico elipsoidal

probabilístico (ORTEP). El compuesto 1 cristaliza en el grupo espacial monoclinico $P2_1/c$. La estructura cristalina revela que la coordinación alrededor del ion plomo es una estructura octaédrica distorsionada, que se debe a la diferencia de las distancias de enlace del Pb–N y Pb–O, donde los cuatro átomos O1, O6, N1, y N2 son coplanares a la base plana. O2 y O7 son cercanos a la posición axial. El átomo central está unido a dos átomos de nitrógeno heterocíclico del ligando quelante 1,10-fenantrolina con longitudes de enlace Pb–N de 2,491 Å y 2,569 Å; tres átomos de oxígeno de los tres grupos nitrato coordinados en forma monodentada con distancias de Pb–O entre 2,725 Å y 2,747 Å y un oxígeno de la molécula de agua con una longitud de enlace de 2,445 Å. Los ángulos de enlace alrededor del Pb (II) están en el rango de 65,92(13)° y 142,70(13)°. El ángulo diedro entre los planos del N1–Pb–O5 y O2–Pb–O3 es 85,77°. Además, de los enlaces de Pb–O mencionados anteriormente, hay tres interacciones Pb---O: Pb---O6 (2,973 Å), Pb---O5 (2,945 Å) y Pb---O7 (3,03 Å), donde las distancias de los enlaces Pb–O son demasiados largos para ser considerados como enlaces de coordinación, pero sí como interacciones débiles.

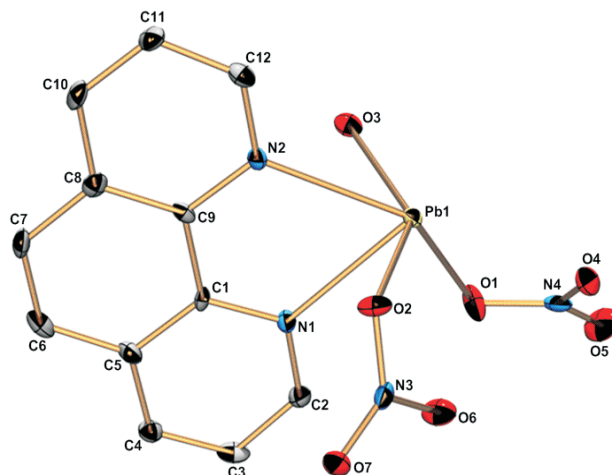


Figura 1. Diagrama de ORTEP del complejo $C_{12}H_{10}N_4O_7Pb$ (1) con elipsoides termales de 50% de probabilidad.

El empaquetamiento cristalino del complejo 1 muestra que las unidades que las conforman están unidas por los átomos O1, N3 y O3 del grupo nitrato, lo que resulta en la formación de una cadena de una dimensión (figura 2a). Existen otras interacciones débiles entre las unidades adyacentes del polímero de coordinación (figura 2b): a) Hay tres tipos de enlaces de puentes de hidrógeno en el compuesto: Una es la que proviene del átomo de oxígeno del grupo nitrato con el átomo de hidrógeno de la 1,10-fenantrolina ($(NO_3)O...H(C-phen)$) con una distancia 2,54 Å. El otro, de un átomo de oxígeno del grupo nitrato y el átomo de hidrógeno de la 1,10-fenantrolina del otro átomo de plomo adyacente ($(NO_3)O...H(C-phen)$) con una distancia 2,73 Å, y el tercero es el que proviene del átomo de oxígeno del grupo nitrato y el oxígeno de la molécula de agua ($(NO_3)O...H(H_2O)$) con una distancia 2,145 Å. b)

Interacciones π - π que se forman debido al solapamiento de los orbitales p del sistema π conjugado de la 1,10-fenantrolina con una distancia 4,25 Å. Por lo tanto, la estructura cristalina tridimensional de este complejo se forma debido a las interacciones débiles Pb-O, interacciones puentes de hidrógeno y las interacciones π - π .

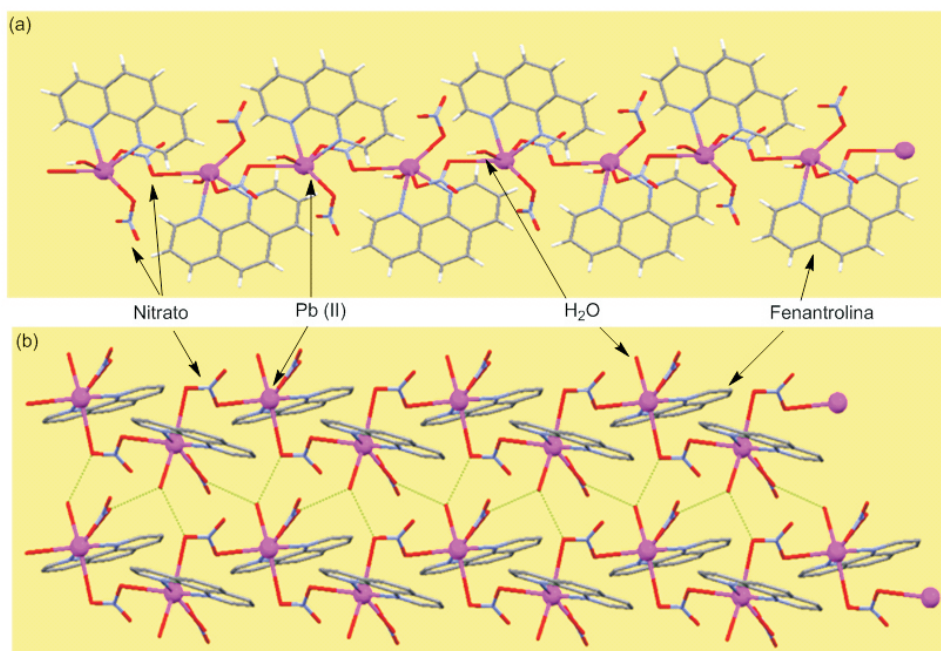


Figura 2. a) Polímero de coordinación de 1D del complejo 1, b) Polímero de coordinación de 2D formado por las interacciones π - π y puentes de hidrógeno.

[Pb(phen)(NO₃)₂H₂O]_n (2)

Las distancias y ángulos de enlace seleccionados para este polímero de coordinación se muestran en la tabla 2, mientras que la figura 3 contiene el diagrama térmico elipsoidal probabilístico (ORTEP). El compuesto 2 cristaliza en el grupo espacial monoclinico P2₁/c. La estructura cristalina revela que la coordinación alrededor del ion plomo es una estructura octaédrica distorsionada. Donde el átomo central está unido a los átomos de nitrógeno heterocíclico del ligando quelante 1,10-fenantrolina con longitudes de los enlaces Pb-N de 2,473 Å y 2,523 Å, con tres átomos de oxígeno de los aniones nitrato con longitudes de enlace Pb-O de 2,54 Å, 2,659 Å y 2,736 Å; y un átomo de oxígeno de la molécula de agua con una longitud de enlace de Pb-O de 2,574 Å. Es importante mencionar que los dos aniones nitratos muestran dos modos de coordinación diferentes: Mientras que un nitrato está coordinado de forma monodentada, el otro nitrato lo hace de forma bidentada. El ángulo diedro entre los planos del N2-Pb1-O7 y el O5-Pb1-O1 es 61,87°.

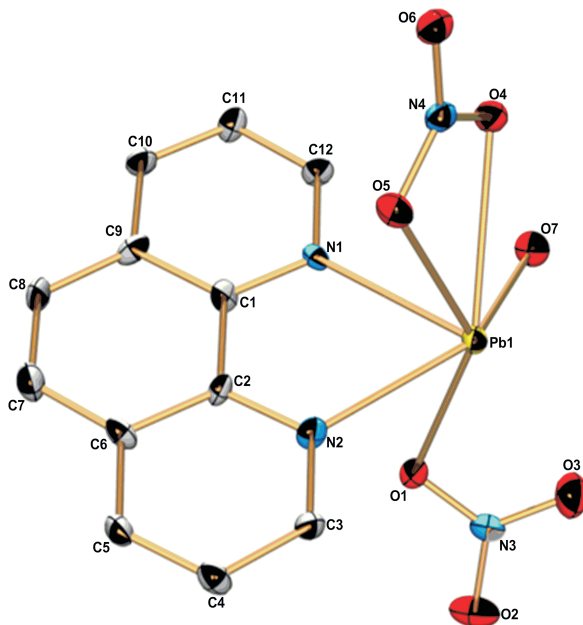


Figura 3. Diagrama de ORTEP del complejo $C_{12}H_{10}N_4O, Pb$ (2) con elipsoides termales de 50% de probabilidad.

El empaquetamiento cristalino del complejo 2 consiste en: Primero, la presencia de dos interacciones débiles entre los átomos de plomo y los átomos de oxígeno de los aniones nitrato entre dos celdas unitarias adyacentes. Cada átomo de plomo forma dos enlaces débiles $Pb \cdots O$, donde las distancias del enlace del Pb con el oxígeno del mismo monómero es 2,981 Å y con el oxígeno bidentado del otro monómero es 3,096 Å. Segundo, los puentes de hidrógeno ocurren entre el hidrógeno de la molécula de agua y el átomo de oxígeno (O3) del anión nitrato monodentado con una longitud de enlace de $O-H \cdots O$ de 2,865(6) Å (figura 4a). Las interacciones π - π entre los anillos, paralelos entre sí, es de 3,51(6) Å (figura 4b). Por lo tanto, debido a la presencia de enlaces de hidrógeno e interacciones π - π , se forma un polímero de coordinación de tres dimensiones.

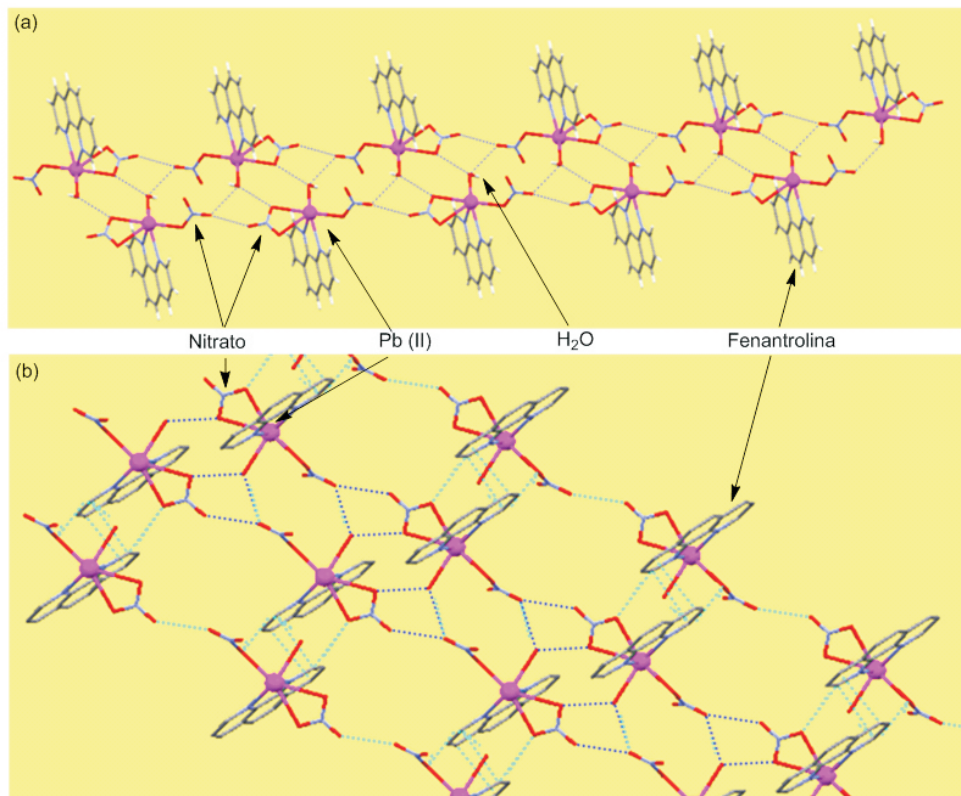


Figura 4. a) Polímero de coordinación de 2D del complejo 2, b) Polímero de coordinación mostrando las interacciones π - π y puentes de hidrógeno.

DISCUSIÓN

Tratemos de encontrar una explicación razonable de porqué los ligandos en los complejos de coordinación de plomo se distribuyen espacialmente de forma diferente. La teoría del par inerte, el cual se refiere la resistencia del par de electrones del último nivel de energía en el plomo (II) para ser removidos o participar en la formación de enlaces covalentes, resulta ser una explicación razonable. Este par de electrones no compartidos puede causar una distribución de carga no esférica alrededor del plomo (II); esto es, la disposición de los ligandos alrededor del catión resulta en un espacio vacío identificable, por lo que la geometría de coordinación alrededor del plomo muestra dos estructuras distintas: holodireccional y hemidireccional.²⁶

Ambos complejos de plomo presentan una geometría hemidireccional; ya que poseen un número de coordinación seis y tienen ligandos que presentan átomos donadores como oxígeno y nitrógeno. Además, las estructuras hemidireccional están favorecidas cuando los átomos del ligando están conectados uno con otro; como es el caso de 1,10-fenantrolina.

La distorsión que presenta el complejo 1 debido a las diferentes distancias en los enlaces Pb-O y Pb-N se debe a la presencia del par de electrones no compartidos del ion plomo (II). Además, la disposición del ligando 1,10-fenantrolina y los dos aniones nitrato con ángulos de enlace de O(2)---Pb(1)---O(1), O(1)---Pb(1)---O(8) de 124,97(11)° y 130,35°, respectivamente, sugiere la presencia de un espacio que es ocupado por el par de electrones no compartidos. Por otro lado, en el complejo 2 la disposición del ligando 1,10-fenantrolina y los dos aniones nitrato (en posición trans) O(1)---Pb(1)---O(4), O(1)---Pb(1)---O(5) con ángulos de 144,33(13)° y 138,60(15)°, respectivamente, sugieren también la presencia de un espacio ocupado por el par de electrones no compartidos en el plomo(II); ésta podría ser la razón por lo que las interacciones entre el átomo de plomo y de oxígenos de los grupos nitratos adyacentes no sean tan fuertes. El conocimiento de los factores que afectan la geometría de coordinación del ion plomo (II) puede ser beneficioso para diseñar agentes complejantes que permitan remover al ion plomo divalente y lo distinguan de otros iones metálicos.

La cristalización de estos complejos se lleva a cabo de una forma sorprendentemente rápida. Esta metodología de cristalización resulta novedosa y se realiza usando los ácidos carboxílicos aromáticos sustituidos, que inicialmente se pretendía usar como ligandos. En el primer caso se ha reportado que el complejo se obtiene bajo las mismas condiciones sin la presencia del ácido carboxílico en seis días²⁵ mientras que en nuestro método se obtienen cristales en una hora, aproximadamente. Con respecto al segundo complejo se ha descrito la síntesis en condiciones diferentes; estas condiciones requieren usar ácido tricloroacético, hidróxido de sodio y como solvente agua. Dicha mezcla fue llevada a un recipiente de acero inoxidable y sometida a una temperatura de 170 °C por cuatro días, para luego ser enfriada lentamente a 6°C/hora.²⁷ En nuestro caso los cristales fueron obtenidos a temperatura ambiente en una hora, aproximadamente.

Es interesante notar que, aunque las condiciones en las cuales se llevó las reacciones para la formación de ambos complejos, son similares i.e. solvente, pH, temperatura, sólo la diferencia de coordinación está dictada por la presencia de los ácidos carboxílicos en la solución. Para el primer complejo se usó el ácido gálico o ácido salicílico, y en el segundo caso se usó el ácido p-nitrobenzoico. Resulta interesante y, a su vez difícil de explicar, cómo estos ácidos carboxílicos influyen en el modo de coordinación de los iones nitrato y la disposición de la fenantrolina en la esfera de coordinación del plomo (II). En el primer complejo, el ácido gálico tiene sustituyentes en posición *orto*, *meta* y *para*; y el ácido salicílico sólo sustituyentes en posición *orto*, por lo que los sustituyentes en posición *orto* podrían explicar la coordinación en el complejo 1. Por otro lado, en el caso del complejo 2 el ácido utilizado presenta sustituyentes en posición *para*; lo cual podría explicar la diferencia de coordinación en este segundo complejo.

CONCLUSIONES

En este trabajo, dos complejos de coordinación de plomo (II), fueron sintetizados y caracterizados por difracción de rayos-X. Los complejos 1 y 2 muestran diferentes estructuras poliméricas, las cuales están sostenidas mediante interacciones débiles de Pb-O, puentes de hidrógenos e interacciones π - π . Además, ambos complejos presentan una geometría octaédrica hemidireccional debido a la presencia del par de electrones no compartidos del átomo de plomo (II). Se ha reportado una nueva metodología de cristalización en base a la presencia de ácidos carboxílicos aromáticos sustituidos a temperatura ambiente, pH ácido y solvente polar. Está claro que la rapidez en la cristalización y el modo de coordinación de los iones nitratos en estos complejos de plomo está influenciado por la naturaleza de los ácidos carboxílicos aromáticos sustituidos en la solución.

AGRADECIMIENTO

Los autores de este estudio agradecen a la *Ph.D.* Gina M. Chiarella del Departamento de Química de la Universidad de Texas A & M por los análisis de los cristales por difracción de rayos X y al Departamento de Química, Facultad de Ciencias de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por el uso de los materiales y reactivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Caneschi, A.; Gatteschi, D.; Lalioti, N.; Sengregorio, C. Cobalt(II)-Nitronyl Nitroxide Chains as Molecular Magnetic Nanowires. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**; 40(9): 1760-1763.
2. Clerac, R.; Miyasaka, H.; Yamashita, M.; Coulon, C. Evidence for Single-Chain Magnet Behavior in a Mn^{III} - Ni^{II} Chain Designed with High Spin Magnetic Units: A Route to High Temperature Metastable Magnets. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**; 124(43): 12837-12844.
3. Ichikawa, S.; Kimura, S.; Mori, H.; Yoshida, G.; Tajima, H. Antiferromagnetic Interaction Achieved by a 3-D Supramolecular Cu^{II} Complex with Pyrazino-Fused TTF as the Ligand, $[CuCl_2(BP-TTF)]$. *Inorg. Chem.* **2006**, 45(19): 7575-7577.
4. Kitagawa, H.; Onodera, N.; Sonoyama, T.; Yamamoto, M.; Fukawa, T.; Mitani, T.; Seto, M.; Maeda, Y. Charge Ordering with Lattice Distortions in a Conductive MMX-Chain Complex, $Pt_2(dta)_4I$ ($dta = CH_3CS_2$). *J. Am. Chem. Soc.* **1999**; 121(43): 10068-10080.
5. Albrecht, M.; Janser, I.; Burk, S.; Weis, P. Self-assembly and host-guest chemistry of big metallosupramolecular M_4L_4 tetrahedra. *Dalton Trans.* **2006**; 23: 2875-2880.
6. Seeber, G.; Tiedemann, B.; Raymond, K. N. Supramolecular Chirality in Coordination Chemistry. *Top. Curr. Chem.* **2006**; 265: 147-183.
7. Leung, D. H.; Bergman, R. G.; Raymond, K. N. Scope and Mechanism of the C-H Bond Activation Reactivity within a Supramolecular Host by an Iridium Guest: A Stepwise Ion Pair Guest Dissociation Mechanism. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**; 128(30): 9781-9797.
8. Yeh, R. M.; Raymond, K. N. Supramolecular Asymmetric Induction in Dinuclear Triple-Stranded Helicates. *Inorg. Chem.* **2006**; 45(3): 1130-1139.
9. Wuerthner, F.; You, C.; Saha-Moeller, C.; Chantú, R. Metallosupramolecular squares: from structure to function. *Chem. Soc. Rev.* **2004**; 33(3): 133-146.
10. Evans, O. R.; Lin, W. Crystal Engineering of NLO Materials Based on Metal-Organic Coordination Networks. *Acc. Chem. Res.* **2002**; 35(7): 511-522.
11. (a) Fujita, M.; Kwon, Y. J.; Washizu, S.; Ogura, K. Preparation, clathration ability, and catalysis of a two-dimensional square network material composed of cadmium(II) and 4,4'-bipyridine. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**; 116(3): 1151-1152; (b) Fan, Y. T.; Li, G.; Li, Z. F.; Hou, H. W.; Mao, H. R. Synthesis, structure and third-order nonlinear optical properties of 1,3,5-triazine-based $Zn(II)$ three-dimensional supramolecule. *J. Mol. Struct.* **2004**; 693: 217-224; (c) Ding, D. G.; Yin, M. C.; Lu, H. J.; Fan, Y. T.; Hou, H. W.; Wang, Y. T. A novel copper diphosphonate complex $Cu_4(aedp)_2(4,4'-bpy)(H_2O)_4$ with three-dimensional framework structure. *J. Solid State Chem.* **2006**; 179 (3): 747-752.
12. Hagrman, P. J.; Hagrman, D.; Zubieta, J. Organic-inorganic hybrid materials: from "Simple" coordination polymers to organodiamine-templated molybdenum oxides. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**; 38 (18): 2639-2684.
13. Holliday, B. J.; Mirkin, C. A. Strategies for the Construction of Supramolecular Compounds through Coordination Chemistry. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**; 40(11): 2022-2043.

