

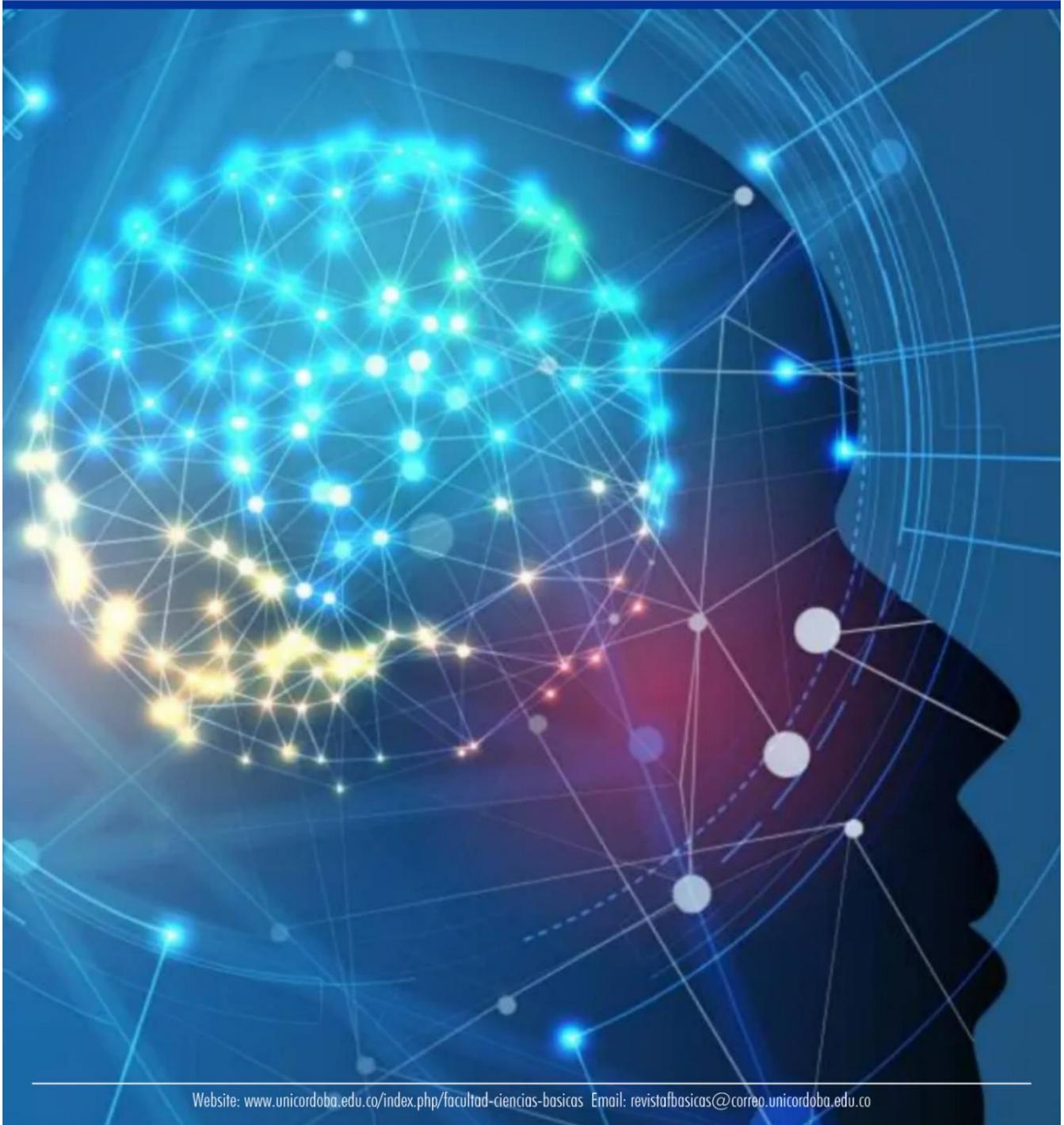


UNIVERSIDAD DE
CÓRDOBA



RFCB Revista Facultad de Ciencias Básicas

Volumen 1- Edición digital N°001 ISSN: 2805-7821



Website: www.unicordoba.edu.co/index.php/facultad-ciencias-basicas Email: revistafbasicas@correo.unicordoba.edu.co