14. Moulton, B.; Zaworotko, M. From Molecules to Crystal Engineering: Supramolecular Isomerism and Polymorphism in Network Solids. *J. Chem. Rev.* **2001**; 101(6): 1629-1658.
15. Steel, P. J. Ligand Design in Multimetallic Architectures: Six Lessons Learned. *Acc. Chem. Res.* **2005**; 38(4): 243-250.
16. Eddaoudi, M.; Moler, D. B.; Li, H.; Chen, B.; Reineke, T. M.; O'Keeffe, M.; Yaghi, O. M. Modular Chemistry: Secondary Building Units as a Basis for the Design of Highly Porous and Robust Metal-Organic Carboxylate Frameworks. *Acc. Chem. Res.* **2001**; 34(4): 319-330.
17. (a) Magyar, J. S.; Weng, T. C.; Stern, C. M.; Dye, D. F.; Rous, B. W.; Payne, J. C.; Bridgewater, B. M.; Mijovilovich, A.; Parkin, G.; Zaleski, J. M.; Penner-Hahn, J. E.; Godwin, H. A. Reexamination of Lead(II) Coordination Preferences in Sulfur-Rich Sites: Implications for a Critical Mechanism of Lead Poisoning. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**; 127(26): 9495-9505. (b) Ghering, A. B.; Jenkins, L. M. M.; Schenck, B. L.; Deo, S.; Mayer, R. A.; Pikaart, M. J.; Omichinski, J. G.; Godwin, H. A. Spectroscopic and Functional Determination of the Interaction of Pb^{2+} with GATA Proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**; (11): 127, 3751-3759. (c) Payne, J. C.; Horst, M. A.; Godwin, H. A. Lead Fingers: Pb^{2+} Binding to Structural Zinc-Binding Domains Determined Directly by Monitoring Lead-Thiolate Charge-Transfer Bands. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**; 121(29): 6850-6855. (d) Fan, S.-R.; Zhu, L.-G. Influence of the Reaction Conditions on the Self-assembly of Lead(II) 5-Sulfosalicylate Coordination Polymers with Chelating Amine Ligands. *Inorg. Chem.* **2006**; 45(19): 7935-7942. (e) Fan, S.-R.; Zhu, L.-G. Syntheses, Structures, and Characterizations of Four New Lead(II) 5-Sulfosalicylate Complexes with both Chelating and Bridging Neutral Ligands. *Inorg. Chem.* **2007**; 46(16): 6785-6793.
18. Spiro, T. G.; Stigliani, W. M. *Chemistry of the Environment*; Prentice Hall: Upper Saddle River, NJ, **1996**.
19. Kessel, I.; O'Connon, J. T. *Getting the lead out: the complete resource on how to prevent and cope with lead poisoning*; Plenum Press: New York, **1997**.
20. Claudio, E. S.; Horst, M. A.; Forde, C. E.; Stern, C. L.; Zart, M. K.; Godwin, H. A. ^{207}Pb - 1H Two-Dimensional NMR Spectroscopy: A Useful New Tool for Probing Lead (II) Coordination Chemistry. *Inorg. Chem.* **2000**; 39(7): 1391-1397.
21. (a) Mao, J.-G.; Wang, Z.-K.; Clearfield, A. New Lead Inorganic-Organic Hybrid Microporous and Layered Materials: Synthesis, Properties, and Crystal Structures. *Inorg. Chem.* **2002**; 41(23): 6106-6111. (b) Sui, B.; Zhao, W.; Ma, G.; Okamura, T.; Fan, J.; Li, Y. Z.; Tang, S. H.; Sun, W. Y.; Ueyama, N. Novel Pb(II) coordination frameworks: synthesis, crystal structures and unusual third-order nonlinear optical properties. *J. Mater. Chem.* **2004**; 14(10): 1631-1639. (c) Buston, J. E. H.; Claridge, T. D. W.; Heyes, S. J.; Leech, M. A.; Moloney, M. G.; Prout, K.; Stevenson, M. *Structural investigations of a lead(IV) tetraacetate-pyridine complex*. *Dalton Trans.* **2005**; 19: 3195.
22. Li, H. H.; Chen, Z. R.; Li, J. Q.; Huang, C. C.; Zhao, B.; Ni, Z. X. Lewis-base adducts of lead(II) compounds: synthesis, structure and quantum chemistry calculation of mononuclear $Pb(phen)(SCN)_2$. *Chin. J. Struct. Chem.* **2005**; 24(1): 39-43.
23. Yang, B. P.; Sun, Z. M.; Mao, J. G. Syntheses, characterizations and crystal structures of two lead(II) diphosphonates: $Pb_2[NH(CH_2PO_3)_2] \cdot 2H_2O$ and $Pb_3[HO_2C(CH_2)_3NH(CH_2PO_3)_2] \cdot 2H_2O$. *Inorg. Chim. Acta.* **2004**; 357(5): 1583-1588.

24. Wang, X. B.; Vittal, J. J. Self-assembly of a 1D helical coordination polymeric lead(II) complex with Pb--O(perchlorate)--Pb scaffoldings. *Inorg. Chem. Commun.* **2003**; 6(8): 1074-1077.
25. Jin-An Zhao, Yu-Ling Wang, Yu-Ting Wang, Yao-Ting Fan, and Hong-Wei Hou, Syntheses, Crystal Structure and Characterizations of a New Lead (II) Coordination Compound $[\text{Pb}(\text{phen})(\text{NO}_3)_2(\text{H}_2\text{O})]_n$. *J. Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, **2007**; 37(2):109-113.
26. Liat Shimon-Livny, Jenny P. Glusker, and Charles W. Bock, Lone Pair Functionality in Divalent Lead Compounds, *J. Inorg. Chem.* **1998**; 37(8): 1853-1867.
27. Quanzheng Zhang and Canzhong Lu, Synthesis and characterization of a lead (II) complex $[\text{Pb}(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)_2]$ (phen = 1,10-phenanthroline), *Journal of Chemical Crystallography*. **2005**; 35(10): 795-798.

COMPUESTOS FENÓLICOS y ACTIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIELASTASA, ANTICOLAGENASA y FOTOPROTECTORA *IN VITRO* DE *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Caesalpinia spinosa* (tara)

Víctor Hugo Doroteo¹, Cecilia Terry², Camilo Díaz³,
Abraham Vaisberg³, Rosario Rojas^{1,3}

RESUMEN

Con miras a explorar el potencial de la **tara** (*Caesalpinia spinosa*) y el **camu camu** (*Myrciaria dubia*) para el desarrollo de bloqueadores solares naturales y productos antiedad, en el presente trabajo se evaluó sus actividades antioxidante, antielastasa, anticolagenasa y fotoprotectora *in vitro*. El extracto hidroalcohólico de tara mostró una buena actividad antioxidante en diferentes ensayos *in vitro* (DPPH, TEAC, radical hidroxilo, radical superóxido); asimismo, inhibe la enzima colagenasa con mayor potencia que el control positivo epigallocatequina galato ($EC_{50} = 162,78$ y $321,41$ $\mu\text{g/ml}$, respectivamente). El extracto hidroalcohólico de camu camu, a pesar de su alto contenido de ácido ascórbico, no mostró una actividad antioxidante relevante; pero en cambio, en un cultivo de fibroblastos 3T3 se determinó que ejerce un buen efecto protector *in vitro* (43,6%) contra la radiación UV-B. Se recomienda estudiar la asociación de ambos extractos como base para el desarrollo de un producto antiedad o de un bloqueador solar con mecanismo de acción dual.

Palabras clave: antioxidante, camu camu, compuestos fenólicos, fotoprotección, tara, UV-B.

PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT, ANTIELASTASE, ANTICOLLAGENASE AND PHOTOPROTECTIVE *IN VITRO* ACTIVITIES OF *Myrciaria dubia* (camu camu) AND *Caesalpinia spinosa* (tara)

ABSTRACT

In order to explore the potential of **tara** (*Caesalpinia spinosa*) and **camu camu** (*Myrciaria dubia*) to develop natural sunscreen and anti-aging products, the present study evaluated their antioxidant, anti-elastase, anti-collagenase and photoprotective activities *in vitro*. The hydroalcoholic extract of tara showed good antioxidant activity in different *in vitro* assays (DPPH, TEAC, hydroxyl radical, superoxide radical), and it also inhibits collagenase enzyme better than the positive control epigallocatechin gallate ($EC_{50} = 162.78$ and 321.41 $\mu\text{g/ml}$, respectively). The hydroalcoholic extract of camu camu, despite its high content of ascorbic acid, did not show a significant antioxidant activity, but instead, in a culture of 3T3 fibroblasts it exerted a good protective effect *in vitro* (43.6%) against UV-B radiation. It is recommended to study the association of both extracts as a basis for developing an anti-aging product or a sunscreen with a dual mechanism of action.

¹ Unidad de Investigación en Productos Naturales.

² 3QP SAC.

³ Laboratorios de Investigación y Desarrollo, Facultad de Ciencias y Filosofía. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, Lima 31, Perú. rosario.rojas@upch.pe

Key words: antioxidant, camu camu, phenolic compounds, photoprotection, tara, UV-B.

INTRODUCCIÓN

Los efectos dañinos de la radiación solar sobre la piel son causados principalmente por la radiación ultravioleta, la cual se divide en la región UV-A (320-400 nm), UV-B (290-320 nm) y UV-C (200-290 nm). La radiación UV-C es filtrada por la atmósfera antes de llegar a la tierra, la radiación UV-B no es completamente filtrada por la capa de ozono y es causante principalmente del eritema en piel, la radiación UV-A llega hasta capas profundas de la dermis provocando el fotoenvejecimiento de la piel.¹

La exposición de la piel a la luz solar genera la liberación de citoquinas pro-inflamatorias e inmunosupresoras. Asimismo, produce especies reactivas de oxígeno, las cuales reaccionan con el ADN, proteínas, ácidos grasos, causando envejecimiento prematuro de la piel caracterizado por hiper/hipopigmentación de la piel, pérdida de elasticidad, arrugas y riesgo de cáncer a la piel.²

En los últimos años se ha despertado en la población un gran interés por usar productos naturales botánicos para prevenir el daño inducido por la radiación UV. En tal sentido, las plantas más promisorias para prevenir los daños causados por la radiación solar son aquellas que posean actividad antiinflamatoria, inmunomoduladora y antioxidante.³

El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antioxidante, antielastasa, anticolagenasa y fotoprotectora *in vitro* de dos extractos de plantas peruanas, tara y camu camu, con miras a explorar su potencial para el desarrollo de bloqueadores solares naturales y productos antiedad.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipos. Espectrofotómetro Shimadzu UV/Vis 1240, lector de microplacas multifunción (Microplate reader CHAMELEON V).

Reactivos. 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH), reactivo Folin-Ciocalteu, carbonato de sodio, hidróxido de sodio, ácido gálico, ácido ascórbico, ácido metafosfórico, 2,6-dicloroindofenol, galato de epigallocatequina (EGCG), NaCl, CaCl₂, etanol, ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), persulfato de sodio, Trolox, hexacianoferrato de potasio, ácido tricloroacético, cloruro férrico, nitroazul de tetrazolio (NBT), NADH, metosulfato de fenazina (PMS), fosfato de potasio monobásico, fosfato de potasio dibásico, desoxiribosa, peróxido de hidrógeno, EDTA, ácido tiobarbitúrico, ácido tricloroacético, manitol, elastasa pancreática porcina, enzima colagenasa de *Clostridium histolyticum*, N-(2-hidroxi-1,1-bis(hidroximetil)-etil)-glicina (Tricine), N-Succinyl-Ala-Ala-p-nitroanilida (AAPVN), N-[3-(2-furil) acrilolil]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) y bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Fueron adquiridos de SIGMA.

Muestras vegetales. Se colectó frutos maduros de *Myrciaria dubia* (camu camu) y vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara). Las muestras vegetales fueron colectadas e identificadas por el biólogo Camilo Díaz. Las respectivas muestras botánicas fueron depositadas en el HEPLAME (Herbario de Plantas Medicinales, Sección de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia).

Preparación de extractos. Las muestras vegetales secas y molidas fueron extraídas con una mezcla de etanol y agua destilada (7:3) por 4 días a temperatura ambiente. Luego de la filtración, se procedió a evaporar el solvente en un rotaevaporador a temperatura menor de 40 °C. Los extractos hidroalcohólicos obtenidos fueron almacenados en la refrigeradora a temperatura menor de 4 °C hasta su uso.

Determinación de compuestos fenólicos: Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu descrito por García *et al.*⁴ Se preparó una curva de calibración de ácido gálico cuyo rango de concentración fue de 1-5 mg/L. Los extractos hidroalcohólicos de las 2 muestras vegetales fueron evaluados a una concentración de 0,1 mg/mL. A 100 μ L de la muestra se le añadió 250 μ L de la solución de Folin-Ciocalteu (diluido 1 en 2 con agua milli-Q), se sonicó por 5 min, luego se le añadió 1250 μ L de carbonato de sodio al 20% y 400 μ L de agua ultra pura. Se agitó vigorosamente, se cubrió de la luz y se le llevó a reposo por 90 minutos a temperatura ambiente. Las absorbancias respectivas fueron medidas a 760 nm en un espectrofotómetro. Las muestras fueron analizadas por triplicado y el contenido de compuestos fenólicos totales fue expresado en mg de ácido gálico/g de extracto hidroalcohólico.

Contenido de ácido ascórbico. El contenido de ácido ascórbico fue determinado de acuerdo al método descrito por Lung *et al.*⁵ Se extrajo 20 mg del extracto hidroalcohólico con 2 mL de ácido metafosfórico al 1% por 45 minutos a temperatura ambiente; al cabo de ese tiempo se filtró. Se tomó 100 μ L de la solución anterior y se le agregó 900 μ L de una solución de 2,6-dicloroindofenol (cuya absorbancia estaba entre 0,30 y 0,35 para asegurar que la lectura de la muestra se encuentre dentro del rango de las de los estándares), luego de 1 minuto se midió la absorbancia a 515 nm. El contenido de ácido ascórbico se determinó a partir de la recta de regresión obtenida con el ácido ascórbico estándar en las concentraciones de 1, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 μ g/mL. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Actividad antioxidante en el test de DPPH. Se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos mediante el método de Mensor *et al.*⁶ Se preparó diluciones en etanol acuoso de los extractos hidroalcohólicos hasta obtener concentraciones de 0,0 a 150,0 μ g/mL. Se mezcló 1,0 mL de cada una de las diluciones con 0,5 mL de una solución 0,3 mM de DPPH en etanol y se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 30 minutos, al término de los cuales se procedió a medir la absorbancia de la mezcla a 517 nm. Todas las pruebas se realizaron por cuadruplicado. Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante de cada muestra de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad antioxidante (\%)} = \left(\frac{AC - AM - AB}{AC} \right) \times 100$$

donde:

AM es la absorbancia de la muestra + DPPH

AB es la absorbancia del blanco (muestra + etanol)

AC es la absorbancia del blanco del reactivo (DPPH + etanol).

La concentración del extracto hidroalcohólico que neutraliza al 50 por ciento de los radicales de DPPH (EC_{50} , concentración efectiva media) se obtiene de la recta obtenida al graficar el porcentaje de actividad antioxidante versus la concentración de la muestra (μ g/mL).

Actividad antioxidante total (TEAC). La capacidad antioxidante se determinó siguiendo el método descrito por Hazra *et al.*⁷ El radical ABTS⁺ fue generado al mezclar un volumen de solución 14 mM de ABTS con un volumen de la solución 4,9 mM de persulfato de sodio, seguido de incubación por 16 h en oscuridad. La solución del radical ABTS se diluyó con agua hasta obtener una absorbancia de 0,70 ($\pm$ 0,2). Se mezcló 10 μ L de los extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones (0,05 a 10 mg/mL) con 1,0 mL de la solución de radical ABTS y se leyó la absorbancia luego de 6 minutos a una longitud de onda de 734 nm.

Se procedió de igual manera para medir la actividad antioxidante del estándar Trolox. Todas las pruebas se realizaron por cuadruplicado.

Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante total (% AAT) mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ AAT} = (A_o - A_m) \times 100 / A_o$$

Donde:

% AAT= Porcentaje de Actividad antioxidante total

A_o = Absorbancia del control

A_m = Absorbancia de la muestra con ABTS – Absorbancia del blanco de la muestra

El blanco consistió de la mezcla de 10 μL del extracto hidroalcohólico con 1,0 mL de agua destilada. El control consistió de la mezcla de 10 μL de etanol con 1,0 mL de la solución de radical ABTS.

Se calculó el porcentaje de inhibición de la formación de radicales ABTS y se graficó como una función de la concentración. Finalmente, se determinó el TEAC (trolox equivalent antioxidant concentration) dividiendo la pendiente de la gráfica de la muestra (extracto hidroalcohólico) sobre la pendiente de la gráfica para el estándar Trolox.

Inhibición del radical-anión superóxido. La actividad inhibitoria se evaluó usando el método descrito por Gupta *et al.*⁸ Se mezcló 1 mL de nitroazul de tetrazolio (NBT) 156 μM (en buffer fosfato 100 mM, pH 7,4) con 1 mL de NADH 468 μM (en buffer fosfato 100 mM, pH 7,4) y 0,1 mL del extracto hidroalcohólico o quercetina (a diferentes concentraciones finales entre 20 a 200 $\mu\text{g/mL}$), se mezcló y añadió 0,1 mL de metosulfato de fenazina (PMS) 60 μM (en buffer fosfato 100 mM, pH 7,4) para iniciar la reacción. La mezcla se incubó a 25 °C por 5 minutos y se leyó su absorbancia a 560 nm. Se realizó de manera similar un control sin muestra y se utilizó la quercetina como compuesto de referencia. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

El porcentaje de inhibición del anión radical superóxido fue calculado como:

$$\% \text{ Inhibición} = (A_o - A_m) \times 100 / A_o$$

Donde:

A_o = Absorbancia del control (sin muestra)

A_m = Abs. de la mezcla reaccionante con PMS – Abs. de la mezcla reaccionante sin PMS

Las EC_{50} (Concentración efectiva media) se calcularon por análisis de regresión lineal, en donde la abscisa representa las concentraciones de los extractos hidroalcohólicos y la ordenada el promedio de porcentaje de actividad antioxidante obtenido a partir de tres mediciones independientes.

Inhibición del radical hidroxilo. La actividad fue determinada de acuerdo al método descrito por Özyürek *et al.*⁹ Se mezcló 100 μL de buffer KH_2PO_4 –KOH (100 mM, pH 7,4), 100 μL desoxiribosa (15 mM), 50 μL de ácido ascórbico (1 mM), 50 μL H_2O_2 (10 mM), 50 μL de extracto hidroalcohólico (a las concentraciones finales de 5, 15, 25, 35 y 50 $\mu\text{g/mL}$), 100 μL FeCl_3 (500 μM) y 50 μL EDTA (1mM). La mezcla de reacción fue incubada a 37 °C por 1 hora. Al final de dicho periodo de incubación se agregó 500 μL de ácido tiobarbitúrico (TBA, 1% w/v) seguido de la adición de 500 μL de ácido tricloroacético (TCA, 2,8% w/v). Las

soluciones se pusieron en un baño de agua a 80 °C por 20 minutos para que desarrolle el color rosado del aducto malondialdehído-ácido tiobarbitúrico y luego la absorbancia se midió a 532 nm. Se realizó un control sin muestra y se utilizó al manitol como compuesto de referencia. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se calculó el porcentaje de inhibición de formación de radical hidroxilo de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = 100 \times (A_0 - A_m) / A_0$$

donde:

A_0 = Absorbancia del control (sin muestra)

A_m = Abs. de la muestra con desoxiribosa – Abs. de la muestra sin desoxiribosa

Las EC_{50} (Concentración efectiva media) se calculó por análisis de regresión lineal, en donde la abscisa representa las concentraciones de los extractos hidroalcohólicos y la ordenada el promedio de porcentaje de actividad antioxidante obtenido a partir de tres mediciones independientes.

Inhibición de enzima elastasa: El ensayo se llevó a cabo usando el método descrito por Thring *et al.*¹⁰ y consistió en incubar 25 μ L de muestra (a las concentraciones finales de 5, 65, 125, 180 y 250 μ g/mL) con 100 μ L de la enzima elastasa pancreática porcina (PE, 2.5 μ g/mL en agua HPLC) por 15 minutos y luego agregar 125 μ L del sustrato N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide (AAPVN, 1,6 mM en buffer THAM, Sigma 7-9®, pH 8,0) para que la reacción se inicie. Luego de 11 minutos se midió la absorbancia a 410 nm usando una lectora de placas multifunción CHAMELEON V. Se realizó un control sin muestra y se utilizó galato de epigallocatequina (EGCG) como compuesto de referencia. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

El porcentaje de inhibición de la enzima elastasa se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición elastasa} = (Abs_0 - Abs_m) \times 100 / Abs_0$$

donde:

Abs_0 = Absorbancia del control (sin muestra)

Abs_m = Abs. de la mezcla con sustrato – Abs. de la mezcla sin sustrato

Las EC_{50} (Concentración efectiva media) se calcularon por análisis de regresión lineal, en donde la abscisa está representada por las concentraciones de los extractos y la ordenada por el promedio de porcentaje de actividad antioxidante obtenido a partir de tres mediciones independientes.

Inhibición de enzima collagenasa: El ensayo se llevó a cabo usando el método descrito por Thring *et al.*¹⁰ y consistió en incubar 100 μ L de muestra (a las concentraciones finales de 80, 160 y 250 μ g/mL) con 260 μ L de la enzima collagenasa de *Clostridium histolyticum* (ChC, 1,54 unidades/mL en buffer pH 7,5 de Tricine (N-[Tris(hidroximetil)metil]glicina) 50 mM con 400 mM NaCl y 10 mM $CaCl_2$) por 15 minutos y luego se agregó 240 μ L del sustrato N-[3-(2-furil) acrilolil]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA, 2 mM en buffer pH 7,5 de Tricine 50 mM con 400 mM NaCl y 10 mM $CaCl_2$) para que la reacción se inicie. Luego de 5 minutos se midió la absorbancia a 348 nm usando un espectrofotómetro UV-Visible. Se realizó un control sin muestra y se utilizó galato de epigallocatequina (EGCG) como compuesto de referencia. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

El porcentaje de inhibición se calculó:

$$\% \text{ Inhibición de colagenasa} = (\text{Abs}_0 - \text{Abs}_m) \times 100 / \text{Abs}_0$$

donde:

Abs_0 = Absorbancia del control (sin muestra)

Abs_m = Abs. de la mezcla con sustrato – Abs. de la mezcla sin sustrato

Las EC_{50} (Concentración efectiva media) se calcularon por análisis de regresión lineal, en donde la abscisa está representada por las concentraciones de los extractos y la ordenada por el promedio de porcentaje de actividad antioxidante obtenido a partir de tres mediciones independientes.

Inhibición de daño celular por radiación ultravioleta. Los fibroblastos BALB/c 3T3 fueron cultivados en medio de crecimiento Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) conteniendo 10% de suero fetal bovino (FBS), 2 mmol/L glutamina, 100 U/ml penicilina y 100 µg/mL estreptomicina a 37 °C bajo atmósfera húmeda con 5% CO_2 . Los fibroblastos fueron cultivados hasta llegar a un nivel de confluencia de 90-95% en placas de 24 pozos. El medio de crecimiento fue reemplazado 24 horas antes de agregar los extractos por DMEM conteniendo 0,1% FBS, 2 mmol/L glutamina, 100 U/mL penicilina y 100 µg/mL estreptomicina. Para el experimento se utilizó una lámpara de luz UV-B de longitud de onda máxima = 312 nm (sin emisión UV-A ni UV-C). Las células fueron pre-tratadas con el extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones por espacio de 4 horas, al cabo de las cuales fueron irradiadas con la luz UV-B por espacio de 90 segundos y con la lámpara UV a una altura de 20 cm. Justo antes de exponer las células a la radiación UV, las monocapas fueron lavadas con solución buffer fosfato salino (PBS) y expuestas en presencia de PBS. Luego de la irradiación, el PBS fue remplazado por DMEM conteniendo 1 % FBS, 2 mmol/L glutamina, 100 U/mL penicilina y 100 µg/mL estreptomicina. Las células fueron incubadas nuevamente por 24 horas al término de las cuales se cuantificó la viabilidad de las células por medio del cambio de color del reactivo MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolio), medido a la longitud de onda = 570 nm.¹¹

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se puede observar que el extracto hidroalcohólico de tara (EC_{50} = 4,97 µg/ml) posee buena actividad antioxidante en el ensayo de DPPH, la cual es inclusive mayor a la del control positivo, el flavonoide rutina (EC_{50} = 6,43 ± 0.22 µg/ml). Asimismo, el extracto de tara tiene una capacidad antioxidante total (TEAC, Trolox equivalent antioxidant concentration) similar a la del control positivo Trolox (94 versus 100%, respectivamente).

En el test de inhibición del radical superóxido, el extracto de tara presentó una actividad similar a la del control positivo quercitina (EC_{50} = 41,77 y 41,24 µg/ml, respectivamente). Sin embargo, dicho extracto no inhibe al radical hidroxilo (EC_{50} > 200 µg/ml).

Tabla 1. Actividad antioxidante de tara y camu camu

Extractos	DPPH	TEAC	Radical superóxido	Radical hidroxilo
	EC₅₀ (µg extracto/mL)		EC₅₀ (µg extracto/mL)	EC₅₀ (µg extracto/mL)
Tara	4,97 ± 0,03	0,94 ± 0,05	41,77 ± 1,17	244,05 ± 2,44
Camu camu	>100,00	< 0,01	> 200,00	>500,00

A pesar de su alto contenido en ácido ascórbico (> 6%), el extracto de camu camu no presentó actividad antioxidante en los cuatro ensayos evaluados (tablas 1 y 2). Al parecer, la buena actividad antioxidante mostrada por el extracto de tara dependería en mayor medida de la concentración y tipo de compuestos fenólicos

Tabla 2. Contenido de fenólicos y ácido ascórbico en tara y camu camu

Extractos	Contenido de fenólicos (mg ácido gálico/g extracto)	Contenido de ácido ascórbico (mg/100 g)
Tara	29,5 ± 0,11	132,63 ± 4,13
Camu camu	11,7 ± 0,05	6153,06 ± 170,34

La enzima elastasa es una proteasa que degrada la proteína elastina, la cual es sumamente importante para darle elasticidad a las arterias, pulmones, ligamentos y piel. La actividad de la enzima elastasa aumenta con el paso de los años, especialmente en personas mayores de 40 años de edad, lo cual conlleva a la disminución de la elasticidad de la piel y aparición de arrugas.¹²

El 80% del peso seco de la piel está constituido por la proteína colágeno, la cual es responsable del tono de la piel. La enzima collagenasa se encarga de romper los enlaces peptídicos del colágeno y se estima que sustancias que inhiban dicha enzima podrían ser usados como agentes preventivos de la aparición de arrugas.¹⁰

Se ha reportado estudios sobre la actividad de diversos extractos de plantas y aceites esenciales con actividad anticlagenasa y antielastasa,¹²⁻¹⁴ aunque hasta el momento ninguno de ellos fue realizado con plantas peruanas. En el presente trabajo de investigación se encontró que tanto la tara como el camu camu no poseen actividad antielastasa *in vitro*; sin embargo, el extracto de tara sí mostró una buena actividad anticlagenasa, inclusive mayor que la del control positivo EGCG (EC₅₀ = 162,78 y 321,41 µg/mL, respectivamente) (tabla 3).

Tabla 3. Inhibición de enzimas elastasa y colagenasa por extractos hidroalcohólicos de tara y camu cam

Muestra	IC ₅₀ (µg/mL)	
	Elastasa	Colagenasa
EGCG	10,3 ± 0,7	321,4 ± 10,7
Tara	> 250,0	162,8 ± 1,1
Camu camu	> 250,0	> 500,0

La radiación ultravioleta puede causar respuesta inflamatoria de la piel, daño del ADN, fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis. En los últimos años se ha venido incrementando el uso de extractos de plantas que puedan contrarrestar los efectos dañinos de la radiación ultravioleta. El efecto protector de las plantas contra la radiación UV se debería principalmente a su propiedad antiinflamatoria y antioxidante.¹¹

El efecto protector del extracto hidroalcohólico de tara contra la irradiación UV-B fue evaluada a una concentración máxima de 10 µg/mL, ya que a concentraciones mayores producía mortalidad de los fibroblastos 3T3. A dicha concentración el extracto presenta sólo un efecto protector leve (8%).

El extracto de camu camu resultó ser menos tóxico contra los fibroblastos 3T3, por lo que pudo ser evaluado a concentraciones de hasta 200 µg/mL. A esta concentración, el camu camu presentó un efecto protector contra los rayos UV-B de hasta 43,6% (tabla 4).

Tabla 4. Efecto protector *in vitro* de extractos de tara y camu camu contra la irradiación UV-B

Extracto	Concentración	
	(µg/mL)	% Protección
Camu camu	200,0	43,6
	100,0	17,1
	10,0	8,1
Tara	5,0	0,0

Muchos autores coinciden en que los extractos de plantas y las sustancias naturales aisladas de ellas podrían ser usados como ingredientes para bloqueadores solares debido a sus propiedades antioxidantes y a su capacidad de absorber la luz ultravioleta.¹⁵ En nuestro estudio hemos encontrado 2 extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales peruanas, uno preparado a partir de las vainas de la tara el cual a bajas dosis posee muy buena actividad antioxidante *in vitro* y otro a partir de los frutos maduros del camu camu, capaz de inhibir el efecto dañino de la radiación ultravioleta sobre los fibroblastos. Se recomienda investigar si la asociación de ambos extractos actúa en forma sinérgica, con miras a desarrollar un bloqueador solar natural con mecanismo de acción dual.

CONCLUSIONES

El extracto hidroalcohólico de tara mostró una buena actividad antioxidante en diferentes ensayos *in vitro* (DPPH, TEAC, radical hidroxilo, radical superóxido); asimismo, inhibe la enzima colagenasa con mayor potencia que el control positivo epigallocatequina galato. El extracto hidroalcohólico de camu camu, a pesar de su alto contenido de ácido ascórbico, no mostró una actividad antioxidante relevante; sin embargo, ejerce un buen efecto fotoprotector *in vitro* contra la radiación UV-B.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de investigación fue llevado a cabo gracias al auspicio del FIDECOM-Innovate Perú (Proyecto 148-FINCYT-FIDECOM-PIPEI-2010: Desarrollo y validación científica de ingredientes naturales basados en plantas medicinales y/o alimenticias de la biodiversidad peruana para la industria cosmética).

BIBLIOGRAFÍA

1. F'guyer, S., Afaq, F., Mukhtar, H. Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **2003**; 19, 56.
2. Chanchal, D., Swarnlata, S. Herbal photoprotective formulations and their evaluation. *Open Nat. Prod. J.* **2009**; 2, 71.
3. Saraf, S., Kaur, C.D. Phytoconstituents as photoprotective novel cosmetic formulations. *Phcog. Rev.* **2010**; 4, 1.
4. García Nava M.J. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_IUAQGarciaNava.pdf (último acceso 8 de octubre del 2012).
5. Lung, M-Y., Chang, Y-C. Antioxidant properties of the edible Basidiomycete *Armillaria mellea* in submerged cultures. *Int. J. Mol. Sci.* **2011**; 12, 6367.
6. Mensor, L., Menezes, F., Leitao, G., Reis, A., Santos, T., Coube, C., Leitao, S. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res.* **2001**; 15, 127.
7. Hazra, B., Biswas, S., Mandal, N. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC Complement. Altern. Med.* **2008**; 8, 63.
8. Gupta, M., Kanti Mazumdar, U., Gomathi, P., Sambath Kumar, R. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Ervatamia coronaria* Stapf. leaves. *Iran. J. Pharm. Res.* **2004**; 3, 119.
9. Özyürek, M., Bektaşoğlu, B., Güçlü, K., Apak, Reşat. Hydroxyl radical scavenging assay of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method using catalase for hydrogen peroxide degradation. *Anal. Chim. Acta* **2008**; 616, 196.
10. Thring, T.S.A., Hili, P., Naughton, D.P. Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of 21 plants. *BMC Complement. Altern. Med.* **2009**; 9, 27.
11. Bae, J-Y., Choi, J-S., Kang, S-W., Lee, Y-J., Park, J., Kang, Y-H. Dietary compound ellagic acid alleviates skin wrinkle and inflammation induced by UV-B irradiation. *Exp. Dermatol.* **2010**; 19, e182.
12. Mori, M., Ikeda, N., Kato, Y., Minamino, M., Watabe, K. Inhibition of elastase activity by essential oils *in vitro*. *J. Cosmet. Dermatol.* **2002**; 1, 183.
13. Moon, J-Y., Yim, E-Y., Song, G., Lee, N.H., Hyun, C-G. Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju island plants. *EurAsia J. BioSci.* **2010**; 4, 41.

14. Thring, T.S.A., Hili, P., Naughton, D.P. Antioxidant and potential anti-inflammatory activity of extracts and formulations of white tea, rose, and witch hazel on primary human dermal fibroblasts cells. *J. Inflamm.* **2011**; 8, 27.
15. Rancan, F., Rosan, S., Boehm, K., Fernandez, E., Hidalgo, M.E., Quihot, W., et al. Protection against UVB irradiation by natural ?lters extracted from lichens. *J. Photochem. Photobiol. B.* **2002**; 68, 133.

ESTUDIO FITOQUÍMICO DE *Usnea durietzii* MOT. (USNEACEAE)

B. Ruth Zelada^{1*}, Ana Pastor de Abram²

RESUMEN

En el Perú existen escasos estudios fitoquímicos de especies líquénicas, requiriendo por ello una mayor atención. Las sustancias líquénicas reportan diversas actividades, entre ellas: antibacterial, antitumoral, herbicida e insecticida. El género *Usnea* presenta gran variedad de especies, *Usnea durietzii*, especie de esta investigación, no reporta estudios fitoquímicos a nivel nacional e internacional. El objetivo de esta investigación fue aislar y determinar estructuras de compuestos líquénicos presentes en *U. durietzii*. A través de la marcha fitoquímica se determinó la presencia de quinonas, triterpenos y esteroides; en menor cantidad, fenoles, taninos, grasas, lactonas y cumarinas, azúcares y flavonoides. La extracción de metabolitos líquénicos se realizó a partir de extractos en solventes de polaridad creciente. Se logró aislar y caracterizar espectroscópicamente al compuesto $C_{18}H_{16}O_7$ como ácido úsnico y al compuesto $C_{18}H_{12}O_{10}$, ácido salazínico.

Palabras clave: fitoquímica, líquen, *Usnea durietzii*, ácido úsnico, ácido salazínico, técnicas espectroscópicas.

PHYTOCHEMISTRY STUDY FROM *Usnea durietzii* MOT. (USNEACEAE)

ABSTRACT

In Peru, there are few lichen phytochemical studies as they require much greater attention. Lichen substances have different purposes, such as antibacterial, antitumor, herbicide and insecticide. The genus *Usnea* has a wide variety of species, *Usnea durietzii* the specie used in this study doesn't report any phytochemical studies on national or international level to date. The objective of this research was to isolate and identifying lichenic components from *Usnea durietzii*. Through the screening of its phytochemistry we were able to determine quinones, triterpens and steroids, and to a lesser degree phenols, tannins, fats, lactones and coumarins, sugar and flavonoids. The extraction of secondary metabolites was made from extracts with solvents of increasing polarity, and permitted us to isolate and characterize the spectroscopic compound $C_{18}H_{16}O_7$ usnic acid and the compound $C_{18}H_{12}O_{10}$ salazinic acid.

Key words: phytochemical, lichen, *Usnea durietzii*, usnic acid, salazinic acid, spectroscopic technics.

^{1*} Pontificia Universidad Católica del Perú, Departamento de Ciencias - Sección Química; Av. Universitaria 1801, San Miguel, Lima 32, Perú. ruthzeladam@gmail.com

² Pontificia Universidad Católica del Perú, Departamento de Ciencias - Sección Química; Av. Universitaria 1801, San Miguel, Lima 32, Perú

INTRODUCCIÓN

Los líquenes son organismos simbióticos a partir de un alga o cianobacteria y un hongo, con características propias y diferentes a los que les dieron origen. Son organismos inferiores de distribución global, encontrándose desde el nivel del mar hasta las cimas de las altas montañas, y desde regiones tropicales a la zona ártica.

Estudios fitoquímicos previos en líquenes, reportan la presencia de ácido úsnico en especies del género *Usnea* como sustancia química mayoritaria y en menor presencia de depsídonas y dépsidos¹. Por otro lado, los escasos estudios fitoquímicos existentes sobre líquenes peruanos en publicaciones académicas y científicas, dan una idea de que hasta el momento no es un tema muy explorado en nuestro medio. Se sabe que muchas de las sustancias líquénicas aisladas en diferentes partes del mundo, han reportado actividades antibacterial, antitumoral, antipirético, citotóxico, así como también, efectos ecológicos, siendo por ello de interés investigarlos^{2,3}. A nivel industrial, los líquenes son empleados como fuentes de colorantes⁴.

A través del estudio fitoquímico nos permitirá reconocer y aislar diferentes metabolitos en esta especie; posteriormente se caracterizarán espectroscópicamente. Los resultados permitirán asignar un reconocido valor a este recurso natural.

PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico

Usnea durietzii fue colectada en la localidad de Carhuamayo-Junín, a 4146 msnm y coordenadas geográficas 10°54'55,75"S 76°03'34,51"O. El material biológico, voucher N° 242694-USM, se encuentra depositado en el Herbario San Marcos del Museo de Historia Natural - UNMSM.

Para el estudio fitoquímico la parte aérea fue secada en estufa a 40 °C por una semana, luego molida. Este material fue rotulado y guardado en oscuridad y ambiente seco, para su posterior determinación de humedad⁵.

Marcha fitoquímica

Se usó el método de Ciulei⁶, para el reconocimiento de los metabolitos secundarios; en el extracto etéreo se evaluó la presencia de grasas y aceites, alcaloides, lactonas y cumarinas, triterpenos y/o esteroides. En el extracto etanólico, se determinó la presencia de: catequinas, azúcares, saponinas, fenoles y taninos, aminoácidos libres o aminas, quinonas, flavonoides y antocianidina.

Determinación de ácidos grasos y esteroides

A partir de 10 g de líquen^{7,8} se aislaron ácidos grasos, los cuales se saponificaron y se analizaron por CG en una columna DB-225 (50 %-cianopropilfenil)-metil polisiloxano. 30 m x 0,32 mm x 0,25. Empleando la metodología de Kovacs⁹ se aislaron esteroides, se saponificaron y evaluaron por CG, columna DB-5 (5 % fenilmetilpolisiloxano) 30 m x 0,32 mm x 0,25, comparando la muestra con patrones estándares.

Fraccionamiento de extractos y aislamiento de metabolitos

500 g de líquen seco y molido fueron sometidos a extracción sucesiva con solventes de polaridad creciente: n-hexano, cloroformo y acetona. El tiempo de extracción a temperatura ambiente, en cada caso, varió entre 4 a 7 días. Se obtuvo extractos: hexánico (Hx) con 2,05g (0,41%); clorofórmico (Cl) con 15,67g (3,13%) y acetónico (Ac) con 8,84g (1,77%).

El extracto hexánico se lavó con etanol al 95%; proporcionó 0,34 g de cristales aciculares pequeños, amarillo verdosos. Esta fracción se recrystalizó por cuatro veces sucesivas con ácido acético glacial en caliente, dando 0,13 g de cristales aciculares amarillos, que llamamos el compuesto I.

El extracto clorofórmico se lavó con etanol al 95% y recrystalizó en CHCl_3 :EtOH (1:1). Esta recrystalización proporcionó una fase sólida, la cual se recrystalizó tres veces con ácido acético glacial y dio el compuesto 1; la fase líquida se concentró a sequedad; fue lavada sucesivamente con EtOH 95% dando un sólido morado denominado fracción 1, la cual analizada por HPLC indicó la presencia de ácido úsnico, norstictico y tres sustancias desconocidas. Debido a la baja solubilidad de estas últimas en metanol (solvente empleado para HPLC) se presume que serían pigmentos poliméricos¹⁰.

La identificación y purificación de los compuestos aislados fueron realizadas por CCD en el sistema por Tol:AcOH (17:3).

El extracto acetónico se concentró a temperatura ambiente. El sólido obtenido se lavó con 10 mL de CHCl_3 , proporcionando una fase líquida que fue concentrada a sequedad; se lavó y recrystalizó sucesivamente con ácido acético glacial obteniéndose el compuesto 1; de la fase sólida, corrida por CCD en el sistema Tol:AcOEt:AcOH (6:4:1) se aisló un compuesto mayoritario, compuesto 2, el cual se obtuvo del lavado con éter dietílico y purificado por CCDP.

La visualización y localización de las bandas por CCD se llevó a cabo mediante reveladores físicos, como luz visible (Vis), ultravioleta (UV): 254 y 366 nm. y con el revelador químico ácido sulfúrico al 10%, 100 °C, 5 minutos.

Caracterización de los metabolitos aislados

Se usó técnicas espectroscópicas como UV, IR, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, experimentos homo y heteronucleares, mono y bidimensional. Se efectuaron experimentos especiales como: DEPT, COSY, HSQC y HMBC. Asimismo, se usó la espectrometría de masas con ionización por electronebulización.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Usnea durietzii (figura 1) no presenta usos etnobotánicos en la zona de estudio. La literatura reporta para este líquen propiedades abortivas y tóxicas¹¹.



Figura 1. *Usnea durietzii* líquen saxícola, localidad de Carhuamayo-Junín, 4 146 msnm

Usnea durietzii, seca y molida, tenía $12,0 \pm 1,0$ % de humedad. La marcha fitoquímica permitió identificar cualitativamente: quinonas, triterpenoides y esteroides y en menor cantidad fenoles, taninos, grasas y aceites, lactonas y cumarinas, azúcares reductores y flavonoides.

Se reconoció en el líquen la presencia de ácidos grasos saturados e insaturados mostrados en la tabla 1.

Tabla 1. Ácidos grasos reconocidos en *Usnea durietzii*

N° pico	Ácidos grasos	Fórmula molecular	Tiempo de retención (min)	Área normalizada (%)
1	Palmitico	16 : 0	11,88	40,15
2	Palmitoleico	16 : 1	12,12	1,20
3	Heptadecanoico	17 : 0	12,77	1,61
4	Estearico	18 : 0	14,00	14,43
5	Cis-oleico	18 : 1	14,19	20,67
6	Linoleico	18 : 2	14,65	21,63

Mediante GC se identificó en *Usnea durietzii* los esteroides: brassicasterol, campesterol, estigmasterol y -sitosterol. La muestra contiene, además, otros esteroides no reconocidos por falta de estándares de bajo peso molecular (figura 2).

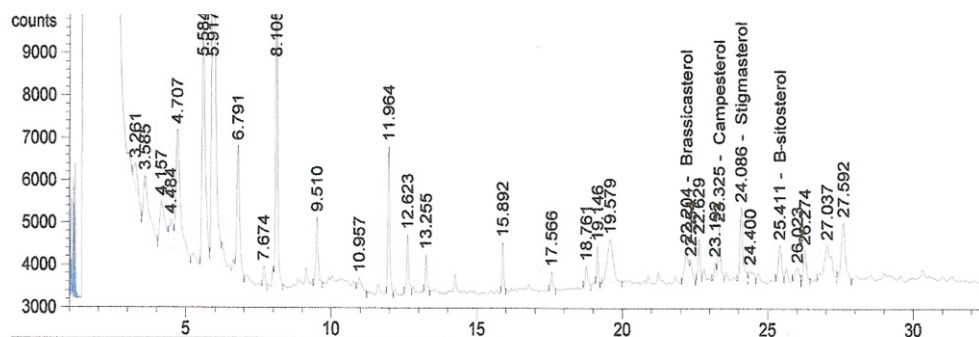


Figura 2. Cromatograma GC de esteroides en *Usnea*

Elucidación estructural del compuesto 1

El compuesto 1 se aisló como cristales aciculares amarillo azufre, con punto de fusión de 201 °C, rotación óptica $[\alpha]_D^{26} = +500^\circ$. En CCD sobre sílica gel eluida con Tol:AcOH (17:3) tiene $R_f = 0,62$, es mancha de color amarilla a la luz visible, lila a 254 nm y roja oscura a 366 nm. Es soluble en cloroformo y acetona, poco soluble en etanol 95%. Se aislaron 12,11 g, peso que corresponde a un rendimiento de 2,42%.

En UV (MeOH 95%), presenta absorciones a 221 y 290 nm, sugiriendo la existencia de un grupo cromóforo conjugado.

En IR, presenta las siguientes absorciones principales: hidroxil con asociación intermolecular (3442 cm^{-1}), hidroxil intramolecular ($3091,17\text{ cm}^{-1}$), CH aromático (3007 cm^{-1}), carbonilo de cetona α, β -insaturada (1691 cm^{-1}), estiramiento C-O-C (1289 cm^{-1}) y estiramiento C-O (991 cm^{-1}).

^1H RMN (CDCl_3 , 300MHz), presenta señales a: 1,76 ppm (3H, s), 2,10 ppm (3H,s), 2,67 ppm (3H, s) y 2,68 ppm (3H, s); estos cuatro singuletes se asignan a metilos, a 5,98 ppm (1H,s) de tipo alquénico o aromático, a 11,03 (1H,s), 13,31 ppm (1H,s) y 18,85 ppm (1H,s); esta tres últimas se asignan a grupos hidroxilo, ya detectados en el IR.

^{13}C RMN (CDCl_3 , 75MHz), presenta 18 señales, las cuatro primeras entre 7,5 y 32,1 ppm de carbonos saturados; entre 98,3 y 109,2 ppm, señales de carbonos de tipo bencenoico. Las cinco señales que aparecen entre 155,7 y 191,7 ppm, corresponderían a carbonos sp^2 desplazados a campo bajo por efecto de heteroátomos. Finalmente, las señales de 198, 200,3 y 201,8 ppm, corresponden a carbonos de grupo carbonilo.

Los espectros DEPT 45° y 135° la ausencia de 13 señales confirman que estos son de tipo cuaternario, en ambos espectros se aprecian 5 señales, cuatro de ellas a campo alto, corresponden a carbonos sp^3 de metilos y, la quinta señal, a 98,3 ppm correspondería a un carbono sp^2 de tipo CH.

El espectro de masas (100 – 450 m/z) con ionización por electronebulización, dio un pico molecular relación m/z de 343,1 correspondiente al ion negativo por pérdida de un protón de la molécula neutra (figura 3).