Evaluation of in vitro antioxidant activity of extracts from *duguetia vallicola* j.f. Macbr. – Annonaceae

Evaluación de la actividad antioxidante in vitro de extractos de *duguetia vallicola* j.f. Macbr. – Annonaceae

Leandro L. FUENTES M^{1*}., Orfa I. CONTRERAS M²., y Alberto A. ANGULO O.³

¹Universidad de Córdoba –Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Química, E-mail: lfuentesmedina@correo.unicordoba.edu.co ORCID:
<https://orcid.org/0000-0001-6998-4288>

²Universidad de Córdoba –Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Biología, E-mail: ocontreras@correo.unicordoba.edu.co ORCID:
<https://orcid.org/0000-0001-5056-4355>

³Universidad de Córdoba –Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Química, E-mail: aaangulo@correo.unicordoba.edu.co ORCID:
<https://orcid.org/0000-0002-4246-2284>

Recibido: septiembre 30 de 2021

Aceptado: noviembre 10 de 2021

Publicado: noviembre 19 de 2021

Abstract

The antioxidant activity of the ethanolic, ethyl acetate and total alkaloid extracts of the wood of *D. vallicola* J.F. Macbr., is evaluated against the free radical scavenging capacity 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazolin-6-ammoniumsulfonate) (ABTS), and they are identified two alkaloids for the first time in this species. The fraction of total alkaloids obtained from the crude ethanolic extract was fractionated by successive column chromatography, using mobile phases of dichloromethane (DCM)/methanol (MeOH) from 99: 1 to 90:10, which subsequently led to the identification of the alkaloids with an oxoaporphine nucleus, lirioidenine (1) and lanuginosine (2), using mono- and two-dimensional NMR techniques. On the other hand, it was determined that all the extracts had antioxidant activity against the two radicals used, the EtOH extract being the most effective against the ABTS radical ($IC_{50} = 7.19 \mu M$) and the AcOEt extract against the DPPH radical ($IC_{50} = 12.79 \mu M$). The results obtained in this study allow us to consider this plant as a promising source of chemical components with potential antioxidant activity.

Keyword: alkaloid, Annonaceae, antioxidant, *Duguetia vallicola* J.F. Macbr., oxoaporphine.

Resumen

Se evalúa la actividad antioxidante de los extractos etanólico, de acetato de etilo y de alcaloides totales de la madera de *D. vallicola* J.F. Macbr., frente a la capacidad atrapadora del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzthiazolin-6-sulfonato de amonio) (ABTS), y se identifican dos alcaloides por primera vez en esta especie. La fracción de alcaloides totales obtenida del extracto etanólico crudo, se fraccionó por cromatografía de columna sucesivas, usando fases móviles de diclorometano (DCM)/metanol (MeOH) desde 99:1 hasta 90:10, lo que condujo posteriormente a la identificación de los alcaloides con núcleo oxoaporfina, lirioidenina (1) y lanuginosina (2), empleando técnicas de RMN mono y bidimensional. Por otra parte, se determinó que todos los extractos tuvieron actividad antioxidante frente a los dos radicales usados, siendo el extracto de EtOH el más eficaz frente al radical ABTS ($IC_{50}=7,19 \mu M$) y el extracto de AcOEt frente al radical DPPH ($IC_{50}= 12,79 \mu M$). Los resultados obtenidos en este estudio permiten considerar a esta planta como fuente promisoría de componentes químicos con potencial actividad antioxidante.

Palabras claves: alcaloide, Annonaceae, antioxidante, *Duguetia vallicola* J.F. Macbr., oxoaporfina.

INTRODUCCIÓN

Duguetia es un género de plantas de la familia Annonaceae que comprende alrededor de 100 especies (Pérez & Cassels, 2010), de las cuales, 28 se documentan en regiones pantrópicas de Colombia (Murillo, 2001; Mijares *et al.*, 2018). Plantas de este género son usadas tradicionalmente para tratar diversas enfermedades, además, se ha informado que varias de sus especies son fuente de agentes antioxidantes, como *D. moricandiana* (Guedes *et al.*, 1993), *D. chrysocarpa* (da Silva *et al.*, 2011), *D. furfuracea* (do Santos *et al.*, 2018), entre otras, incluyendo *D. vallicola* J.F. Macbr. (Arango *et al.*, 2004).