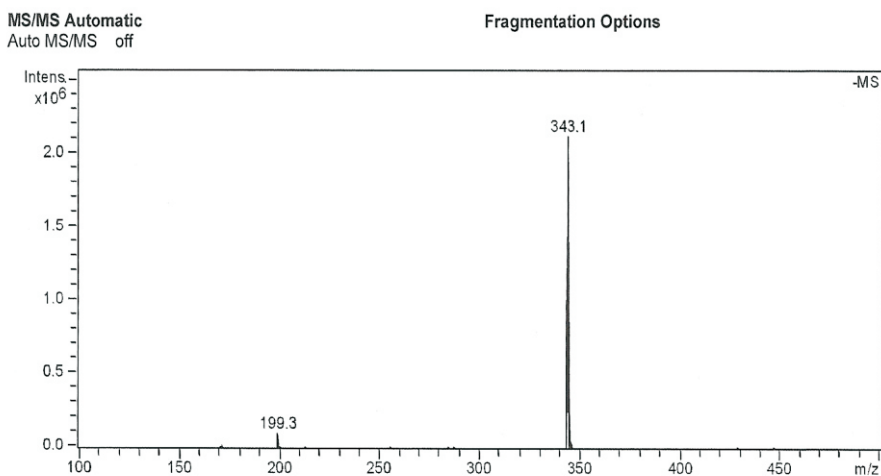
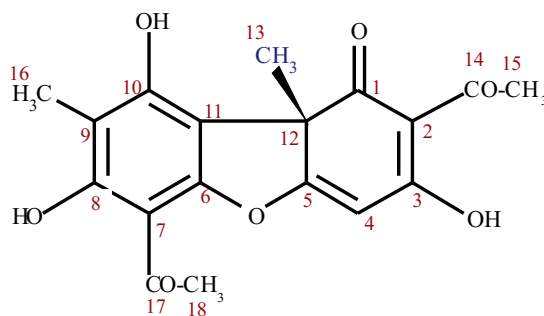


Figura. 3. Espectro de masa-ESI del ácido úsnico aislado de *Usnea durietzii*

El peso molecular del compuesto 1 es 344 Da. En base a la información espectroscópica mostrada y a las propiedades físicas y químicas evaluadas, se propone que el compuesto 1 de fórmula molecular de: $C_{18}H_{16}O_7$; es el (+)-ácido úsnico, al que corresponde la siguiente estructura:



(+)-ácido úsnico

El espectro COSY (0 - 8 ppm), en la diagonal contiene las señales de 4 diferentes hidrógenos; al no tener ninguna señal fuera de la diagonal, se confirma que en esta molécula no existe ningún sistema de acoplamiento protón-protón.

El espectro HSQC, de correlación heteronuclear, permitió reconocer correlaciones de cada hidrógeno con un solo carbono, confirmando en todos los casos su naturaleza geminal. La tabla 2, presenta los resultados del espectro HSQC:

Tabla 2. Resultados de HSQC de compuesto 1

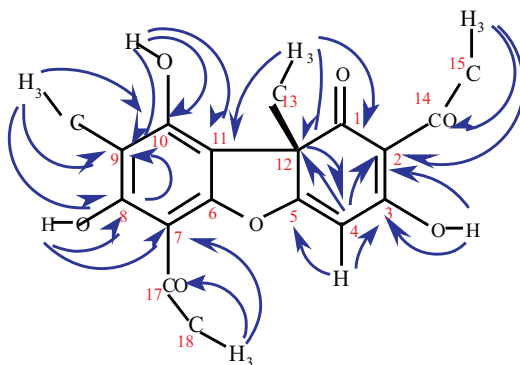
$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Grupo enlace
1,76	32,1	$\text{C}_{(13)}\text{H}_3$
2,10	7,5	$\text{C}_{(16)}\text{H}_3$
2,67	27,9	$\text{C}_{(15)}\text{H}_3$
2,68	31,2	$\text{C}_{(18)}\text{H}_3$
5,98	98,3	$= \text{C}_{(4)} - \text{H}$

En base a los resultados obtenidos, se propone las siguientes asignaciones a los diferentes carbonos e hidrógenos, tabla 3:

Tabla 3. Resultados de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN del compuesto 1

Nº de Posición	$\delta^{13}\text{C}$ ppm	$\delta^1\text{H}$ ppm
1	198,0	---
2	105,2	---
3	191,7	18,85, s
4	98,3	5,99, s
5	179,3	---
6	155,2	---
7	101,5	---
8	163,8	13,31, s
9	109,2	---
10	157,5	11,03, s
11	103,9	---
12	59,1	---
13	32,1	1,77, s
14	201,8	---
15	27,9	2,67, s
16	7,5	2,10, s
17	200,3	---
18	31,3	2,68, s
CDCl_3	77,0	7,27

El espectro HMBC de correlación heteronuclear reconoce acoplamiento C-H a larga distancia (figura 4). Se observa que el protón del 3-OH se correlaciona con C_3 , a dos enlaces y, con C_2 y C_4 a tres enlaces. El hidrógeno de 8-OH se correlaciona con C_8 a dos enlaces y con C_7 y C_9 a tres enlaces. De la misma manera, el hidrógeno 10-OH, se correlaciona con C_{10} a dos enlaces y con C_9 y C_{11} a tres enlaces. El protón H-4 se correlaciona con C_3 y C_5 a dos enlaces y, con C_2 y C_{12} a tres enlaces. Para el caso de los protones metílicos, H-13 se correlacionan con C_{12} a dos enlaces y, con C_1 , C_5 y C_{11} a tres enlaces. El H-18 se correlaciona con C_{17} a dos enlaces y con C_7 a tres enlaces, H-15 se correlacionan con C_{14} , a dos enlaces y con C_2 a tres enlaces. Los protones metílicos aromáticos H-16 se correlacionan con C_9 a dos enlaces y con los C_8 y C_{10} a tres enlaces. Estos resultados se resumen en la tabla 4.



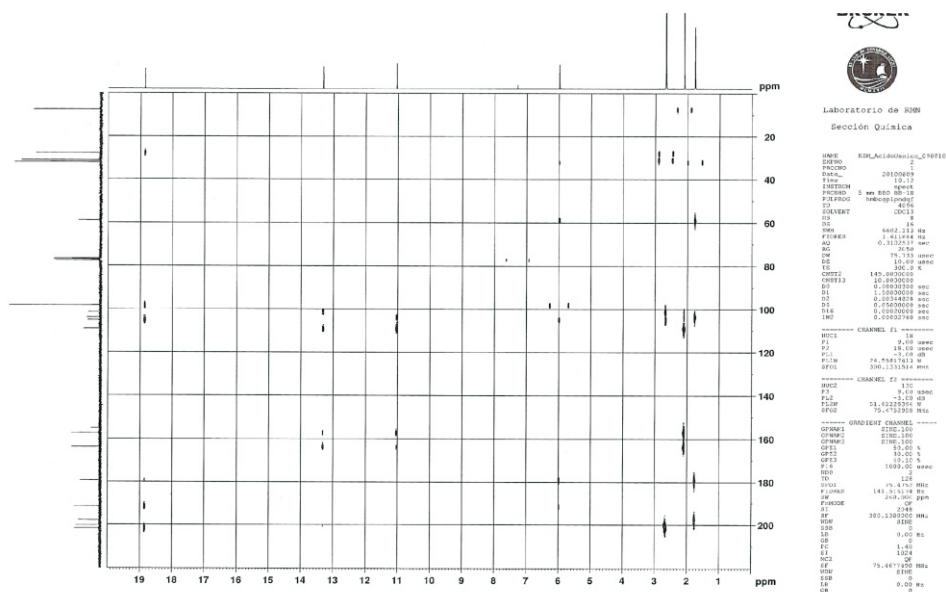
Figura 4. Espectro HMBC del ácido úsnico aislado de *Usnea durietzii*

Tabla 4. Resultados de HMBC del compuesto 1

Nº C	$\delta(^1\text{H})$, ppm	Número de enlaces	$\delta(^{13}\text{C})$, ppm
4	(H ₄) 5,98	2, 2 3, 3	191,7; 179,3 105,2; 59,1
13	(H ₁₃) 1,76	2, 3 3, 3	198,0; 179,3 103,9; 59,1
15	(H ₁₅) 2,67	2 3	201,8 105,2
16	(H ₁₆) 2,10	2 3, 3	163,8 157,5; 109,2
18	(H ₁₈) 2,68	2 3	200,3 101,5
3-OH	(H _{3 OH}) 18,86	2 3,3	191,7 105,3; 98,3
8-OH	(H _{8 OH}) 13,32	2 3,3	163,8 109,2; 101,5
10-OH	(H _{10 OH}) 11,04	2 3,3	157,5 109,2; 103,9

Los datos de los espectros UV, IR, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN y HMBC obtenidos se mantienen en coincidencia con los reportados por König¹², Rashid¹³, Takani¹⁴ para el ácido úsnico aislado de otras especies de líquenes.

Elucidación estructural del compuesto 2

Se presenta como cristales aciculares blancos, con punto de fusión 260°C. En CCD, usando como eluyente Tol:AcOEt:AcOH (6:4:1) tiene $R_f = 0,32$, no se observa frente a luz visible; frente a luz 254 nm y 366 nm se presenta de color lila y naranja, respectivamente. Es soluble en acetona y poco soluble en cloroformo.

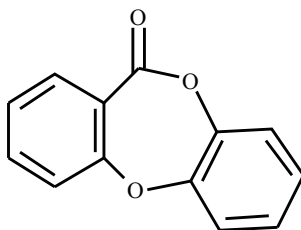
En UV (MeOH 95%), presenta tres absorciones a 205, 236 y 316 nm; estas absorciones son características de depsidonas tipo orcinol reportadas por Hunek¹⁵.

En IR, presenta absorciones: hidroxil tipo lactona en anillo de cinco miembros ($3\,576\text{ cm}^{-1}$); hidroxil fenólico y alcohólico ($3\,311\text{ cm}^{-1}$); C=O de anillo lactona de 6 miembros ($1\,771\text{ cm}^{-1}$); CO de anillo lactona de 5 miembros ($1\,744\text{ cm}^{-1}$); CO de aldehído ($1\,661\text{ cm}^{-1}$).

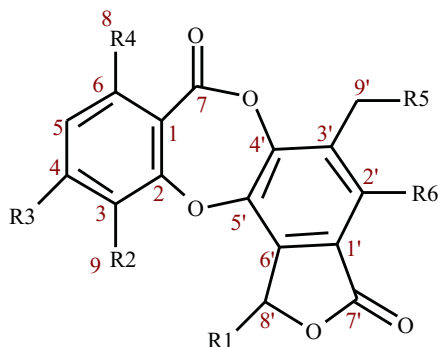
^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz), entre 0 y 13 ppm señales a: 2,45 ppm (3H, s), 4,65 ppm (2H, s), a 5,35 ppm (1H, s a), 6,81 ppm (1H, s), 6,88 ppm (1H, s), 8,31 ppm (1H, s, a), 10,46 ppm (2H, s a) y a 12,06 ppm (1H, s a). Se asignan las siguientes señales: 2,45 ppm a CH_3 ; 4,65 ppm a CH_2 influenciado por heteroátomos, 6,81 y 6,88 ppm C-H no acoplado, 10,46 ppm aldehído; este grupo funcional ya fue detectado en el IR. Las señales restantes se asignan a grupos hidroxilos, detectados en IR.

^{13}C RMN ($\text{DMSO}-d_6$, 75MHz), presenta 18 señales, 3 debajo de 100 ppm correspondientes a carbonos saturados y 15 sobre 100 ppm de tipo insaturado.

Por literatura se sabe que las depsidonas presentan el siguiente esqueleto básico:



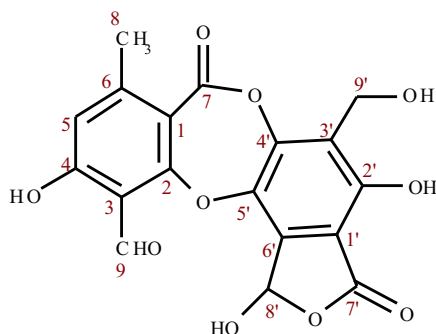
En este esqueleto aparece 12 carbonos bencenoicos y un carbono de tipo éster; estos trece carbonos aparecerán entre 110 y 170 ppm. Se sabe de la presencia de una lactona en anillo de cinco miembros¹⁵ que aportara 2 carbonos adicionales, uno de tipo cetona y el otro de tipo secundario, totalizando hasta el momento 15 carbonos.



Por el espectro ^1H -RMN sabemos que los tres carbonos faltantes corresponderían a carbonos de tipo CH_3 (21,9 ppm), CH_2 (53,2 ppm) y CHO (193,2 ppm).

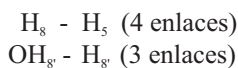
La señal a 95,3 ppm correspondería a C_8 ; justifica su desplazamiento por enlace directo a un oxígeno si R_1 es un OH. La señal a 53,2 ppm correspondería a C_9 ; su desplazamiento se justifica si R_5 es un OH. Hasta el momento quedan por sustituir 4 posiciones en los anillos aromáticos disponiendo hasta de dos OH, un CHO y un CH_3 . Quedando un H aromático residual unido a C_5 .

En base a la información espectroscópica mostrada y a las propiedades físicas y químicas evaluadas, se propone que el compuesto 2 sea el ácido salazínico de fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_{10}$.



Para reconocer las conectividades entre grupos funcionales que confirman esta propuesta, se realizó experimentos COSY, HSQC y HMBC.

El COSY ^1H - ^1H permite reconocer conectividades a larga distancia:



En el espectro HSQC, se correlaciona ^1H - ^{13}C a un enlace. Ello permitió reconocer 5 carbonos ligados a hidrógenos, a 21,9 ppm C_8 , a 53,1 ppm C_9 , a 95,3 ppm C_8 , a 117,9 ppm C_5 bencenoico, finalmente el carbono aldehído C_9HO a 193,2 ppm.

El espectro HMBC (figura 5) permitió reconocer correlaciones ^1H - ^{13}C , preferentemente a 2 y 3 enlaces. Las correlaciones encontradas se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de HMBC del compuesto 2

^1H	^{13}C	Número de enlaces
8	1, 5, 6	3, 3, 2
9'	2', 3', 4'	3, 2, 3
5	1, 4, 8	3, 2, 3



Rev Soc Quím Perú. 78 (4) 2012

Tabla 6. Desplazamientos de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN del ácido salazínico

N° de Posición	$\delta^{13}\text{C}$ ppm	$\delta^1\text{H}$ ppm
1	112,4	---
2	164,0	---
3	111,1	---
4	164,5	12,06
5	117,9	6,88
6	152,7	---
7	160,8	---
8	21,9	2,45
9	193,2	10,46
1'	110,1	---
2'	153,3	10,46
3'	123,9	---
4'	148,6	---
5'	138,6	---
6'	137,8	---
7'	166,4	---
8'	95,3	6,81 / 8,31
9'	53,1	4,65 / 5,34
DMSO- d_6	39,7	2,49

Los datos de los espectros del ácido salazínico aislado, así como el punto de fusión se mantienen en rangos de coincidencia con los reportados por Huneck¹⁵, O'Donovan¹⁶ y Eifler-Lima¹⁷ para ácido salazínico aislado de otras especies de líquenes.

CONCLUSIONES

- El líquen *Usnea durietzii*, contiene: quinonas, triterpenoides y esteroides y en menor cantidad fenoles, taninos, grasas y aceites, lactosas y cumarinas, azúcares reductores y flavonoides reconocidos en la marcha fitoquímica. Mediante GC se identificaron en *Usnea durietzii* los siguientes ácidos grasos saturados: palmítico y esteárico e insaturados: linoleico, cis-oleico y palmitoleato, así como la presencia de esteroides brassicasterol, campesterol, estigmasterol y β -sitosterol.
- Se aisló el ácido úsnico en forma de cristales aciculares amarillos-azufre, con punto de fusión de 201 °C, rotación óptica $[\alpha]_D^{26} +500^\circ$. El análisis espectroscópico UV, IR, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, DEPT, COSY, HSQC, HMBC y MS permitió reconocerlo como ácido úsnico, de fórmula molecular ($\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$) y peso molecular de 344 g/mol.
- Se obtuvo cristales aciculares blancos, con punto de fusión de 260 °C. Sus espectros UV, IR, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, COSY, HSQC y HMBC permitió reconocerlo como el ácido salazínico con fórmula molecular de $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_{10}$.

BIBLIOGRAFÍA

1. Culberson C. Supplement to "Chemical and botanical guide to lichen products. *The Bryologist* 1970; 73(2), 356-364.
2. Ingólfssdóttir K. Usnic acid. *Phytochemistry* 2002; 61 (7), 729–736.
3. Cocchiello M, Skert N, Luigi P, Sava G. A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften* 2002; 89, 137-146.
4. Cedano M, Villaseñor L. Colorantes orgánicos de hongos y líquenes. *Scientia-CUCBA* 2006; 8(2):141-161.
5. Farmacopéia Brasileira. 4ta. ed. Atheneu Editora Sao Paulo Ltda. Sao Paulo – Brasil. 1988.
6. Ciulei I. Methodology for Analysis of Vegetal Drugs. Ministry of Chemical Industry, Bucharest, Romania. 1982.
7. Dembitsky V, Rezanka T, Bychek I, Shustov M. Fatty acid composition of *Parmelia lichens*. *Phytochemistry* 1992; 31 (3), 841-843.
8. Massons L, Schmidt H. Los lípidos en los alimentos. En Schmidt, H. (editor). Avances en Ciencia y Tecnología de los alimentos. 2001. Biblioteca digital de la Universidad de Chile. [Acceso: 10 enero 2010]
Disponibile en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmacuticas/schmidtH
9. Kovacs M, Anderson W, Ackman R. A Simple method for the determination of cholesterol and some plant sterols in fishery-based food products. *Journal of Food Science* 1979; 44(5), 1299-1301.
10. Comunicación electrónica con el Dr. J.A. Elix, Departamento de Química, Universidad Nacional de Australia, Canberra, Australia. Fecha: 2 de marzo de 2008.
11. Ruíz A. Flora Popular Mendocina. *Deserta* 1972; 3, 36-38.
12. König G, Wright A. ¹H and ¹³C-NMR and biological activity investigations of four lichens-derived compounds. *Phytochem Anal* 1999; 10, 279-284.
13. Rashid M, Majid M, Quader M. Complete NMR assignment of (+)-usnic acid. *Fitoterapia* 1999; 79, 113-115.
14. Takani M, Yajima T, Masuda H, Yamauchi O. Spectroscopic and structural characterization of copper (II) and palladium (II) complexes of a lichen substance usnic acid and its derivatives. Possible forms of environmental metals retained in lichens. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2002; 91, 139-150.
15. Huneck S, Yoshimura I. Identification of lichen substances. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Alemania. 1996.
16. O'Donovan D, Roberts G, Keogh M. Structure of the β-orcinol depsidones, connorstictic and consalazinic acids. *Phytochemistry* 1980; 49, 2497-2499.
17. Eifler-Lima V, Sperry A, Sinbandhit S, Boustie J, Tomasi S, Schenkel S. NMR spectral data of salazinic acid isolated from some species of Parmotrema. *Magn Reson Chem* 2000; 38, 472-474.

Review

COMPLEJOS DE CINC COMO POTENCIALES METALOFÁRMACOS ANTIDIABÉTICOS: AVANCES RECIENTES EN SU DESARROLLO Y MECANISMO MOLECULAR DE ACCIÓN

Zoila Moreano Villena¹, Nora Alvino De La Sota¹, Carla Galli Rigo-Righi^{1*}

RESUMEN

El descubrimiento del estrecho vínculo entre el cinc y la insulina propició numerosos estudios sobre los posibles efectos terapéuticos del cinc en el tratamiento de la diabetes mellitus. Se encontró así que la suplementación con cinc ejercía no solo un efecto normoglicémico sino una amplia acción insulinomimética, aparte de desempeñar un rol en la prevención de la enfermedad y en la protección de las células β encargadas de la producción de la insulina.

Las limitaciones de los fármacos antidiabéticos actuales, de origen orgánico, y el éxito clínico alcanzado por metalofármacos de uso anticancerígeno y antirreumático, estimularon las investigaciones orientadas al desarrollo de complejos de cinc que resultaran más efectivos que las sales originalmente usadas. En este artículo se presenta una revisión de complejos representativos de cinc con diversos modos de coordinación que han sido sintetizados y evaluados en su actividad insulinomimética, comprobándose que la complejación del cinc con ligandos orgánicos incrementa la efectividad a través de una mejora en la bioabsorción del agente activo. Se discute, además, la interrelación entre el metabolismo del cinc y la diabetes, así como los mecanismos moleculares a través de los cuales el cinc ejerce su efecto insulinomimético y protector de las células β .

Palabras clave: Diabetes mellitus, complejos de Zn(II), actividad insulinomimética, estudios *in vitro* e *in vivo*.

ZINC COMPLEXES AS POTENTIAL ANTIDIABETIC METALLOPHARMACEUTICALS: RECENT ADVANCES IN ITS DEVELOPMENT AND MOLECULAR MECHANISM OF ACTION

ABSTRACT

The discovery of the close link between zinc and insulin led to numerous studies on the potential therapeutic effects of zinc in the treatment of diabetes mellitus. It was found that zinc supplementation exerted not only a normoglycemic effect, but also a broader insulin-mimetic action besides of playing a role in disease prevention and protection of β cells, responsible for insulin production.

The limitations and side effects of organic drugs used in oral diabetes therapy on one side, and the clinical success achieved by several metallopharmaceuticals, such as anticancer and

^{1*} Sección Química. Departamento de Ciencias. Pontificia Universidad Católica del Perú.
Av. Universitaria 1801 San Miguel. Lima-Perú.
cgalli@pucp.edu.pe

antirheumatic drugs on the other stimulated research directed to the development of antidiabetic zinc compounds, that would prove more effective at low doses and shorter treatment periods than the originally used simple salts. This article presents a review of representative zinc complexes, with different coordination modes that have been synthesized and evaluated for their insulin-mimetic activity to date; the results confirm that zinc complexation with organic ligands increases effectiveness through an improvement in the bioabsorption of the active agent. We also discuss the relationship between zinc metabolism and diabetes, as well as the molecular mechanisms through which zinc exerts its insulin-mimetic effect and protective role of β cells.

Key words: Diabetes, diabetes mellitus, Zn(II) complexes, insulinmimetic activity, *in vitro* and *in vivo* studies

INTRODUCCIÓN

Una de las enfermedades con mayor incidencia en la población mundial actual es la diabetes mellitus (DM). El número de personas que padecen DM reportado para el 2003 fue 194 millones y se estima que esta cifra se incrementa hasta aproximadamente el 4,4% de la población mundial o sea 366 millones para el 2030.^{1,2} Esta enfermedad se caracteriza por desórdenes en el metabolismo de la glucosa, proteínas y lípidos derivados de una absoluta (DM tipo 1) o relativa (DM tipo 2) deficiencia de la hormona reguladora insulina. Si bien es considerada una enfermedad crónica no mortal, debido a sus graves complicaciones micro y macro vasculares, representa la quinta causa de muerte en los países más desarrollados.

La diabetes mellitus tipo 1, es de carácter hereditario y causada por la destrucción de células pancreáticas responsables de la producción de la insulina; mientras que la tipo 2, además de una eventual predisposición genética, está relacionada con un estilo de vida sedentario, la obesidad, estrés y edad. El tratamiento de la DM tipo 1 involucra la aplicación de inyecciones diarias de insulina, mientras que para la DM tipo 2, aparte del ejercicio y una dieta especial, existen actualmente en el mercado diversos medicamentos orales de origen orgánico que controlan la hiperglicemia. Sin embargo, estas drogas adolecen de algunas limitaciones como pérdida progresiva de su acción terapéutica y diversos efectos secundarios como hipoglicemia, hepatotoxicidad, trastornos gastrointestinales y ganancia de peso.

De lo anterior, se deduce que existe una necesidad urgente de desarrollar nuevos medicamentos, no solo para el tratamiento de la DM sino también para mejorar la calidad de vida de los pacientes. En este contexto, el rol esencial de los iones metálicos y sus compuestos biomoleculares en el desarrollo y funcionamiento de los seres vivos estimuló un creciente interés en el campo de los metalofármacos con actividad antidiabética. Numerosas investigaciones han demostrado que una variedad de iones metálicos, entre ellos el tungsteno, cromo, magnesio, vanadio y cinc exhiben una considerable actividad insulino mimética (IM).^{3,4}

Desde inicios de la década de los años 80 las investigaciones sobre la aplicación de metalofármacos al tratamiento de la diabetes se concentraron en el uso de compuestos de vanadio, y a partir del 2000 se han extendido de sales a complejos de cinc. Este metal posee una notoria ventaja sobre los demás, ya que se trata de un elemento esencial y ampliamente distribuido en todo organismo vivo como una gran variedad de biomoléculas, por lo que resulta menos tóxico que cualquier otro metal. Además, a diferencia del vanadio, posee un único estado de oxidación estable lo que facilita su estudio.

En 1980, Coulston y Dandona reportaron por primera vez la actividad insulino mimética del Zn(II), al demostrar que el cinc estimula, además, la lipogénesis en adipocitos de ratas.³ Por sucesivos estudios *in vitro* se comprobó que el cinc, al igual que la insulina, estimula la

oxidación y el transporte de glucosa. Posteriormente se encontró que, la administración de ZnCl_2 por vía intraperitoneal a modelos animales de DM tipos 1 y 2 producía una reducción considerable de los niveles de glucosa en sangre; sin embargo, se requerían dosis extremadamente altas y/o largos plazos de tratamiento.⁵

Desde el descubrimiento de Song y colaboradores (2001) de que la administración oral de cinc coordinado con ciclo(His-Pro) a modelos animales de diabetes tipo 1 producía una disminución más pronunciada de la hiperglicemia, que la de una sal de cinc, los estudios en este campo se orientaron hacia complejos de cinc con ligandos orgánicos.³ Estos compuestos han mostrado ser más efectivos que las sales de Zn(II) en términos tanto de absorción por el sistema gastrointestinal como de baja toxicidad. A partir de entonces se han sintetizado numerosos complejos de cinc con distintos ligandos y modos de coordinación, muchos de los cuales han resultado efectivos como agentes insulinomiméticos en estudios *in vivo* e *in vitro*. Esto, a su vez, ha estimulado la investigación del mecanismo molecular de acción del cinc y a la fecha se han logrado avances significativos que demuestran que el cinc actúa en múltiples puntos de la cascada enzimática de la insulina, lo cual se conoce como “mecanismo ensemble”, además de cumplir un rol en la inhibición de la destrucción de las células β .^{5,6}

CINC, INSULINA Y DIABETES: EFECTOS METABÓLICOS Y TERAPÉUTICOS DEL CINC

El cinc es el segundo oligoelemento más abundante en el organismo, superado tan sólo por el hierro. Es un elemento esencial en animales y humanos y un metal ubicuo en numerosas proteínas y metaloenzimas. Se presenta como cofactor en más de 300 enzimas implicadas en el metabolismo energético y de los hidratos de carbono, en las reacciones de biosíntesis como las de ácidos nucleicos y compuestos hemo, en degradación de proteínas, en el transporte de CO_2 , etc.^{6,7,8,9}

En la figura 1 se presenta una visión general de los diversos roles fisiológicos y bioquímicos del cinc en células y órganos. Además, se ha encontrado que posee importantes funciones farmacéuticas, entre ellas cabe destacar su actividad antidiabética.¹

La mayor parte del cinc de la dieta se absorbe en el intestino delgado. Una vez absorbido es transportado por la albúmina del plasma y se concentra en el hígado, de donde se distribuye a otros tejidos. Las concentraciones más elevadas aparecen en el hígado, páncreas, riñones, huesos y músculos,¹⁰ siendo varios de estos órganos sitios claves de la acción de la insulina.

Interacciones entre el cinc y la insulina

Existe una estrecha relación entre el cinc y la insulina; este metal juega un rol fundamental en la síntesis, estructura, estabilidad conformacional, almacenamiento y secreción de la insulina, tanto en condiciones fisiológicas normales como en la patología de la diabetes. Desde la década de los treinta, poco después del descubrimiento de la insulina y su rol fundamental en el tratamiento de la diabetes, el cinc ha sido relacionado con esta hormona. Se demostró entonces que la adición de cinc retardaba la absorción subcutánea de la insulina, prolongando la duración de su acción y disminuyendo el número de dosis requeridas.¹¹

Sin embargo, recién en la década del setenta, al elucidarse la estructura y acción bioquímica de la insulina, se logró determinar el rol estructural del cinc en la conformación cuaternaria, almacenamiento y secreción de esta hormona. La insulina es una proteína de relativamente bajo peso molecular (5,9 kDa) constituida por dos cadenas de aminoácidos, denominadas A y B, que están unidas por tres puentes disulfuro. Se sintetiza en forma de su precursor, la proinsulina, en el interior de las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas. En el momento de su liberación a la sangre, la proinsulina se rompe en sus dos componentes, que

son la insulina propiamente dicha y el péptido C. En presencia de cinc intracelular, los monómeros de insulina se acoplan a una forma dimérica para su almacenamiento y secreción como cristales de cinc. Existe también una forma hexamérica cristalina de la insulina, que resulta de la unión *in vitro*, en presencia de cinc y a pH neutro, de tres dímeros. Esta forma de insulina es la que se usa comúnmente en farmacia.¹¹

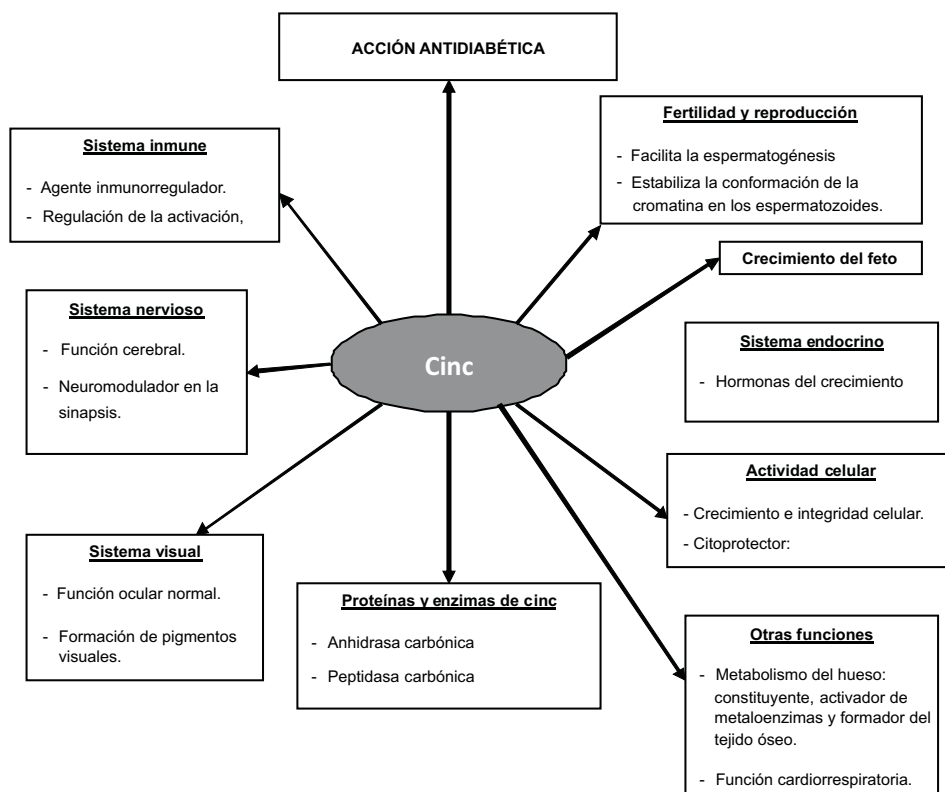


Figura 1. Funciones fisiológicas y bioquímicas del cinc (Tomada de Sakurai y colab. 2006)¹

Efectos de la diabetes en el metabolismo del cinc

A raíz de la comprobada relación entre el cinc y la insulina, se especuló que este metal debía estar íntimamente vinculado con la diabetes mellitus, por lo que se iniciaron numerosos estudios sobre el metabolismo del cinc en modelos animales y pacientes humanos diabéticos. Se encontró así un consistente aumento en la excreción urinaria del Zn en sujetos diabéticos respecto a los controles. Aunque la causa de la hipercinuria no está aún bien identificada, varios estudios la correlacionan con la poliuria (aumento de volumen de orina) característica de la DM, la que a su vez es consecuencia de la alta concentración plasmática de glucosa. Otras pérdidas fisiológicas de cinc se producen por aumento en la excreción intestinal del metal y por sudoración.⁶

El aumento de la excreción urinaria de cinc en pacientes diabéticos sugirió una probable deficiencia de dicho metal de no existir algún mecanismo compensatorio. Si bien se ha comprobado este déficit en el plasma, suero y tejidos para la DM tipo 2, en caso de la DM 1 se ha observado más bien un aumento. Esto ha sido atribuido a que en la fase inicial de la enfermedad la liberación de cinc derivada de la destrucción de las células β domina sobre la hipercincuria. En cambio, conforme progresa la DM 1, esta situación se invierte, observándose la esperada disminución en la concentración de cinc.

El hecho que tanto el aumento en la excreción urinaria de cinc como la alteración de su concentración en el organismo sean atenuados o incluso normalizados por tratamiento de la DM, indicaría una estrecha relación de ambos efectos metabólicos con la alta concentración de glucosa en sangre de los pacientes diabéticos. Esto a su vez resulta consistente con el descenso observado en el nivel de cinc en sujetos diabéticos y controles luego de una administración oral de glucosa.

Efectos terapéuticos del cinc en la diabetes

El descubrimiento de los efectos adversos de la diabetes mellitus sobre el metabolismo del cinc sugirió que una normalización del nivel fisiológico de cinc constituiría una buena alternativa terapéutica. Numerosos estudios tanto en modelos animales de DM tipo 1 y DM tipo 2, como humanos, han demostrado efectos beneficiosos de una dieta enriquecida en cinc tanto en la prevención como en la mejora de la condición diabética y sus complicaciones.

La suplementación con cinc antes de la inducción de la enfermedad con drogas diabetogénicas en ratas y ratones previno la hiperglicemia y la destrucción de células β ; esto último mediante una reducción de la secreción de insulina lo que disminuyó la vulnerabilidad de las mismas. Incluso, en animales genéticamente predispuestos, se observó una reducción de la incidencia de la DM y un mejor control glicémico. En pacientes humanos, el cinc presentó efectos particularmente favorables con respecto a una mejora en la condición diabética para la DM tipo 2, donde condujo a una disminución de la resistencia a la insulina y a una reducción del índice histórico de glucemia a plazo, HbA_{1c} .⁶

Por otro lado, muchas de las complicaciones de la diabetes estarían relacionadas al aumento de oxidantes intracelulares y radicales libres producidos por la disminución del cinc intracelular y de las enzimas antioxidantes dependientes de cinc.¹¹ Estudios recientes sugieren además que la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) es causante de la muerte de las células β que conduce a la DM tipo 1.¹² En este contexto, se ha encontrado que el cinc, gracias a su conocida acción antioxidante, reduce el estrés oxidativo en la DM, lo que explica en parte su efecto protector frente a diversas complicaciones de la enfermedad como la retinopatía, cardiomiopatía y neuropatía.

EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLICEMIANTE E INSULINOMIMÉTICO DEL CINCO

Un método de comprobada eficacia para la medición de la actividad insulinomimética *in vitro* de un potencial agente antidiabético, y que posee una buena capacidad predictiva para posteriores ensayos *in vivo*, consiste en determinar simultáneamente el grado de inhibición de la liberación de ácidos grasos libres (FFA) y de toma de glucosa, en adipocitos aislados de ratas en presencia de un potencial agente IM.¹³

La deficiencia de glucosa intracelular, característica de sujetos diabéticos, fuerza al organismo a recurrir como fuente alternativa de energía a la hidrólisis de triglicéridos y consiguiente liberación de ácidos grasos. Esta situación es emulada *in vitro* en los adipocitos al tratarlos con epinefrina; ésta al unirse al receptor β de los mismos activa a la adenilato ciclasa que transforma ATP en adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP), la que a su vez activa

algunas proteínas quinasas y lipasas. La lipasa activada cataliza entonces la hidrólisis de triglicéridos a ácidos grasos libres (FFA) que son liberados por la célula. Por efecto de un agente insulinomimético, que actúa en uno o más puntos de la cascada enzimática de la insulina, se desencadena un proceso bioquímico similar al de la insulina misma que culmina en un aumento de la toma de glucosa a nivel intracelular y consiguiente inhibición de la liberación de los FFA.⁵

Para medir el efecto inhibitorio de la liberación de los FFA se usa el parámetro IC_{50} que se define como la concentración de compuesto requerida para alcanzar un 50% de la inhibición con respecto a la máxima observada para el compuesto en estudio. La toma de glucosa por su parte, se expresa en términos de EC_{50} , definida como la concentración del compuesto necesaria para lograr un 50% de captación de glucosa con respecto al máximo alcanzable por dicho compuesto. En presencia de insulina o un agente insulinomimético, existe una buena correlación directa entre el grado de toma de glucosa por la célula y el grado de inhibición de la liberación de los FFA.

Para evaluar la actividad IM *in vivo* de un potencial agente antidiabético se recurre a diversos modelos animales que ya sea por inducción con una droga diabetogénica (estreptozotocina, aloxano) o por modificación genética (ratas Zucker, ratones KKA⁷) desarrollan la enfermedad. El eventual agente antidiabético puede ser administrado tanto por inyección intraperitoneal (i.p) o intravenosa (i.v) como por vía oral, ya sea en el agua de beber o directamente al estómago mediante una cánula. Se debe tener en cuenta las diferencias en efectividad propias de cada método uno para una adecuada dosificación.¹⁴

En cuanto a la medida de concentración de glucosa en sangre se suele usar el test de tolerancia oral a la glucosa (TOG), que evalúa la respuesta a corto plazo del organismo hacia un repentino aumento en la concentración de glucosa. Un método integral de monitoreo de la glucosa que mide por su parte el nivel de glucosa durante un periodo prolongado (2 a 3 meses anteriores al análisis) consiste en el análisis del porcentaje de la hemoglobina glicosilada, HbA_{1c}, en una muestra de sangre.

EFFECTOS DE LA COMPLEJACIÓN DEL CINCO Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSULINOMIMÉTICA EN COMPUESTOS CON DIFERENTES MODOS DE COORDINACIÓN

En general, el uso de complejos en vez de sales de cinc como potenciales metalofármacos antidiabéticos favorece la actividad oral del metal, aumenta su efectividad y lo estabiliza en los fluidos corporales a condiciones fisiológicas normales. Esto conduce a requerimientos de menores dosis, con la consiguiente disminución de los efectos colaterales adversos observados para las sales, y periodos más cortos de tratamiento.

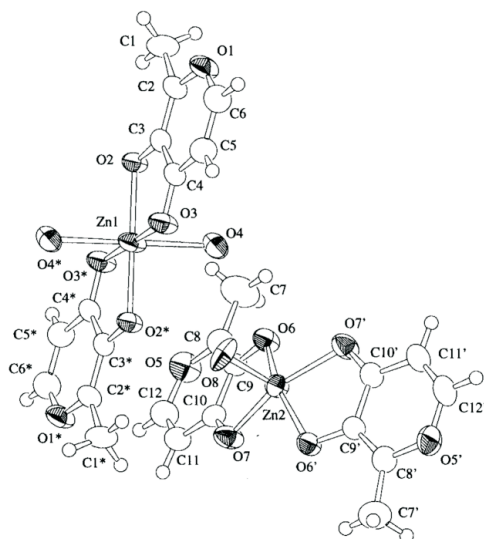
Una apropiada complejación del cinc con ligandos orgánicos introduce mejoras tanto en la bioabsorción gastrointestinal inicial del metalofármaco como en la toma por los tejidos, haciéndolo oralmente activo. En caso de complejos metálicos, la absorción ocurre por un mecanismo de difusión pasiva que requiere una buena permeabilidad de los mismos a través de la doble membrana celular. Para que esto ocurra, los ligandos deben ser seleccionados de modo tal que los complejos resultantes cumplan con ciertos requisitos básicos que favorezcan la difusión del complejo hacia el interior de la célula donde se ejerce su acción insulinomimética. Deben poseer un peso molecular relativamente bajo y un buen balance lipofílico-hidrofílico para lo cual el número de átomos O y N, que incluyan algunos grupos OH y NH, no debe exceder de diez.¹⁵ Por otro lado, debe evitarse la introducción de algún tipo de toxicidad por parte del ligando.

Otro aspecto importante a tener en cuenta en el desarrollo de un complejo de cinc que sea efectivo como agente insulinoimético es su relativa estabilidad frente a las proteínas transportadoras y otras biomoléculas que puedan actuar como potenciales ligandos. Debe ser lo suficientemente estable para asegurar un adecuado tiempo de permanencia en el organismo que le permita, por un lado, ejercer su función y llegar hasta sitios claves de la acción de la insulina como lo son el hígado, tejido muscular y adiposo, mas no ser tan prolongado como para volverse tóxico.^{1,16}

A continuación se revisa la estructura, la actividad insulinoimética y el efecto normoglicémico de complejos de cinc diversas esferas de coordinación alrededor del Zn(II). En la tabla 1 se presentan ejemplos representativos de complejos de cinc para los principales modos de coordinación.

Modo de coordinación Zn(O₄)

Uno de los primeros complejos de cinc que resultó oralmente activo, específicamente en ratas GK, que constituyen modelos animales de la DM tipo 2, fue el bis(maltolato)Zn(II), Zn(mal)₂.¹⁷



valor de IC_{50} de 0,59 mM, lo que demuestra un aumento del efecto inhibitorio y consiguiente acción IM con respecto a la sal $ZnSO_4$ ($IC_{50} = 0,81$ mM).

Estos resultados positivos motivaron posteriores ensayos *in vivo* en ratones KK-A^y, un modelo genéticamente modificado de DM tipo 2. Se les aplicó diariamente por vía intraperitoneal (i.p) una dosis variable de 4,5 mg Zn/kg de masa corporal al inicio de tratamiento, que fue disminuida a 2,0 e incluso suspendida según que el nivel de glucosa estuviera próximo o igual al nivel normal (<150 mg/dl). De esta manera, se consiguió regular el nivel de glucosa a un valor por debajo de los 200 mg/dl durante las dos semanas de tratamiento. Durante el tratamiento, la masa corporal de las ratas KK-A^y solo se incrementó ligeramente y no se observaron disturbios en las funciones renal y hepática. Asimismo, se determinó una mejora significativa en los índices de resistencia a la insulina en los ratones tratados con respecto a los controles. Sin embargo, los niveles de FFA no cambiaron. Por último, se observó en los ratones tratados una mejora significativa en el test de tolerancia oral a la glucosa (OGTT).⁴ La comprobada actividad IM del $Zn(mal)_2$ condujo a la búsqueda de nuevos complejos de cinc con derivados del ligando base que pudieran superarlo en efectividad. Se sintetizaron así los complejos bis(3-hidroxipirinato) $Zn(II)$, $Zn(3hp)_2$; bis(2-etilmaltolato) $Zn(II)$, $Zn(ema)_2$; bis(kojato) $Zn(II)$, $Zn(ka)_2$ y bis(alixinato) $Zn(II)$, $Zn(alx)_2$ (figura 3). Se estudió la relación estructura-actividad *in vivo* y en *in vitro* del $Zn(mal)_2$ y los derivados mencionados.^{5,10}

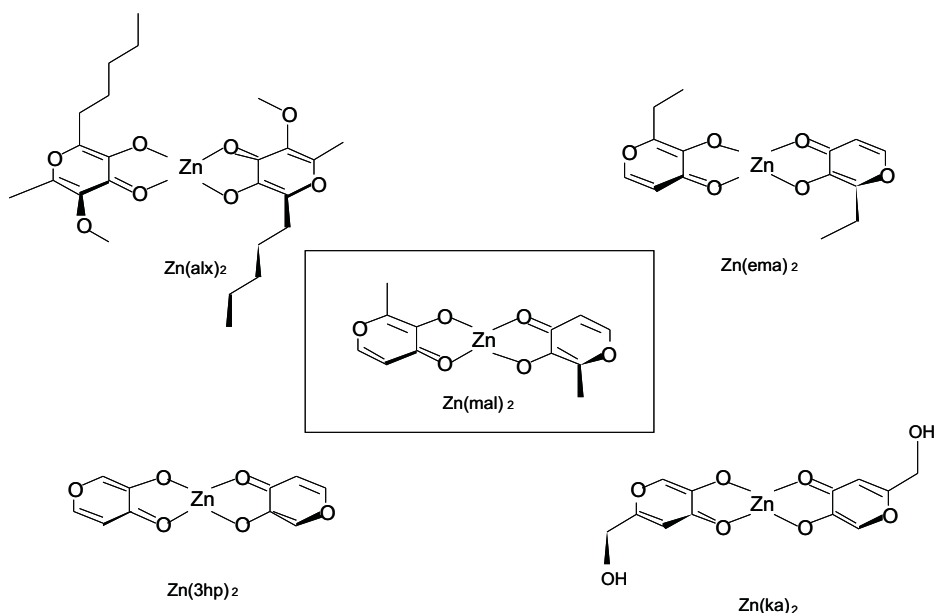
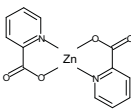
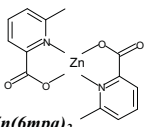
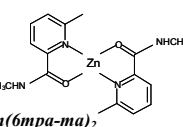
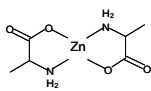
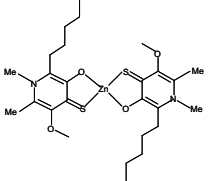
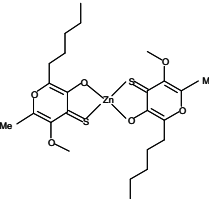
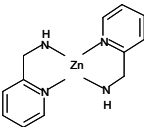
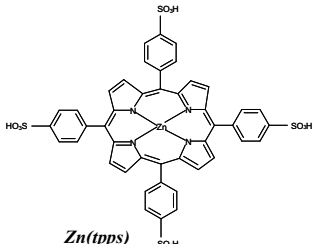
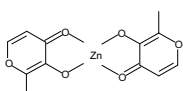
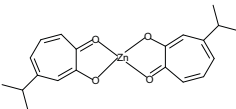


Figura 3. Estructura del $Zn(mal)_2$ y complejos relacionados (tomado de Sakurai y cols. 2004⁵)

Se examinó la actividad insulinomimética *in vitro* de los cinco complejos en términos de inhibición de liberación de los FFA y consiguiente mejora de la toma de glucosa, encontrándose que su efectividad estaba estrechamente relacionada con el coeficiente de

partición ($\log P$) del sistema cloroformo/solución salina del ligando, índice de la lipofilidad/hidrofiliidad relativa de los ligandos. En general, se halló una buena correlación lineal entre la actividad IM del complejo y la lipofiliidad del ligando; el complejo más lipofílico $\text{Zn}(\text{alx})_2$ ($\log P = 1,65$) mostró el mayor efecto inhibitorio ($\text{IC}_{50} = 0,37 \text{ mM}$) y por consiguiente la más alta actividad insulino-mimética entre todos los complejos considerados en este estudio (figura 4).