Duguetia vallicola J.F. Macbr., popularmente conocida como “yaya” es un árbol que crece en el norte de Colombia. De esta especie solo se han publicado tres informes científicos. En el primero, Arango y colaboradores (2004) aislaron un alcaloide (N-metil laurotetanina) de hojas de *D. vallicola* J.F. Macbr., y lo evaluaron frente a la inhibición de peroxidación lipídica y la capacidad atrapadora del radical libre 2,2-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). El segundo trabajo presenta la composición alcaloidal de tallos de la planta (duguevalina, cleistofolina, O-metilmoschatolina, oliverolina y oliveridina), de los cuales dos de ellos exhibieron actividad antiplasmodial frente a *Plasmodium falciparum* (Pérez *et al.*, 2004). Mientras que, Pérez y colaboradores (2005) hallaron el alcaloide glaziovina del extracto de hojas, que mostró ser un compuesto ansiolítico.

Por otro lado, teniendo en cuenta que la aparición de patologías como la arterosclerosis, el cáncer, el envejecimiento, entre otras, se deben en gran parte al estrés oxidativo derivado de la producción excesiva de radicales libres en el organismo (Marin *et al.*, 2016), despierta interés la búsqueda de compuestos de origen natural que neutralicen estos radicales, especialmente aquellos que en su estructura poseen nitrógeno, como péptidos, aminoácidos, aminas y alcaloides (Ivanišová *et al.*, 2013).

En este trabajo se evalúa la actividad antioxidante *in vitro* del extracto crudo etanólico, el extracto de acetato de etilo y el extracto de alcaloides totales de la madera de *D. vallicola* J.F. Macbr. (Annonaceae), frente a la capacidad para atrapar los radicales DPPH y ABTS; además de informar sobre la composición de alcaloides en esta especie de *Duguetia*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las absorbancias en el UV se obtuvieron con un Thermo Espectronic (GÉNESIS 20). Los espectros de RMN-¹H, RMN-¹³C, DEPT, COSY ¹H-¹H, HMQC y HMBC, se realizaron en un espectrómetro Bruker Advance DRX de 400MHz, utilizando Tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Se usó Sílica gel 60 (0.063-0.200 mm) Merck para la cromatografía en columna, cromatofolios de aluminio prerrevestidos de sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck) para TLC y cromatoplasmas preparativas de sílica gel 60 F₂₅₄ de 1mm. Para revelar las manchas, se usaron lámparas de luz UV (CAMAG de 254 y 366 nm) y reactivo de Dragendorff.

Material vegetal. La muestra constituida por la madera de la especie *D. vallicola* J.F. Macbr. se recolectó en la vereda Puerto Rico, del municipio de San Carlos, Córdoba, Colombia. Fue identificada por el Biólogo Álvaro Cogollo. Un ejemplar está depositado en el Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe de Medellín, con el número de colección JAUM 037841.

Extracción y aislamiento. La madera seca y molida (1227 g) de *D. vallicola* J.F. Macbr. se extrajo por percolación con etanol (EtOH), obteniéndose un extracto crudo etanólico de 21,98 g. Una porción de 5 g de este extracto fue particionada, inicialmente con bencina de petróleo (BdP) y posteriormente con acetato de etilo (AcOEt), para obtener los respectivos extractos de BdP (2,33 g) y AcOEt (1,05g). Otra porción de 15 g del extracto de EtOH fue alcalinizado hasta pH 8-9 con solución de hidróxido de amonio (NH₄OH) al 5% y extraído con diclorometano (DCM). La fase orgánica se particionó con ácido clorhídrico (HCl) al 3% y la fase acuosa obtenida se alcalinizó con NH₄OH hasta pH 8-9. Posteriormente se extrajo con DCM

obteniéndose una fracción de alcaloides totales de 588 mg.

El fraccionamiento de los alcaloides totales se realizó por cromatografía en columna sucesivas, eluyendo con mezclas de DCM/MeOH desde 99:1, hasta 90:10, con posterior separación por cromatografía en capa delgada preparativa (CCDP), permitiendo la obtención de una mezcla de 6,2 mg de lirioidenina (1) y lanuginosina (2).