Tabla 1. Complejos insulino-miméticos de cinc (II) con diferentes modos de coordinación (modificado de Sakurai y colab. 2005)¹⁰

Modo de coordinación	Complejo
N_2O_2	    $\text{Zn}(\text{pa})_2$ $\text{Zn}(\text{6mpa})_2$ $\text{Zn}(\text{6mpa-ma})_2$ $\text{Zn}(\text{Thr})_2$
S_2O_2	  $\text{Zn}(\text{tanm})_2$ $\text{Zn}(\text{tan})_2$
N_4	  $\text{Zn}(\text{ampy})_2$ $\text{Zn}(\text{tpps})_2$
O_4	  $\text{Zn}(\text{mal})_2$ $\text{Zn}(\text{hkt})_2$

En un estudio *in vivo* comparativo entre el $\text{Zn}(\text{mal})_2$ y $\text{Zn}(\text{alx})_2$ en ratones KK-A^y, utilizando una dosis variable entre 2 y 4,5 mg Zn/ kg de masa corporal por dos semanas, ambos complejos bajaron dramáticamente la hiperglicemia y redujeron la insulinemia. Sin embargo, el $\text{Zn}(\text{alx})_2$ tuvo un efecto antidiabético más pronunciado que el $\text{Zn}(\text{mal})_2$, al bajar de manera más significativa los niveles de HbA_{1c} y mejorar la tolerancia oral a la glucosa, suprimiendo además, el progreso de la obesidad en los ratones modelo. Asimismo, el efecto hipoglicemiante del $\text{Zn}(\text{alx})_2$ fue más prolongado, manteniéndose por diez días después del

término del tratamiento (figura 5). Por otro lado, se evaluó la metalocinética del $\text{Zn}(\text{mal})_2$ en ratas sanas y se encontró que, consistente con su mayor lipofilicidad, la bioabsorción del complejo (37,3%) era mayor a la de la sal ZnCl_2 (23,6%), lo que a su vez explica el incremento de la incorporación de $\text{Zn}(\text{II})$ en las células de los tejidos. Se concluye que la mayor efectividad tanto *in vitro* como *in vivo* del $\text{Zn}(\text{alx})_2$ respecto al $\text{Zn}(\text{mal})_2$ para la DM tipo 2 sería consecuencia de un mayor carácter lipofílico.

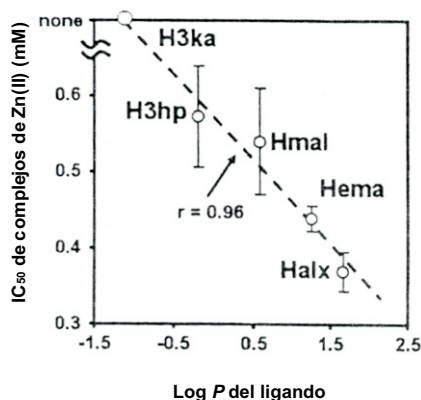


Figura 4. Correlación entre los valores del IC_{50} (mM) de complejos de $\text{Zn}(\text{II})$ y los coeficientes de partición de sus respectivos ligandos ($\log P$). Tomado de Sakurai y colab. 2005.¹⁰

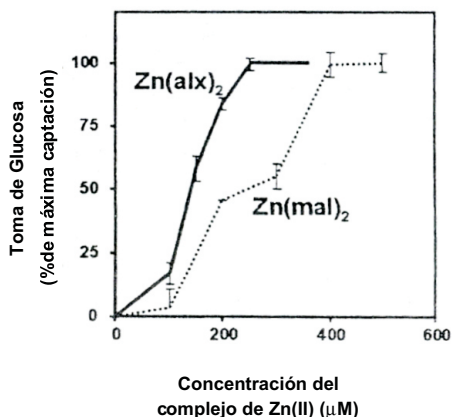


Figura 5. Mejora de la toma de glucosa por el $\text{Zn}(\text{mal})_2$ y $\text{Zn}(\text{alx})_2$ en adipocitos aislados de ratas tratados con epinefrina (2% DMSO y 5 mM de glucosa). Tomado de Sakurai y colab. 2005.¹⁰

Otro complejo con esfera de coordinación O_4 que resultó ser de gran eficacia en cuanto a actividad IM, fue aquel del $\text{Zn}(\text{II})$ con hinoquitiol (hkt), un compuesto natural con conocidas propiedades preservantes en alimentos, antimicrobiales y antitumorales. Estudios analíticos de la estructura del complejo revelaron que la razón $\text{Zn}(\text{II})/\text{ligando}$ es 1:2. La actividad insulino mimética fue evaluada a través de la mejora en la toma de glucosa y la inhibición de los FFA. En un estudio comparativo *in vitro* este complejo resultó ser dos veces más efectivo que el $\text{Zn}(\text{alx})_2$ y cuatro veces más que el $\text{Zn}(\text{mal})_2$.

Ensayos *in vivo* con el mismo tipo de modelos animales de DM tipo 2, usando condiciones similares a las utilizadas para el $\text{Zn}(\text{mal})_2$ y sus derivados, mostraron una marcada acción normoglicémica del complejo $\text{Zn}(\text{hkt})_2$ así como efectos comparables en otros parámetros indicadores de mejoras en el control de la enfermedad.¹⁹

Modo de coordinación $\text{Zn}(\text{N}_2\text{O}_2)$

Se ha sintetizado y evaluado en cuanto a su actividad IM también un buen número de complejos de $\text{Zn}(\text{II})$ con esfera de coordinación N_2O_2 . La investigación se ha orientado principalmente a los complejos con ligandos del tipo picolinato así como aminoácidos y derivados. Los complejos con α -aminoácidos presentaron una variedad de estructuras tanto pentacoordinadas con geometría bipirámide trigonal o pirámide cuadrada como octaédricas. El estudio de su actividad IM *in vitro* reveló la existencia de una relación entre los valores de

IC_{50} y las constantes de estabilidad ($\log \beta$). Se encontró que, en general, los complejos con $\log \beta$ menores a 10,5 exhibían actividad IM y esta era superior o por lo menos comparable a la del $ZnSO_4$, mientras que aquellos cuyas constantes superaban el valor de 11 esencialmente no mostraban actividad.²⁰

Es muy conocido que la absorción de cinc es promovida por la albúmina y se han reportado valores de $\log \beta$ para complejos de $Zn(II)$ con albúmina entre 7,6 y 9,6. Si la estabilidad del complejo de $Zn(II)$ evaluado, reflejada por un alto valor de $\log \beta$, es significativamente mayor que la del complejo de $Zn(II)$ con albúmina el ligando no podrá ser reemplazado por la albúmina en el proceso de absorción. Esto explica porque los complejos con $\log \beta$ mayor a 11 no presentaron actividad insulino mimética.¹

Entre los complejos estudiados, aquél con treonina como ligando presentó mayor actividad IM *in vitro* ($IC_{50} = 0,54$ y $\log \beta = 8,46$), por lo que se realizaron pruebas *in vivo* para evaluar su desempeño como paliativo de la hiperglicemia en ratones KK-A^y con DM tipo 2. Un tratamiento por dos semanas con una dosis diaria i.p de 3 mg Zn/kg de masa corporal condujo a un nivel de glucosa casi normal y a una mejora general en el estado diabético de los animales; en contraste no se observó ningún cambio en los controles o aquellos tratados con $ZnCl_2$. Este resultado, al igual que en los otros complejos evaluados, fue independiente de la configuración D o L del aminoácido.²⁰

El hecho que el ácido picolínico promueva la absorción del $Zn(II)$ en el cuerpo a través del intestino delgado motivó la elección de este compuesto como ligando base para la síntesis de complejos bis(picolinato) con lipofilicidad variable por introducción de grupos electro donadores, específicamente metil y en las posiciones 3 y 6. La introducción del grupo metil aumentó la lipofilicidad del picolinato significativamente, lo que se comprobó por medida de los coeficientes de partición ($\log P = 0,018$ vs. 0,07 y 0,075 para el 3-mpa y 6-mpa respectivamente).²¹

Por cristalografía de rayos X se determinó que el complejo base $[Zn(pic)_2(H_2O)_2] \cdot 2H_2O$ presenta una geometría octaédrica con los ligandos H_2O en posición *trans*. Por otro lado, la geometría del complejo con 6-metil-picolinato, $Zn(6-mpa)_2$, resultó ser una bipirámide trigonal distorsionada con los dos átomos de nitrógeno en posición apical.

Por otro lado, los estudios *in vitro* revelaron que, consistente con su mayor lipofilicidad, los valores del IC_{50} son más favorables para los complejos con ligandos metil sustituidos, $Zn(6-mpa)_2$ y $Zn(3-mpa)_2$, que para el $Zn(pic)_2$ (0,31 y 0,4 vs. 0,64 mM).²¹ Asimismo, las pruebas *in vivo* con el complejo $Zn(6-mpa)_2$ en ratones diabéticos en condiciones análogas a las anteriormente mencionadas para los complejos de α -aminoácidos demostraron su eficacia como agente antidiabético.²¹

Finalmente, se realizó un estudio comparativo *in vivo* de los complejos con esfera de coordinación N_2O_2 $Zn(pic)_2$, $Zn(6-mpa)_2$ y $Zn(Thr)_2$ con el $Zn(mal)_2$, representativo de los O_4 , en ratones KK-A^y a condiciones similares a las ya descritas para el $Zn(mal)_2$ con la única diferencia que se usó una dosis fija de 3 mg Zn/kg de masa corporal durante el tratamiento completo de dos semanas. Se encontró que para los cuatro complejos los niveles de glucosa descendieron hasta un valor promedio de 250 mg/dl, muy cercano al normal, durante el periodo de tratamiento (figura 6). Al igual que en el estudio llevado a cabo con dosis variable en $Zn(mal)_2$, no se observó aquí tampoco variación significativa en el peso corporal ni disturbios renales ni hepáticos. Además, no solo se observó una mejora en el test de tolerancia oral a la glucosa sino también en los valores de HbA_{1c} , índice de un efecto hipoglicemiante prolongado, respecto a los controles.²²

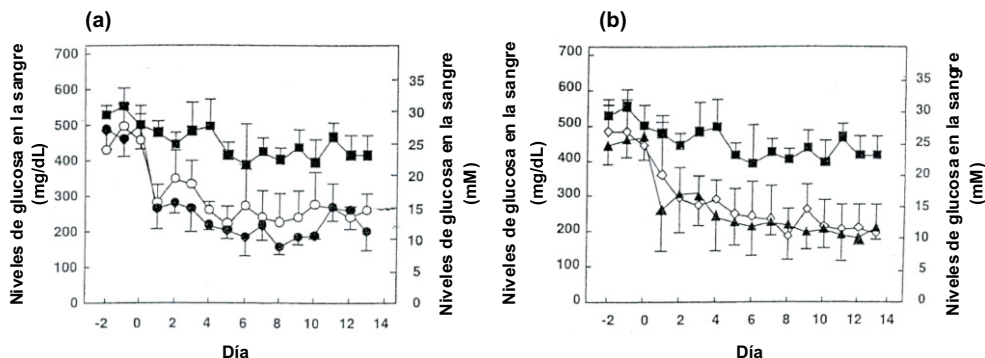


Figura 6. (a) Cambios en los niveles de glucosa sanguínea (izquierda) en ratones control KK-Ay (-■-), ratones KK-A^y tratados con Zn(pic)₂ (-○-), ratones KK-A^y tratados con Zn(6m-pa)₂ (-●-) (b) Cambios en los niveles glucosa (derecha) en ratones control KK-Ay (-■-), ratones KK-A^y tratados con Zn(thr)₂ (-◇-) y en ratones KK-A^y tratados con Zn(mal)₂ (-▲-) .

Tomado de Sakurai y colab. 2002.²²

Modo de coordinación Zn(N₄)

Desde el resultado negativo en cuanto a actividad IM del complejo [N,N,N',N'-tetrakis(2-piridilmetil)etilendiamina]Zn(II) se han sintetizado y evaluado algunos otros con este modo de coordinación que, en general, ha resultado poco prometedor.²¹ Entre ellos, el bis(2-aminoetilpiridinato)Zn(II), [Zn(2-ampy)₂]²⁺, mostró cierta actividad hipoglicemiante (superior al ZnSO₄) en modelos animales de DM tipo 2 administrado intraperitonealmente mas no por vía oral. Sin embargo, recientemente se sintetizó un complejo porfirínico hidrosoluble, el [meso-tetrakis(4-sulfonatofenil)porfirinato]Zn(II), que resultó más efectivo *in vitro* que el Zn(alx)₂. Además, administrado oralmente, a dosis de 10-20 mg Zn/kg de masa corporal por cuatro semanas a ratones KK-A^y, normalizó la hiperglicemia, mejorando a la vez varios síndromes metabólicos de la DM tipo 2 tales como la resistencia a la insulina, y los grados de alteración renal y hepática. Asimismo la mejora del estado diabético se evidenció a través de los resultados del OGTT y una disminución en el nivel del HbA_{1c}.²³

Modo de coordinación Zn(S₂O₂)

La alta efectividad del bis(alixinato)Zn(II) como agente IM llevó al desarrollo de nuevos complejos con ligandos derivados de la alixina con el fin de evaluar una ulterior mejora en su actividad. Para esto se introdujeron ciertos cambios en el ligando base, a saber, el reemplazo de un átomo coordinante de oxígeno por su homólogo azufre y la sustitución del oxígeno del éter en la posición O₁ de la alixina por N-CH₃.²⁴ En total se estudiaron los complejos de los cuatro ligandos mostrados en la figura 7.

Una evaluación *in vitro* comparativa de actividad insulinomimética de estos complejos mostró una extremada alta efectividad de los complejos con el modo de coordinación S₂O₂ respecto a aquellos con coordinación O₄. Mientras que el valor del IC₅₀ para los complejos con modo de coordinación O₄, a y c, se encuentra en el orden de 150 μM, el complejo del ligando b presenta un IC₅₀ de 31 μM y aquel del ligando d es aun más bajo, 11 μM. Esta clara ventaja del último complejo se ve respaldada por el valor del coeficiente de partición de d que supera a los

demás, lo que indica que la sustitución del O₁ del ligando c por N-CH₃ mejoró la lipofilicidad, y por consiguiente, la actividad insulinomimética.²⁴

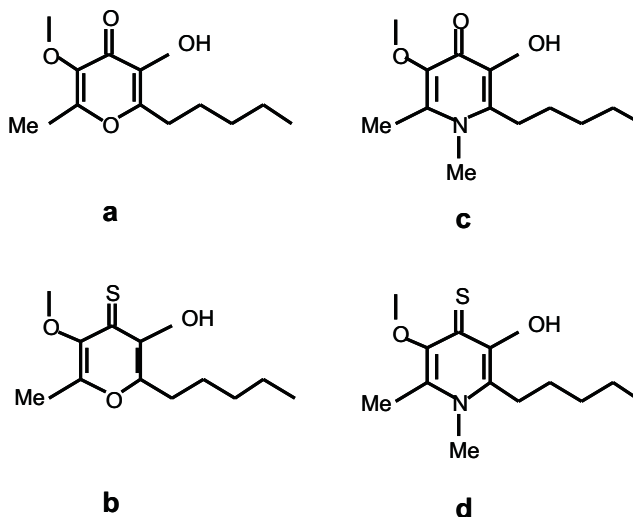


Figura 7. Ligandos alixina (a), alixina N-metil sustituida (c) y sus respectivos derivados tiosustituidos (b y d). Tomado de Sakurai y colab.2005.²⁴

Con estos resultados positivos se decidió evaluar la efectividad oral del complejo del ligando d, $\text{Zn}(\text{tanm})_2$, en modelos animales de DM tipo 2, previo examen de su absorción gastrointestinal. Se administró oralmente el complejo $\text{Zn}(\text{tanm})_2$ a ratones KK-A^y, observándose una gran mejora en la bioabsorción en relación a las sales de cinc y al $\text{Zn}(\text{alx})_2$. Esto se atribuye a la alta estabilidad del $\text{Zn}(\text{tanm})_2$ ($\log \beta = 22,11$) respecto a la del $\text{Zn}(\text{alx})_2$ ($\log \beta = 12,59$) lo que limita su nivel de captura por diversas proteínas presentes en el tracto gastrointestinal.

Consistente con lo anterior, el tratamiento oral de ratones diabéticos KK-A^y con una dosis diaria de 15mg Zn/kg de masa corporal de $\text{Zn}(\text{tanm})_2$ durante cuatro semanas, condujo a un efecto hipoglicemiante más pronunciado que el $\text{Zn}(\text{alx})_2$. Además, a diferencia del $\text{Zn}(\text{alx})_2$, el complejo en cuestión logró normalizar los elevados niveles de HbA_{1c} y mejoró la tolerancia oral a la glucosa. Por otro lado, la patogénesis de la DM tipo 2 es caracterizada por la resistencia a la insulina en tejidos receptores de insulina tales como el adiposo, los músculos, y el hígado. Los altos niveles de insulina en el plasma de los ratones KK-A^y decrecieron significativamente luego del tratamiento con $\text{Zn}(\text{tanm})_2$, lo que sugiere que el complejo mejora también la sensibilidad por la insulina en la DM tipo 2.¹⁸

Otro descubrimiento favorable acerca este complejo es su aparente papel regulador en el metabolismo de las grasas que evita la obesidad en la DM tipo 2. Recientes avances en biología celular y molecular han revelado que los tejidos adiposos no solo sirven como almacén de grasas sino que también secretan sustancias activas llamadas adipocitoquinas. Una de ellas es la leptina la cual controla la homeostasis de la energía a través de la inducción

de la reducción de la ingesta de alimentos y el fomento de la pérdida de grasa. Por lo tanto, la hiperleptinemia observada en ratones KK-A^y sugiere un estado de resistencia a la leptina en la obesidad.¹⁸

La administración oral del Zn(tanm)₂ redujo significativamente la hiperleptinemia en ratones KK-A^y, indicando una mejora en la sensibilidad a la leptina y un alivio en el problema de la obesidad en los animales. Aunque no disminuyó la masa corporal de las ratas, la excesiva ingesta de comida fue considerablemente suprimida.¹⁸

Modo de coordinación Zn(S₄)

Recientemente se sintetizaron cuatro nuevos complejos Zn(II)-ditiocarbamato con el metal coordinado exclusivamente a átomos de azufre. El más activo como agente IM, que a la vez resultó ser el más lipofílico del grupo, fue el bis(pirrolidona-N-ditiocarbamato)Zn(II). Los estudios *in vitro* indicaron una actividad unas cincuenta veces mayor que para complejos de Zn(II) con modos de coordinación N₂O₂ y O₄. Sin embargo, el efecto hipoglicémico exhibido por este complejo durante su administración oral a ratones diabéticos y obesos KK-A^y, por 25 días a una dosis variable de 10 a 15 mg Zn/kg de masa corporal, fue considerablemente más modesto que aquel del complejo Zn(tanm)₂ con esfera de coordinación S₂O₂. Asimismo, se observó una mejora en una serie de parámetros indicadores del estado diabético.²⁵

MECANISMO MOLECULAR DE LA ACCIÓN INSULINOMIMÉTICA Y PROTECTORA DE LAS CÉLULAS B DEL CINCO

Cascada enzimática de la insulina^{6,26}

El metabolismo regulador de la glucosa se inicia en el receptor enzimático de la insulina situado en la membrana plasmática que consiste de dos subunidades α ubicadas en la superficie extracelular de la misma y dos subunidades β en el lado citosólico. La cascada enzimática se desencadena con la unión de la insulina al receptor enzimático en la subunidad α lo cual estimula la fosforilación en el residuo tirosina de la subunidad β con el concomitante cambio conformacional que promueve su actividad quinasa. Como consecuencia, proteínas cercanas como las pertenecientes a la familia del substrato receptor insulínico (IRS) son fosforiladas. Una vez activado, el IRS actúa como puerto de proteínas con dominio SH-2 como la subunidad regulatoria p85 de la proteína fosfoinositol-3-quinasa, PI3K. Al activarse esta última promueve la fosforilación de la proteína quinasa fosfoinositol-dependiente-1, PDK1, lo que a su vez activa la proteína quinasa B (PKB), por fosforilación de su residuo serina. Esto último estimula la translocación del transportador de glucosa GLUT 4 en los adipocitos, logrando mejorar así la captación de glucosa. La PKB también juega un rol importante en la cascada enzimática al fosforilar y consecuentemente inhibir la glicógeno sintasa 3 quinasa (GSK3), permitiendo así la activación de la glicógeno sintasa (GS), la enzima responsable de la síntesis de glicógeno.

Es importante mencionar dos efectos negativos dentro de la cascada enzimática de la insulina. Uno de ellos es la fosforilación del residuo serina en la subunidad β del receptor y la proteína IRS que compite con la fosforilación de la tirosina. El segundo, es la rápida defosforilación del receptor enzimático y sus sustratos por una proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B).

Múltiples efectos del cinc en la cascada enzimática⁶

Desde el descubrimiento de los efectos terapéuticos de la suplementación con cinc a pacientes diabéticos, el mecanismo de la acción insulínica del cinc a nivel bioquímico ha sido objeto de intenso estudio. Al examinar los posibles puntos de acción del cinc en la cascada enzimática, se vio que este juega un importante papel regulador en el estado de fosforilación

del receptor insulínico. Por un lado estimula la fosforilación de la tirosina de la subunidad β del receptor enzimático, aunque en menor medida que la insulina, y por otro inhibe la acción de la PTP1B.

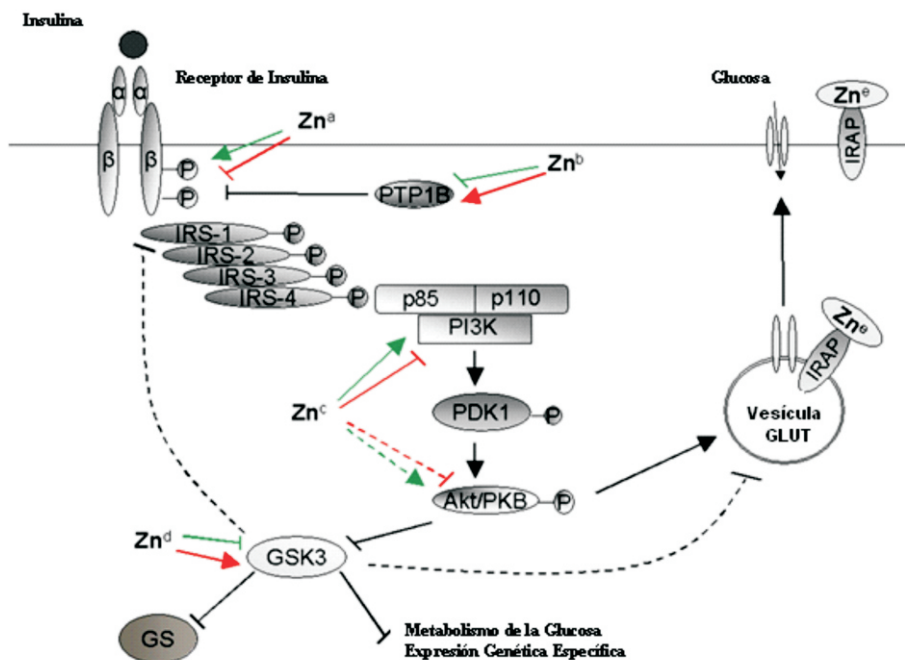


Figura 8. Participación del cinc en la cascada enzimática de señalización de la insulina. Activación (→); Inhibición (línea sólida negro) ; Activación/Inhibición del PKB (líneas punteadas verde y roja). Tomado de Jansen y colab.2009.⁶

Además, el cinc activa la PI3K, incrementando así de manera indirecta la actividad de la PKB, que como ya se mencionó promueve la captación de glucosa mediante la translocación del GLUT 4 hacia la membrana celular (figura 8). Asimismo, el cinc favorece la normoglicemia al formar parte de la aminopeptidasa insulino-sensible (IRAP), biomolécula que al parecer es requerida para el mantenimiento de un nivel normal del transportador GLUT 4. La translocación del IRAP inducida por la insulina, que opera de modo similar al del GLUT 4 se ve desfavorecida en la diabetes mellitus tipo 2.

De acuerdo con este modelo, que propone la activación a nivel post receptor de la PI3K sin intervención de la IRS, el cinc podría inducir la producción de agua oxigenada por las células epididymal; esto causa la activación de la quinasa de adhesión focal (FAK) lo que a su vez activa la ruta de señalización PI3K/PKB de la insulina. El incremento en los niveles de H_2O_2 ejerce un efecto normoglicémico al favorecer la oxidación la glucosa.

Se ha observado, además, en los pacientes con DM tipo 2 un elevado nivel de GSK3, lo que ejerce un efecto perjudicial sobre la actividad de la GS y la sensibilidad a la insulina. Se ha probado que el cinc inhibe la actividad de la GSK3, probablemente por fosforilación de la

PKB, favoreciendo así la activación de la GS y el consiguiente incremento de la toma de glucosa. Este efecto inhibitorio del cinc sobre la GSK3 conduce también a la reducción de la apoptosis de las células β inducida por una alta concentración de glucosa así como a un aumento en su replicación, dado que se ha comprobado que ciertos inhibidores de la GSK3 exhiben tales propiedades. Un efecto negativo adicional de la elevada concentración de GSK3 en la DM tipo 2 es la inhibición de la IRS1 mediante la fosforilación de su residuo serina, afectando en un estadio inicial la cascada enzimática.

Aparte de los efectos beneficiosos del cinc por su intervención en la cascada enzimática de la insulina, se ha encontrado que el este metal estimula el oxidación de la glucosa a CO_2 , ácidos grasos y glicerol, así como el ciclo de la pentosa fosfato; esto ha sido relacionado con una inhibición selectiva de la glutatona reductasa.

En resumen, los efectos insulinomiméticos del cinc son principalmente consecuencia de un conjunto de efectos positivos en la cascada enzimática de la insulina, que se agrupan bajo el nombre de “mecanismo concertado”. Por tanto, se considera que el cinc representa una alternativa terapéutica efectiva para el tratamiento de la DM.

Cinc y sus efectos en la protección de las células β pancreáticas⁶

La acción insulinomimética del cinc no se limita solamente a su importante participación a nivel post-receptor en la cascada enzimática de la insulina, sino que también evita la destrucción de las células β productoras de insulina garantizando así un normal nivel de insulina en el plasma.

Se ha demostrado que la interleucina IL-1 β , una citocina derivada de un macrófago, está involucrada tanto en la inhibición de la liberación de insulina generada por hiperglicemia y la conversión de la proinsulina, como también en la destrucción de las células β en la diabetes mellitus tipo 1 y 2. Estos efectos se originan al parecer principalmente por la activación del factor de transcripción factor nuclear kappa B (NF κ B), una molécula clave en la ruta de señalización del IL-1 β . En humanos, la acción de esta citocina en la inducción a apoptosis de las células β requiere de una potenciación por otras citocinas.

Se ha demostrado que un bloqueo de la señalización de la IL-1 β mejoró la función secretora de insulina de las células β en la DM tipo 2 y previno su muerte, así como también optimizó la tolerancia a la glucosa y la secreción de insulina en modelos animales, lo que indica su rol destructivo y diabetogénico. Esto resulta consistente con el hecho que la inhibición de NF κ B en humanos y roedores confirió resistencia a las células β frente a la apoptosis (figura 9).

La cascada de señalización que resulta en la muerte de las células β se inicia con la unión de la interleucina IL-1 β a su correspondiente receptor. Esto desencadena la activación del factor inhibitorio kappa B quinasa β (IKK β), lo que a su vez conduce a la liberación del factor de transcripción factor nuclear kappa B (NF κ B) mediante hiperfosforilación de su factor inhibitorio kappa B (I κ B) el que finalmente se degrada. El factor NF κ B liberado es traslocado al núcleo donde activa a los genes responsables de la secreción de las citocinas que presumiblemente inducen la apoptosis de las células β . La cascada puede ser también iniciada por un lipopolisacárido (LPS) de origen bacteriano que al ser reconocido activa a la quinasa asociada al receptor de la IL-1 β (IRAK).

Numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que el cinc interviene en varios puntos de esta cascada, tanto a nivel endo como exonuclear, protegiendo a las células β productoras de insulina y asegurando una concentración efectiva de esta hormona. En el interior de la célula, el cinc activa un ARNm de la proteína tipo dedos de cinc A20 la cual ejerce una acción inhibitoria sobre el factor NF κ B.

Por otro lado, se ha descubierto que a nivel extranuclear existen dos mecanismos por los que el cinc bloquea la transducción de la señal que conduce finalmente a la activación del factor clave NF κ B. Por uno de ellos el cinc interviene directamente en la cascada al inhibir el IRAK mientras que por el otro inhibe de modo indirecto al factor IKK β . Esto último lo logra por inhibición de la fosfodiesterasa (PDE) con el consiguiente aumento de la concentración del monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) y concurrente inhibición de los factores IKK y NF κ B.

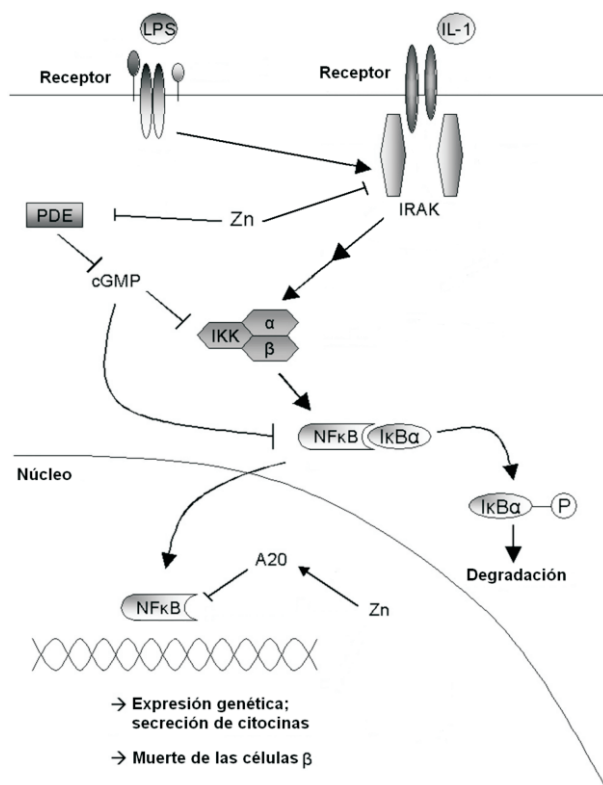


Figura 9. Participación del cinc en la ruta de señalización de la citocina IL-1 β y del lipopolisacárido LPS. Activación ($\rightarrow$); Inhibición (línea sólida en negro). Tomado de Jansen y colab. 2009.⁶

Los aspectos mecanísticos recién discutidos de la acción insulinomimética y la protección de las células β ejercida por el cinc justifican el importante rol terapéutico de dicho metal tanto en la diabetes mellitus tipo 1 como la 2.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La diabetes mellitus es considerada como una enfermedad causada por diversos factores; la DM tipo 1 involucra una respuesta autoinmune del organismo que destruye las células β productoras de insulina y la tipo 2 se relaciona con factores asociados al estilo de vida como la

obesidad y el estrés, además del envejecimiento, entre otros. Sin embargo, en ambos casos e independientemente de los mecanismos causales que desencadenen la enfermedad, ya sea en su etapa inicial o durante su desarrollo, la homeostasis del cinc resulta considerablemente perjudicada. Por esta razón, se ha considerado al cinc como una fuente de nuevas posibilidades de diagnóstico, prevención y terapia.

Numerosos estudios en pacientes humanos y modelos animales de diabetes mellitus tipo 1 y 2 han demostrado los efectos beneficiosos de la suplementación con cinc, especialmente si este se encuentra complejado a ligandos orgánicos apropiados, en el control glicémico y mejora del estado diabético general así como sus diversas complicaciones; esto último mediado en parte por una reducción del estrés oxidativo. Asimismo, el cinc desempeña una función importante en la protección de las células β del daño provocado por células inmunes y citocinas.

Existen dos posibilidades básicas de aumentar la efectividad de potenciales metalofármacos antidiabéticos como los basados en compuestos de cinc. La primera consiste en continuar introduciendo mejoras en el diseño de complejos de cinc mediante el uso de ligandos no tóxicos que propicien un balance lipofílico-hidrofílico óptimo y una estabilidad adecuada del complejo en el organismo que aumenten su biodisponibilidad y potencien su actividad insulinomimética a bajas dosis, minimizando así los efectos colaterales adversos.

Otro modo de aumentar la biodisponibilidad del agente activo es recurriendo a sistemas alternativos de administración, algunos de los cuales ya fueron ensayados con éxito para el vanadio. Uno de ellos es el sistema de encapsulamiento entérico de sales simples que permite la liberación del metal directamente en el intestino delgado; esto favorece su biodisponibilidad y actividad farmacológica oral. Por otro lado, un método novedoso y con resultados farmacológicos prometedores, que ya ha sido ensayado con resultados positivos incluso con el cinc²⁷, es el uso de vehículos poliméricos para la complejación y transporte del metalofármaco en el organismo.

El alto peso molecular del componente polimérico unido a su carácter hidrosoluble, biodegradable y no tóxico, produce un cambio radical en la farmacocinética del agente activo asegurando su liberación lenta y controlada en el organismo. El polímero, al coordinar firmemente y de modo bioreversible al metal, cumple un eficiente papel protector, evitando su prematura degradación bioquímica lo que permite que llegue intacto hacia los órganos claves en el metabolismo de la glucosa. Su carácter hidrosoluble favorece una rápida distribución en el sistema circulatorio y mejora su bioabsorción²⁸.

Finalmente, si se considera dentro de una perspectiva global el estado de la investigación actual sobre los efectos positivos de los compuestos de cinc en el tratamiento y prevención de la diabetes mellitus así como el avance paralelamente logrado en la comprensión de los mecanismos moleculares responsables, se avizora un futuro prometedor en el desarrollo de fármacos antidiabéticos de cinc.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sakurai, H.; Katoh, A.; Yoshikawa, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2006; 79, 1645-1664
2. Basuki, W.; Hiromura, M.; Sakurai, H. *J. Inorg. Biochem.* 2007; 101, 692-699
3. Ueda, E.; Yoshikawa, Y.; Ishino, Y.; Sakurai, H.; Kojima, Y. *Chem. Pharm. Bull.* 2002; 50, 337-340
4. Yoshikawa, Y.; Ueda, E.; Miyake, H.; Sakurai, H.; Kojima, Y. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 281, 1190-1193
5. Adachi, Y.; Yoshida, J.; Kodera, Y.; Kato, A.; Yoshikawa, Y.; Kojima, Y.; Sakurai, H. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2004; 9, 885-893
6. Jansen, J.; Karges, W.; Rink, L. *J. Nutr. Biochem.* 2009; 20, 399-417
7. Medicamentos orales. <http://www.diabetesaldia.com/Default.aspx?SecId=73>
Noviembre, 2010.
8. Kaji, M. *Trib. Med.* 2002; 102, 39-49
9. Rubio, C.; Gonzales, D.; Martín-Izquierdo, R.E.; Revert, C.; Rodriguez, I.; Radisson, A. *Nutr. Hosp.* 2007; 22, 101-107
10. Sakurai, H.; Adachi, Y. *BioMetals* 2005; 18, 319-323
11. Chausmer, A. B. *J. Am. Coll. Nutr.* 1998; 17, 109-115
12. Quraishi, I.; Collins, S.; Pestaner, J.P.; Harris, T.; Bagasra, O. *Medical Hypothesis* 2005; 65, 887-892
13. Adachi, Y.; Sakurai, H. *Chem. Pharm. Bull.* 2004; 52, 428-433
14. Galli, C.; Alvino, N.; Pacheco, J. *Revista de Química* 2007; 21, 37-48
15. Leeson, P.; Davis, A.; *J. Med. Chem.* 2004; 47, 6338-6348
16. Thompson, K.; Orvig, C.; *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2000; 2885-2892
17. Yoshikawa, Y.; Ueda, E.; Kojima, Y.; Sakurai, H. *Life Sciences* 2004; 75, 741-751
18. Yoshikawa, Y.; Ueda, E.; Kawabe, K.; Miyake, H.; Sakurai, H.; Kojima, Y. *Chem. Lett.* 2000; 874-875
19. Yamane, M.; Adachi, Y.; Yoshikawa, Y. Sakurai, H. *Chem. Lett.* 2005; 34, 1694-1695
20. Yoshikawa, Y.; Ueda, E.; Suzuki, Y.; Yanagihara, N.; Sakurai, H.; Kojima, Y. *Chem. Pharm. Bull.* 2001; 49, 652-654
21. Yoshikawa, Y.; Ueda, E.; Kawabe, K.; Miyake, H.; Takino, T.; Sakurai, H.; Kojima, Y. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2002; 7, 68-73
22. Sakurai, H.; Kojima, Y.; Yoshikawa, Y.; Kawabe, K.; Yasui, H. *Coordination Chemistry Reviews.* 2002; 226, 187-198
23. Saha, T.; Yoshikawa, Y.; Sakurai, H. *Chem. Med. Chem.* 2007; 2, 218-225
24. Adachi, Y.; Yoshida, J.; Kodera, Y.; Sakurai, H. *Chem. Lett.* 2005; 34, 656-657
25. Yoshikawa, Y.; Adachi, Y.; Sakurai, H. *Life Science.* 2007; 80, 759-766
26. Galli, C.; Salas, P.; Pacheco, J. *Revista de Química* 2006; 20, 3-10
27. Karmaker, S.; Saha, T.; Yoshikawa, Y.; Sakurai, H. *Macromolecular Bioscience* 2009; 9, 279-286
28. Neuse, E. W. *Metal-Based Drugs* 2008; 1-19

INFORMACIONES

XXVI Congreso Peruano de Química "Mariano Eduardo de Rivero y Ustáriz"

**Discurso de Clausura del Congreso de Química por el
Ing. Químico Manuel Otiniano Cáceres, Presidente del Comité Organizador**

Estimados Señores:

En esta ceremonia de clausura del XXVI Congreso Peruano de Química "Mariano Eduardo de Rivero y Ustáriz", deseo que me permitan hacer un recuento de las actividades realizadas en estos tres días de intenso trabajo académico.

El evento se realizó en el Claustro Menor de la Universidad Nacional de San Agustín. Contamos con el Paraninfo Arequipa, donde nos encontramos, y con las salas Mariano Melgar, María Nieves, Atenas y la sala de Audiovisuales. Se contó, adicionalmente, con el auditorio del CEPREUNSA para 150 personas ubicado al costado del local del Claustro Menor y con el Patio de la Escuela Profesional de Química ubicada en la Ciudad Universitaria.

Este XXVI Congreso Peruano de Química superó todas las expectativas en cuanto a asistencia, llegando a congregar cerca de 700 inscritos, superando los 200 profesionales y cerca de 500 estudiantes, provenientes de las diferentes universidades y empresas del país. Asimismo se contó con la presencia de estudiantes y profesionales de otros países, destacando los de Venezuela, Chile y Brasil.

En cuanto a las actividades académicas realizadas tenemos los siguientes cursos:

Cursos

- "Investigación en Productos Naturales y su aplicación a isoprenoides" por el Dr. Carlos Areche y Dr. Patricio Rivera (Chile).
- "Tópicos Selectos en Química teórica y Química computacional" a cargo de los Dres William Tiznado, Julio Caballero, Carlos Cárdenas y Janz Alzate, investigadores de la Universidad Andrés Bello (Chile).
- "Instrumentación Química alternativa" a cargo de Dr. Eduardo Montoya (IPEN).
- "Gestión de residuos peligrosos y desarrollo de tecnologías limpias" por el Dr. Mario Mallaupoma (IPEN).
- "Aplicación del RMN al campo de los polímeros" a cargo del Dr. Juan Carlos Rueda (PUCP).

Mesas redondas:

- "Química ambiental y Tecnologías limpias".
- "Aspectos a considerar en la elaboración del diseño curricular por competencias, en la carrera profesional de química".
- "Detección de ácidos nucleicos y su aplicación en la medicina actual".
- "¿Han demostrado los metalofármacos ser efectivos contra ciertas enfermedades?".
- "Ciencias de los materiales: presente y futuro".

Las conferencias magistrales: se llevaron a cabo al finalizar la actividad diaria del Congreso y fueron las siguientes:

- "Química sustentable, una necesidad actual" a cargo del Dr. Raymundo Cea (México).
- "Moléculas exóticas del grupo principal", a cargo del Dr. Gabriel Merino (México).
- "Las tendencias de la investigaciones en química en el Perú: una visión", a cargo de la Dra. Olga Lock Sing.

Se realizaron también cerca de 40 conferencias a cargo de profesores y especialistas, tanto nacionales como extranjeros. Los expositores nacionales fueron en total veintisiete y del más alto nivel, procedentes de las diversas universidades, institutos de investigación y empresas del país, y trataron temas relacionados al quehacer químico. El Congreso contó también con la presencia de trece académicos extranjeros de mucho prestigio provenientes de Argentina, España, México, Chile, Uruguay y Cuba que nos ofrecieron los resultados de sus investigaciones en sus respectivas especialidades.

Se recibieron 165 trabajos de investigación y se aceptaron 158. Posteriormente se realizó una selección para su presentación, de los cuales 38 trabajos fueron para exposiciones orales y 120 trabajos para la modalidad de paneles. La mayor parte de los trabajos provinieron del Perú, pero también hubo trabajos procedentes de Chile, Brasil y Venezuela. El área con mayor número de trabajos presentados fue la Sección de Química Orgánica y Productos Naturales seguida por la Sección de Ciencia de los Materiales. Las exposiciones orales se realizaron en las distintas salas de acuerdo al programa, mientras que los paneles fueron expuestos en el patio interior del Claustro Menor.

En cuanto al evento llamado QUIMITEC 2012 participaron las empresas Kossodo SAC, Mercantil S.A., Grupo Tecnológico del Perú y Científica Andina SAC, mostrando las últimas novedades y productos. Kossodo trajo un ómnibus especial llamado KOSSOTOURL, que es un tour itinerante de tecnología para laboratorios de control de calidad, llamado Kossotour Móvil 2012, que estuvo ubicado en el patio del Pabellón de la Escuela Profesional de Química, en la Ciudad Universitaria de la Universidad San Agustín.

La empresa Mercantil S.A trajo tres expositores extranjeros de primer nivel, quienes realizaron talleres demostrativos sobre pH, conductividad y oxígeno disuelto, para grupos pequeños de interesados; estas demostraciones se realizaron en un salón ubicado en el local contiguo al Claustro Menor perteneciente al CEPREUNSA.

La sala Mariano Melgar fue utilizada para las exposiciones de once conferencistas que las empresas participantes en el QUIMITEC 2012 trajeron y que expusieron los últimos desarrollos, novedades y productos que ofrecen sus representadas.

CONCLUSIONES

- Las empresas comerciales han participado muy activamente en el evento con sus presentaciones, actividades adicionales y conferencias.
- Se pidió a la Sociedad Química promueva una serie de reuniones entre todas las autoridades y responsables de la acreditación de las escuelas de Química del País.
- Las herramientas computacionales se han convertido en una metodología de soporte y gran valor en el estudio y la comprensión de muchos fenómenos que ocurren a nivel atómico y molecular.