Actividad captadora de los radicales DPPH y ABTS. Se evaluó esta actividad a concentraciones entre 5 y 20 ppm de los extractos de EtOH, AcOEt y la fracción de alcaloides totales. Para esto se empleó el método del radical catiónico 2,2-azino-Bis-3-etilbenziazolin-6-sulfonato de amonio (ABTS) y el método de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) (Brand-Williams *et al.*, 1995; Re *et al.*, 1999; Sharma & Bhat, 2009). Todas las pruebas y análisis se realizaron por triplicado y se calculó la media. El porcentaje de inhibición fue calculado mediante la ecuación (1):

$$\%I = \left[1 - \left(\frac{\bar{X} A.muestra - A.blanco}{\bar{X} A.referencia} \right) \right] \times 100 \quad \text{Ecuación (1)}$$

A. *muestra*: Absorbancia de muestra

A. *blanco*: Absorbancia de blanco

A. *referencia*: Absorbancia de referencia

Para el ensayo ABTS, el primer paso es la formación del radical catiónico ABTS⁺, mediante una reacción de oxidación con persulfato de potasio. Luego esta solución se ajusta a una absorbancia de 0.700±0.005 unidades, con una longitud de onda de 734 nm. El blanco de equipo consiste en un buffer fosfato con un pH de 7.4 con el que se ajusta el equipo. La referencia se preparó utilizando 40 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) y 1960 µL de solución de ABTS. La muestra fue preparada a partir de una solución madre de cada extracto en DMSO con una concentración de (500 ppm) a partir de la cual se prepararon las diluciones de ensayo con ABTS. El blanco de muestra se preparó con

40 µL de muestra y 1960 µL del buffer fosfato con pH 7.4 para las distintas concentraciones del extracto.

Para el ensayo con DPPH, se utilizó una solución de DPPH la cual fue preparada agregando 150 mg del reactivo de DPPH y disolviendo en 7 ml de MeOH, cubriendo esta solución con papel aluminio y refrigerándola para mantenerla estable durante 24 horas la cual se ajustó hasta una absorbancia de 0.300+/-0.005. El blanco de equipo fue ajustado con metanol analítico. La referencia se preparó utilizando 40 µL de metanol y 1960 µL de solución de DPPH. Fue preparada una solución madre de cada extracto en MeOH con una concentración de (500 ppm) a partir de la cual se preparan las respectivas diluciones con DPPH. El blanco de muestra se preparó utilizando 40 µL de las distintas concentraciones del extracto y 1960 µL de MeOH.

Análisis estadístico. Los datos de absorbancia fueron determinados en los extractos EtOH, de AcOEt y de alcaloides totales. Para la evaluación de estos extractos, las muestras se establecieron en el laboratorio bajo un diseño completamente al azar (DCA) en arreglo factorial 2x4, donde el primer factor correspondió al método (DPPH y ABTS) y el segundo factor a las concentraciones (5, 10, 15, 20 ppm) con tres repeticiones para cada una, resultando así ocho tratamientos. Estos datos fueron procesados en el paquete computacional Statistical Analysis System (SAS/STAT 9.2) donde se obtuvo el ANOVA y se realizaron pruebas de comparación de medias de TUKEY (5%). El IC₅₀ es la concentración del compuesto que inhibe el 50% de DPPH o ABTS utilizado en los experimentos, se obtuvo a partir de regresión lineal con una gráfica de concentración vs. % de inhibición.

RESULTADOS

Determinación estructural de las sustancias 1 y 2.

Las estructuras de los alcaloides 1 y 2 se elucidaron por métodos espectroscópicos de RMN-¹H, RMN-¹³C, COSY-¹H-¹H, HMQC y HMBC, y por comparación con los datos presentados en la literatura (figura 1)

(Zhang *et al.*, 2002; de Oliveira *et al.*, 2015; Nordin *et al.*, 2015). La proporción de los mismos en la mezcla se estableció en 85/15 para 1 y 2, respectivamente, calculando el área bajo la curva de las señales de los hidrógenos del metilendioxi en ambos compuestos.

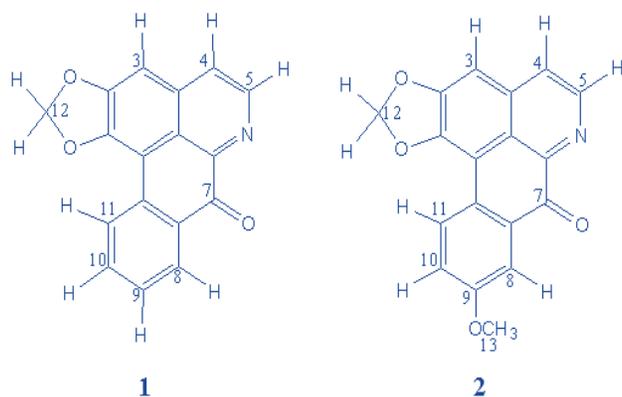


Figura 1. Estructuras de alcaloides identificados en este estudio. 1: liriodenina; 2: lanuginosina.

Liriodenina (1): RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ 7.18 1H s (H-3); 7.80 1H d J=5.3Hz (H-4); 8.90 1H d 5.3Hz (H-5); 8.59 1H dd 7.6 Hz y 0.9 Hz (H-8); 7.59 1H pst 7.1 Hz y 8.0 Hz (H-9); 7.73 1H dt 8.3 Hz y 1.0 Hz (H-10); 8.64 1H d 7.9 Hz (H-11); y 6.37 2H s (H-12).

Lanuginosina (2): RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), 7.13 1H s (H-3); 7.76 1H d J=5.1 Hz (H-4); 8.87 1H d 5.1 Hz (H-5); 8.02 1H d 2.8 Hz (H-8); 7.30 1H dd 8.9 Hz y 2.8 Hz (H-10); 8.55 1H d 8.9 Hz (H-11); 6.34 2H s (H-12); y 3.99 3H s (H-13).

Actividad antioxidante. La actividad antirradicalaria fue medida mediante reacción de las muestras disueltas en dimetilsulfóxido (DMSO) para el ensayo ABTS y MeOH para el ensayo con DPPH. Los datos de absorbancia obtenidos del ensayo permitieron el cálculo del %inhibición que se representan en los gráficos 1 y 2, con los cuales posteriormente se halló la IC₅₀.

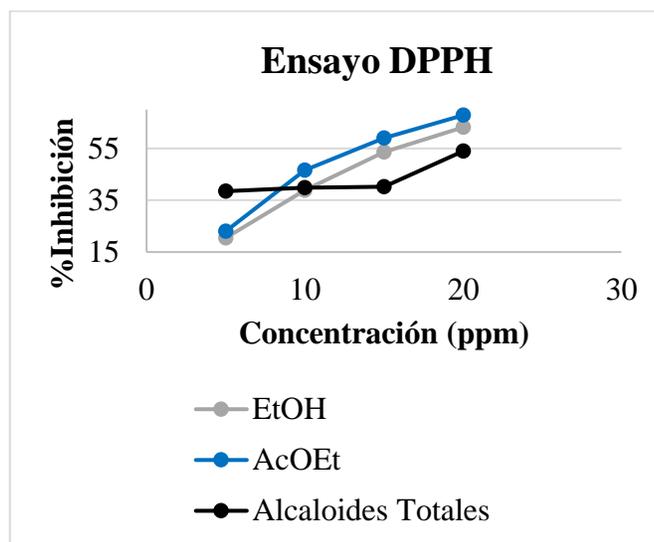


Gráfico 1. Curva concentración –respuesta (% de inhibición de radical DPPH).