- Es necesaria la búsqueda de materiales con propiedades superconductoras, a temperatura ambiente, que permitan lograr interconexiones a grandes distancias de las megalópolis del futuro sin mayores pérdidas.
- La Química como ciencia en transformación constante, implica pasar de una química molecular a una supramolecular y de una química tradicional a una química sustentable que busque el reciclaje y condiciones más amigables con el medio ambiente.
- Durante, este Congreso se ha conseguido ampliar vínculos académicos, estrechar lazos de colaboración e intercambiar conocimientos con nuevas ideas para enfrentar los retos para un mejor desarrollo del Perú.

Deseo agradecer el patrocinio académico del Colegio de Químicos del Perú, Academia Peruana de Farmacia, Academia Nacional de Ciencias, Universidad Nacional del Callao, Universidad La Salle de Arequipa, y a la Universidad Nacional San Agustín, que tanto contribuyó al éxito del congreso, especialmente a través de sus instituciones: Segunda Especialidad en Ingeniería y Gestión Ambiental, Segunda Especialidad en Seguridad y Prevención de Riesgos Industriales y Applied Bioengineering Institute.

También agradecemos el auspicio económico al Congreso de parte de las empresas Sociedad Minera Cerro Verde S.A.A, Southern Perú, Científica Andina SAC, Kossodo SAC, Mercantil SA, Grupo Tecnológico del Perú, Merck Peruana S.A., CIMATEC S.A.C., Xstrata Copper, Diario El Pueblo, ASOCEN, Printmark Publicity, Ajinomoto del Perú S.A., Cervecerías Peruanas Backus SA, Gloria S.A, SULABSA y Global Alimentos S.A.C. Agradecemos también el apoyo económico brindado por el CONCYTEC.

También deseo agradecer a todos los miembros del Comité Científico por el estupendo trabajo realizado para evaluar los trabajos recibidos y seleccionarlos para ser expuestos en forma oral o en panel.

Deseo agradecer al Señor Rector de la Universidad Nacional San Agustín, Dr. Valdemar Medina Hoyos por el decidido apoyo para que este Congreso de Química se llevara a cabo. También deseo agradecer a todos los miembros del Comité Organizador por el esfuerzo realizado que ha culminado hoy día con los grandes éxitos conseguidos en cuanto a concurrencia, trabajos de investigación, muy activa participación de las empresas y la gran cantidad de expositores nacionales y extranjeros que han asistido al Congreso. Especialmente deseo agradecer el trabajo realizado por los profesores de la Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, miembros del Comité Organizador, por el trabajo realizado durante todos estos meses previos, y que han culminado con gran éxito.

Quisiera, finalmente, señalar que debemos seguir el ejemplo de Mariano Eduardo de Rivero y Ustáriz, un notable científico arequipeño formado en Europa, pero que fue un adelantado a su época, ya que destacó como químico, mineralogista, geólogo, político y diplomático, y que realizó trabajos de investigación en apoyo a diversos países.

Muchas Gracias

Conferencias de los "Jueves Científicos" en la Sociedad Química del Perú

- "La gastronomía molecular es una ciencia" a cargo del Lic. Miguel Angel Casafranca Llanos, el día viernes 21 de setiembre del 2012.
- "Células madre: la promesa terapéutica" a cargo del Dr. José Amiel Pérez, el día miércoles 26 de setiembre del 2012.
- "Experiencias en el aislamiento y cultivo de células madre" a cargo del Dr. Javier Enciso Gutiérrez, el día viernes 26 de octubre del 2012.
- "El efecto del tratamiento con maca roja sobre la estructura ósea, útero y mama en ratas ovariectomizadas", a cargo del MSc. Carla Gonzales Arimborgo, el día miércoles 21 de noviembre del 2012.
- "Valorización de la biodiversidad peruana: búsqueda de metabolitos secundarios anti-leishmaniasis", a cargo de Mohamed Haddad, el día miércoles 28 de noviembre del 2012.

Premio Nacional Loreal-Unesco-Concytec "Por la Mujer en la Ciencia"

La Sociedad Química del Perú, presentó en la quinta edición del Premio Nacional Loreal-Unesco-Concytec "Por la Mujer en la Ciencia" año 2012 a la Dra. María del Rosario Sun Kou, socia activa y vocal en el actual Consejo Directivo de nuestra Institución.

Nuestra candidata, ha sido merecedora de este Premio por su trabajo "Recuperación de tintes de cabello mediante adsorbentes provenientes de desechos biológicos para el tratamiento de aguas residuales", por lo que queremos expresarle nuestras sinceras felicitaciones por este merecido reconocimiento.

Esta Ceremonia estuvo presidida por la titular del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (Concytec), Dra. Gisella Orjeda Fernández; el Director General de L'Oréal Perú y el Secretario General de la Comisión Peruana de Cooperación con la Unesco.

Premio Medalla de Oro Hipólito Unanue 2012

La Fundación Instituto Hipólito Unanue, otorga cada tres años esta importante y prestigiosa distinción para los médicos, cirujanos, químicos farmacéuticos y odontólogos de nuestro país, con el propósito de reconocer y enaltecer los méritos intelectuales, éticos, culturales, científicos y humanos, de quienes han destacado por su meritoria labor en favor de la profesión que ejercen, así como en su proyección social en bien de la comunidad y del país.

Entre los premiados, queremos destacar el obtenido en el área de Farmacia y Bioquímica por el Dr. Q.F. José Juárez Eyzaguirre, Presidente de la Comisión Permanente de Evaluación y Perfeccionamiento de Docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Mayor de San Marcos.

Nuestra Institución, desea expresar sus sinceras felicitaciones al Dr. Q.F. José Juárez Eyzaguirre, socio activo y miembro actual del Consejo Directivo por este merecido reconocimiento.

Calendario 2013

La Sociedad Química del Perú, en el marco de los actos preparatorios de las celebraciones por el 80° Aniversario de su fundación Institucional y con la finalidad de continuar con la labor de sensibilizar al público en general sobre el importante aporte de la Química al desarrollo sostenible y al bienestar humano, ha encargado la elaboración del Calendario Año 2013, a la Dra. Olga Lock Sing de Ugaz, Past Presidente de la Sociedad Química, quien ha aceptado nuevamente el reto como lo hiciera para el calendario del año 2011.

Este calendario contó con el auspicio de: Olivos del Sur SAC, Universidad Cayetano Heredia - Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri, Sulabsa, Centro Preuniversitario UNMSM y Milset Amlat.

Agradecemos y felicitamos a la Dra Lock por su constante apoyo incondicional y manifiesto cariño en las distintas actividades que programa nuestra Institución.

31° Congreso Latinoamericano de Química – CLAQ-2014

El lunes 29 de octubre del presente, la Federación Latinoamericana de Asociaciones Químicas – FLAQ, en el marco de las celebraciones del 30 Congreso Latinoamericano de Química, realizado en Sede Riviera Maya en el Estado de Quintana Ro - México, convocó a sesión, en la que se aprobó otorgar la sede del próximo CLAQ-2014 a la Sociedad Química del Perú, a realizarse en la ciudad de Lima, del 14 al 17 de octubre del 2014.

Nuestra Institución, desea expresar su profundo agradecimiento por la confianza depositada y ponemos de manifiesto nuestro compromiso de hacer de este evento, un referente en la comunidad científica, con el objetivo de sensibilizar al público en general, difundir los avances de la investigación química, contribuir al intercambio de experiencias y fortalecer la camaradería entre los científicos de los países agremiados a la FLAQ.

Sensible pérdida:

Con profundo pesar comunicamos el fallecimiento de nuestro Socio Correspondiente:

- Dr. Juan Garbarino Bacigalupo (Chile)

El Dr. Garbarino fue incorporado como Miembro de Número de la Academia Chilena de Ciencias el 13 de diciembre de 1985. Obtuvo el Premio Mundial en Ciencias, otorgado por el Gobierno de Italia, a través de su Ministerio de Relaciones Exteriores y el Premio Nacional de Ciencias en 1998 por la Fundación Marzio Tremaglio, respectivamente. Fue Jefe del Laboratorio de Química de Productos Naturales y académico del Departamento de Química, de la Universidad Técnica Federico Santa María, Chile.

La Sociedad Química del Perú, expresa sus más sentidas condolencias a sus hijos, demás familiares y amigos por tan irreparable pérdida.

Premio Inmigración 2012

La Asociación Peruano China, APCH, es una institución que agrupa a peruanos de ascendencia china y tiene como uno de sus objetivos resaltar para las futuras generaciones la trascendencia de los valores y virtudes de la milenaria cultura china. La APCH desde hace tres años entrega los **Premios Inmigración** a personas o instituciones de ascendencia china que han destacado por una notoria trayectoria en su campo profesional, brindado una contribución importante a la comunidad o prestado servicios distinguidos al país. Este Premio está inspirado en Confucio, importante figura de la historia china, quien estableció las normas, la forma de vida y los principios éticos y morales para el pueblo chino, por lo que los premiados reciben una escultura que representa a tan insigne filósofo cuya enseñanza prevalece a pesar de haber pasado más de 2500 años.

El Premio Inmigración 2012 en la categoría de Destacada Trayectoria Profesional fue entregado a nuestra distinguida socia Dra. Olga R. Lock Sing, Past Presidenta de nuestra

Institución. Este reconocimiento se suma a los muchos que la Dra. Lock ha recibido a través de sus cuatro décadas dedicados a la investigación científica y a la docencia universitaria en la Pontificia Universidad Católica del Perú y en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, su alma máter.

La Sociedad Química del Perú, felicita una vez más a la Dra. Lock por este merecido premio, se enorgullece de sus logros y se place en seguir contando con su invaluable aporte a las diferentes actividades que organizamos.

Agenda Química Virtual

La Organización de las Naciones Unidas (ONU), en su 63° Asamblea General, resolvió proclamar el 2011 como “AÑO INTERNACIONAL DE LA QUÍMICA”. Por esta razón, en todo el mundo se han realizado actividades en las que se ha resaltado los logros de la química y, en nuestro país, las actividades han sido coordinadas por la Sociedad Química del Perú.

Dentro de este marco, el Departamento Académico de Química de la Universidad Nacional Agraria La Molina, organizó la actividad denominada “AGENDA QUÍMICA VIRTUAL” que consiste en la difusión de temas - referidos a una o varias sustancia(s) química(s), un científico destacado o un evento o anécdota de interés - en los que la química haya desempeñado un papel destacado o ayudado a resolver un problema social, resaltando sus aportes en beneficio de la humanidad. Los temas son colaboraciones voluntarias preparados por profesionales de la química o de áreas afines, los que son difundidos especialmente a través de: páginas Web, correos electrónicos, vitrinas y murales institucionales, etc. Están dirigidos a la comunidad en general, no sólo a los químicos o profesionales en química. Es así que durante todo el año 2011 se han publicado 53 temas y un especial sobre Marie Curie, en los que han colaborado destacados profesionales del Perú y del extranjero.

En los primeros meses del año actual, se han realizado coordinaciones para que esta actividad continúe pero esta vez bajo la dirección y responsabilidad de la Sociedad Química del Perú, por ser la institución más representativa de la química en nuestro país y cuyos principales objetivos son el desarrollo y la difusión de la química.

En virtud de ello, a partir del mes de Julio último tenemos una nueva versión de la Agenda Química Virtual con un diseño y características muy similares a las originales, con el mismo blog (www.agendaquimica.blogspot.com) y siempre con el mismo objetivo: resaltar los aportes de la química y contribuir con su difusión en la comunidad en general.

Es oportuno hacer público nuestro agradecimiento a los destacados profesionales nacionales y extranjeros que han colaborado con la elaboración y redacción de los temas y también a las numerosas personas que colaboraron con su difusión: re-enviándolos, imprimiéndolos y publicándolos en sus instituciones, en sus páginas web, etc. Esperamos seguir contando con su importante participación; sin ella sería imposible continuar en esta labor. Les agradeceremos también cualquier opinión o sugerencia que tengan a bien hacernos llegar a nuestro correo electrónico que figura al final.

Comité Editorial de la Agenda Química Virtual
Sociedad Química del Perú
 < agendaquimicavirtual@gmail.com >

ÍNDICE DE AUTORES

Rev. Soc. Quím. Perú
(Vol. 78 - Año 2012)

A.	Albán, Joaquina	208	G.	Galli R., Carla	277
	Alvino D.L.S, Nora	277		Gallo, Ignacio M.	91
	Arancibia, Verónica	71		Gambetta, Joanna	225
	Arnao, I	120		Girardi, Cynthia	188
B.	Basarello, Carla	138		González, J.C.	198
	Benavides, Angelyne	138		Guevara P., Américo	126
	Bustamante, A.	198		Guzmán L., Enrique G.	208
C.	Cahuana, Gladys	43	H.	Haddad, Mohamed	188
	Capetta, Jorge	91		Herrera B., Iván	53
	Carbone, Virginia	138	L.	Lavado M., Carmencita	14
	Caresana, Ana M.	91		Lazo, Fanny	161, 234
	Castillo, Denis	188		Ligarda S., Carlos A.	53
	Ceroni, Galloso	144		Loayza – Muro, Raúl	183
	Cerrón, Daniel A.	105	M.	Maldonado G., Holger J.	208
	Cisneros, R.	120		Márquez C., Sabino	208
	Clavo, Mirella	234		Mendoza, Julio	234
	Corzo, Lucioni	79		Michelli, César A.	91
D.	Delgadillo, Julio	161		Millán, Betti	234
	De los Santos V.L.	198		Morante, Yolanda	27
	Díaz, Camilo	254		Moreano de V., Zoila	277
	Doroteo, Víctor H.	254		Muñoz, Ana M.	69
E.	Ellegren, Mariela	105			
	Elías, Rafaela	37,183			
	Encina Z., Christian R.	53,126			
	Espinoza, Giovana	225			
F.	Fabre, Nicolás	188			
	Fuertes R., César M.	138			

N.	Nagles, Édgar	71	T.	Terry, Cecilia	254
	Nakamatsu, Javier	105		Tiravanti, Giullana J.	105
	Napolitano, Asunta	138		Trabucco, J.	120
				Tupayachi, Alfredo	208
O.	Olivera, Fiorella L.	242	U.	Ugarte La T., Diego	183
	Ortiz, Bruno A.	105		Uzuriaga, Rosario	170
	Ortiz, César	27, 234			
	Otero, Manuel E.	105	V.	Vaisberg, Abraham	254
	Otiniano, Manuel	71, 296		Valderrama N., Ana	223
P.	Pastor de A., Ana	264		Valles F, Luis	1
	Placente, Sonia	138		Vásquez – Ocnin, Pedro G.	188
	Palacios, P. R.	188		Vega, Jaime	170
	Palomino, Mercedes	161		Vilchez T., Luz M.	126
	Picasso, Gino	170		Vivas, Dan	43, 234
	Piñateli, Marco	37, 183	W.	Wagner, Florián	105
	Pizza, Cosino	138			
Q.	Quinde – Axtell, Zory	53	Y.	Yarlequé, Armando	3, 27, 43, 161, 234
				Yarlequé, Mirtha	27
R.	Recuay A., Nidia	14	Z.	Zelada, B. Ruth	264
	Repo – Carrasco, Ritva	53			
	Ríos, Roxana	71			
	Rodríguez, Edith	3, 43			
	Rojas, Rosario	37, 183, 188, 225, 254			
	Ruiz, Gean P.	170			
S.	Santillán, Guillermo A.	242			
	Sandoval, Gustavo A.	3			
	Santiago C., Julio C.	160			
	Sauvain, Michel	188			
	Severino, Ruperto	161			
	Suárez, S.	120			
	Sun K., María del R.	14			

ÍNDICE DE MATERIAS

Rev. Soc. Quím. Perú

Vol. 78 - Año 2012

- Acción neutralizante de la toxicidad del veneno de *Bothrops atrox*, por extracto de plantas amazónicas, por Armando Yarlequé, Mirella Clavo, Fanny Lazo, Betty Millán, Julio Mendoza, Dan Vivas, César Ortiz. 234
- Aislamiento y caracterización bioquímica de la bilinearina, un factor activador de protrombina del veneno de la serpiente peruana *Bothrops bilineatus* (loro machaco), por Edith Rodríguez, Gustavo A. Sandoval, Armando Yarlequé. 3
- Análisis proximal, características fisicoquímicas y actividad antimicrobiana del musgo blanco, (*Sphagnum maguellanicum* Bril.) proveniente de Junín, Perú, por David Condori, Marco Piñatelli, Rafael Elías, Rosario Rojas. 37
- Biological activities of. 13,28 – epoxyoleanane triterpene saponins from two peruvian Myrsinaceae, by Cynthia Girardi, Pedro G. Vásquez-Ocnin, Denis Castillo, Michel Sauvain, Rosario Rojas, Nicolás Fabre, Mohamed Haddad. 188
- Complejos de cinc como potenciales metalofármacos antidiabéticos: Avances recientes en su desarrollo y mecanismo molecular de acción, por Zoila Moreano de Villena, Nora Alvino De La Sota, Carla Galli Rigo, Righi. 277
- Compuestos fenólicos y actividades antioxidante, antielastasa, anticolagenasa y fotoprotectora “in vitro” de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Caesalpinia spinosa* (tara), por Víctor Hugo Doroteo, Cecilia Terry, Camilo Díaz, Abraham Vaisberg, Rosario Rojas. 254
- Determinación de trazas de cadmio en presencia de morín-5'-ácido sulfónico como agente complejante, por voltamperometría de adsorción (AdSV) sobre electrodo de mercurio de gota colgante (HMDE), por Edgar Nagles, Verónica Arancibia, Roxana Ríos, Manuel Otiniano. 71
- Editoriales. 1, 69, 159, 223
- Estudio comparativo de algunas propiedades bioquímicas de venenos de serpientes de diferentes regiones del mundo, por Yarlequé, Mirtha; Ortiz, César; Morante, Yolanda; Yarlequé, Armando. 27
- Estudio de la deshidroxilación en el óxido férrico hidratado, denominado limonita, por P. R. Palacios, L. De los Santos Valladares, A. Bustamante, J.C. González. 198

- Estudio de sapogeninas esteroidales de especies peruanas del género Dioscorea, por Holger J. Maldonado García; Enrique G. Guzmán Lezama; Sabino Márquez Cabezas; Alfredo Tupayachi; Joaquina Albán. 208
- Estudio fitoquímico de *Usnea durietzii* Mot. (Usneaceae), por B. Ruth Zelada, Ana Pastor de Abbran. 264
- Estudio químico analítico de la fracción alcaloídica del extracto metanólico de las hojas de *Croton baillonianus* (AUBL), por César M. Fuertes R., Angelyne Benavides, Cosino Pizza, Asunta Napolitano, Carla Basarello, Sonia Piacente, Virginia Carbone. 138
- Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos acuosos de la raíz y las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón), por Arnao, I; Suárez, S; Cisneros, R; Trabucco, J. 120
- Evaluación del potencial de adsorción de cobre, cadmio y cinc del musgo *Sphagnum maguellanicum*, proveniente de Junín, Perú, por Rafaela Elías-Letts, Diego Ugarte La Torre, Raúl Loayza – Muro, David Condori, Rosario Rojas, Marco Piñatelli. 183
- Extracción con soluciones neutra y alcalina para el aislamiento de fibra soluble e insoluble a partir de salvado de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild), kiwicha (*Amaranthus caudatus* L.) y cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen), por Carlos A. Ligarda Samanez, Ritva Repo-Carrasco, Christian R. Encina Zelada, Iván Herrera Bernabé, Zory Quinde – Axtell. 53
- Identificación de una potencial feromona sexual de *Copitarsia corruda*, por cromatografía de gases y electroantenografía, con miras al manejo integrado de plagas del espárrago, por Giovana Espinoza, Joanna Gambetta, Rosario Rojas. 225
- Influencia del tamaño de partícula, humedad y temperatura en el grado de gelatinización durante el proceso de extrusión de maca (*Lepidium meyenii* Wolp), por Luz M. Vilchez Túpac, Américo Guevara Pérez, Christian R. Encina Zelada. 126
- Perú, el país de las oportunidades en ciencia: El caso de los fertilizantes, por Mario Ceroni Galloso 144
- Preparación de nanopartículas de magnetita por los métodos sol-gel y precipitación: Estudio de la composición química y estructura, por Gino Picasso, Jaime Vega, Rosario Uzuriaga, Gean Pieer Ruiz. 170
- Purificación de una lectina tipo C del veneno de la serpiente peruana *Lachesis muta*, por Mercedes Palomino, Fanny Lazo, Julio Delgadillo, Ruperto Severino, Armando Yarlequé. 161

- Purificación y caracterización de bilineatobina, una proteína coagulante del veneno de la serpiente peruana arborícola *Bothrops bilineatus* (loro machaco), por Gladys Cahuana, Dan Vivas, Edith Rodríguez, Armando Yarlequé. 43
- Reactividad del bis-(2,4-dinitrofenil)- éter y del análogo tioéter, frente a aniones carboxílicos y tiocarboxílicos, por Ignacio Martín Gallo, Ana María Caresana, Jorge Cappetta, Director Dr. César Alfonso Micheli. 91
- Reciclaje químico de desechos plásticos, por Mariela Elgegren, Giulliana J. Tiravanti, Bruno A. Ortiz, Manuel E. Otero, Florián Wagner, Daniel A. Cerrón, Javier Nakamatsu. 105
- Remoción de cromo (VI) empleando carbones preparados por activación química a partir de las astillas de eucalipto, por Carmencita Lavado Meza, María del Rosario Sun Kou, Nidia Recuay Arana. 14
- Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de H (AuCL₄), por Alberto Corzo Lucioni. 79
- Síntesis y estructura cristalina de dos complejos de coordinación de plomo (II) con 1,10-fenantrolina y nitratos, por Fiorella L. Olivera, Guillermo A. Santillán 242

Edición gráfica:
ESERGRAF
Jr. Los Halcones 293
Bellavista - Callo
Telf.: 998-513-545
mig5548@yahoo.com

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

SOCIOS HONORARIOS

Dr. Mario J. Molina (México)
Dra. Olga Lock Sing (Perú)
Dr. Antonio Monge Vega (España)
Dr. Lothar Beyer (Alemania)

SOCIOS CORRESPONDIENTES

Dr. Aiache, Jean-Marc (Francia)
Dr. Cea Olivares, Raymundo (México)
Dr. Chifa, Carlos (Argentina)
Dra. Cascales Angosto, María (España)
Dr. Del Castillo García, Benito (España)
Dr. De Simone, Francesco (Italia)
† Dr. Garbarino, Juan A. (Chile)
Dr. García-Herbosa, Gabriel (España)
Dr. Infante, Gabriel A. (Puerto Rico)
Dr. Joseph-Nathan, Pedro (México)
Dr. Mors, Walter B. (Brasil)
Dr. San Feliciano, Arturo (España)
Dr. Suwalski, Mario (Chile)
Dr. Vicente Pérez, Santiago (España)



Cumple 80 años
(1933 - 2013)