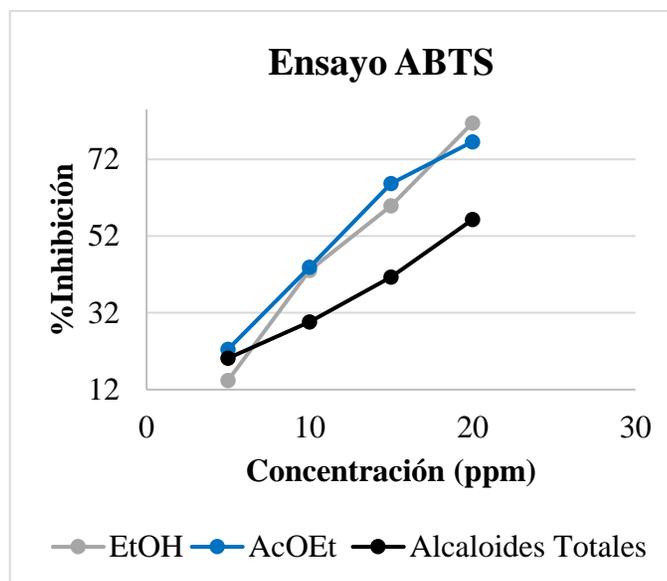


Gráfico 2. Curva concentración –respuesta (% de inhibición de radical ABTS).

El extracto etanólico y el extracto de acetato de etilo, fueron los mejores atrapadores del radical DPPH con un IC₅₀ de 14,59 μM y 12,79 μM, respectivamente. El extracto de alcaloides totales para el ensayo DPPH mostró tener menor actividad atrapadora cuando se hizo la regresión lineal con todos los puntos del gráfico

1 (IC_{50} = 39.84 μ M). A pesar de notarse una relación proporcional entre los datos, en este gráfico se observa que el %inhibición es similar para las primeras tres concentraciones evaluadas (38.49%, 39.87%, 40.20%), mientras que se eleva considerablemente con la cuarta concentración (53.96%). Por lo tanto, este valor se toma como no confiable.

Para el caso del ensayo con ABTS se obtuvieron valores significativos de IC_{50} en los extractos de EtOH (7.19 μ M), de AcOEt (9.11 μ M) y de alcaloides totales (12.56 μ M), destacándose principalmente el extracto EtOH como el mejor atrapador de este radical. Además, este último valor equivale aproximadamente a la mitad de la concentración para el mejor resultado de DPPH correspondiente también al extracto EtOH (14.59 μ M), lo que permite considerar a este extracto como el que mayor actividad antioxidante presenta frente a los demás. Para el extracto de AcOEt, los valores son similares en ambos ensayos; mientras que, en el extracto de alcaloides totales, uno no es confiable y por tanto la comparación entre los valores no es óptima (ver tabla 1).

Tabla 1. Valores de IC_{50} para los extractos de *D. vallicola*.

Método Extracto	DPPH	ABTS
	IC_{50}	IC_{50}
EtOH	14,59	7,19
AcOEt	12,79	9,11
Alcaloides totales	39,84	12,56

DISCUSIÓN

Los alcaloides **1** y **2** hallados en *D. vallicola* J.F. Macbr. poseen núcleo de aporfina y se clasifican como oxoaporfinas, dado el sustituyente oxo en la posición 7 de sus estructuras (figura 1). Ambos compuestos se informan por primera vez en esta especie. Por un lado, liriodenina (**1**) se había hallado en otras especies de *Duguetia*, como *D. staudtii*, *D. riparia*, *D. pycnastera*, *D. furfuracea* y *D. lanceolata*; mientras que

lanuginosina (**2**) se registró en *D. spixiana*, *D. glabriuscula*, *D. furfuracea* y *D. lanceolata* de acuerdo a la última revisión sobre el género *Duguetia*, realizada por Fuentes, 2020 (Fuentes, 2020; da Silva *et al.*, 2007; Cunha, 2009; Ngouonpe *et al.*, 2019; Dantas *et al.*, 2020; Nardelli *et al.*, 2021).

En los extractos de *D. vallicola* J.F. Macbr. evaluados (etanólico, acetato de etilo, y alcaloides totales), el análisis de varianza para la variable absorbancia, arrojó diferencias significativas entre los tratamientos. Asimismo, la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$) mostró que los tratamientos con resultados estadísticamente superiores correspondieron a los evaluados por el método ABTS. Esto indica, que este método es más sensible sobre los extractos evaluados de *D. vallicola* J.F. Macbr. en comparación con el método del DPPH.

Otras especies del género *Duguetia* también han sido sometidas a estudios de actividad antioxidante. Por un lado, el extracto etanólico de la corteza de tallo de la especie *D. chrysocarpa* arrojó un IC_{50} de 79.04 μ g/mL en el ensayo DPPH. En este extracto se identificaron fenoles, alcaloides, esteroides y terpenoides (da Silva *et al.*, 2011). Por otra parte, de las fracciones de AcOEt, metanólica (MeOH) e hidroetanólica (HEDF) de hojas de la especie *D. furfuracea* se evaluó la actividad antirradicalaria frente al radical DPPH para cada una, obteniendo valores de IC_{50} de 39.32 μ g/mL, 42.32 μ g/mL y 33.15 μ g/mL, respectivamente. En estas fracciones se encontraron índices de compuestos fenólicos y flavonoides, siendo menor en HEDF, donde el IC_{50} fue mejor. Lo anterior permitió concluir sobre el potencial antioxidante proporcionado por la presencia de otros compuestos en esta fracción (de Araujo *et al.*, 2016), dentro de ellos alcaloides (Soares *et al.*, 2014). Los trabajos realizados de la especie *D. vallicola* J.F. Macbr. se han basado solo en el contenido alcaloidal. Pérez y colaboradores, (2004), reportaron duguevalina, cleistofolina, O-metilmoschatolina, oliverolina y oliveridina en tallos de esta planta, los cuales exhibieron actividad antiplasmodial frente a *P. falciparum*; y se informa también el hallazgo del alcaloide N-metil laurotetanina en el extracto de

alcaloides totales de hojas de la especie en mención, evaluado frente al radical libre DPPH ($IC_{50}=90.6 \mu\text{g/mL}$).

El análisis de los valores de IC_{50} , señalan que el orden establecido de potencial antioxidante es el siguiente: extracto de AcOEt > extracto EtOH > extracto de alcaloides totales, frente al radical DPPH; y se invierte a extracto EtOH > extracto de AcOEt > extracto de alcaloides totales, frente al radical ABTS. Sin embargo, de acuerdo a los resultados mostrados en la tabla 1 y el análisis estadístico realizado, estos extractos actúan como captadores del radical ABTS mucho mayor que del radical DPPH.

CONCLUSIONES

Con base a los datos obtenidos, se determinó que los extractos EtOH, AcOEt y alcaloides totales de la madera de *D. vallicola* J.F. Macbr. resultaron tener actividad antioxidante frente a los radicales libres DPPH y ABTS, donde se destacó el extracto etanólico como el más eficaz antioxidante sobre ABTS en términos de IC_{50} ; y el extracto de AcOEt como el mejor en términos de IC_{50} frente a DPPH. La prueba de comparación de medias de Tukey mostró que el método que promueve una mayor absorbancia sobre los diferentes extractos evaluados es ABTS comparado con DPPH. Además, se aislaron e identificaron los alcaloides liriodenina y lanuginosina por primera vez en esta especie del género *Duguetia*. Estos resultados llaman la atención en el ámbito científico para seguir explorando esta especie como fuente promisoría de compuestos químicos con capacidad antioxidante que puedan contribuir a solucionar problemas de salud relacionados con el estrés oxidativo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arango, O., Pérez, E., Granados, H., Rojano, B., Sáenz, J., & Sáez, J. (2004). Inhibition of lipid peroxidation and free radical scavenging capacity of alkaloids isolated from two Annonaceae, *Xylopiya amazonica* cf. *And Duguetia vallicola*. *Actual Biol*, 26(81), 105–110. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/32943>

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Cunha, L. (2009). *Phytochemical and Biological Study of Duguetia riparia (Annonaceae)* [Thesis of Master in Chemistry. Federal University of Amazonas]. <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/3307>

da Silva Almeida, J. R. G., de Oliveira, M. R., Guimarães, A. L., de Oliveira, A. P., de Araújo Ribeiro, L. A., Lúcio, A. S. S. C., & Quintans Júnior, A. L. J. (2011). Phenolic quantification and antioxidant activity of *Anaxagorea dolichocarpa* and *Duguetia chrysocarpa* (Annonaceae). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(4), 367–374. <https://www.cabdirect.org/globalhealth/abstract/20123047675>

da Silva, D., Matos, M., Nakashita, S., Misu, C., Yoshida, N., Carollo, C., Fabri, J., Miglio, H., & Siqueira, J. (2007). Isolamento e avaliação da atividade citotóxica de alguns alcalóides oxaporfínicos obtidos de Annonaceae. *Química Nova*, 30(8), 1809–1812. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422007000800004>

Dantas, E., Monteiro, J., de Madeiros, L., Romanelli, M., Amaral, M., Tempone, A., Lago, J., Soares, M., & Sartorelli, P. (2020). Dereplication of Aporphine Alkaloids by UHPLC-HR-ESI-MS/MS and NMR from *Duguetia lanceolata* St.-Hil (Annonaceae) and Antiparasitic Activity Evaluation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31(9), 1908–1916. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200089>

de Araujo, F., da Cruz, L., Rodrigues, N., Waczuk, E., Sobral, C., Melo, H., da Costa, J., Athayde, M., Boligon, A., Franco, J., Posser, T., & Alenca, I. (2016). Phytochemical Composition, Antifungal and Antioxidant Activity of *Duguetia furfuracea* A. St.-Hill. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/7821051>

de Oliveira Teles, M. N., Dutra, L. M., Barison, A., & Costa, E. V. (2015). Alkaloids from leaves of *Annona salzmannii* and *Annona vepretorum* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 465–469. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.07.016>

do Santos, R., de Souza, A., Andrade-Silva, M., Vera Cruz, K., Leite Kassuya, C. A., Lima Cardoso, C., Vieira, M., & Nazari Formaggio, A. (2018). Antioxidant, anti-rheumatic and anti-inflammatory investigation of extract and dicentrinone from *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Benth. & Hook. f. *Journal of Ethnopharmacology*, 211, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.09.019>

Fuentes, L. (2020). *Química del género Duguetia (Annonaceae)* [Tesis de pregrado. Universidad de Córdoba]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/3894>

Guedes, J., Pereira, X., Suassuna, A., Lúcio, C., Barbosa, J., da Silva, L., & Mauricio, J. (1993). Antioxidant activity of discretamine, an alkaloid isolated from *Duguetia moricandiana* Mart. (Annonaceae). *Pharmacology*, 47, 77–85. <https://www.researchgate.net/publication/242297151>

Ivanišová, E., Tokár, M., Mocko1, K., Bojňanská1, T., Mareček1, J., & Mendelová1, A. (2013). Antioxidant activity of selected plant extract. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2(1), 1692–1703. <https://www.researchgate.net/publication/258226405>

Marin, F., Torres, O., Santafe, G., Saez, A., & Guzman, C. (2016). Phytochemical study and evaluation of the antioxidant activity of *Esenbeckia litoralis* Donn. Sm. (Loro Grande). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(4), 1–12. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2016/cpm164d.pdf>

Mijares S., F. J., Aymard C., G. A., & Pérez Buitrago, N. (2018). Nuevos registros para la flora vascular de Colombia presentes en la Orinoquia y reseña histórica de las expediciones botánicas a la región. *Biota Colombiana*, 18(2), 73–88. <https://doi.org/10.21068/c2017.v18n02a05>

Murillo, J. (2001). Las Annonaceae de Colombia. *Biota Colombiana*, 2(1), 49–58.

Nardelli, V., Silva de Souza, C., da Silva Chaar, J., Ferreira Koolen, H., Araújo da Silva, F., & Costa, E. (2021). Isoquinoline-derived alkaloids and one terpene lactone from the leaves of *Duguetia pycnastera* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 94, 23–26. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104206>

Ngouonpe, A., Mbobda, A., Happi, G., Mbiantcha, M., Tatuedom, O., Ali, M., Lateef, M., Tchouankeu, J., & Kouam, S. (2019). Natural products from the medicinal plant *Duguetia staudtii* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 83, 22–25. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2018.12.015>

Nordin, N., Majid, N. A., Hashim, N. M., Rahman, M. A., Hassan, Z., & Ali, H. M. (2015). Liriodenine, an aporphine alkaloid from *Enicosanthellum pulchrum*, inhibits proliferation of human ovarian cancer cells through induction of apoptosis via the mitochondrial signaling pathway and blocking cell cycle progression. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 1437–1448. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S77727>

Pérez, E. G., & Cassels, B. K. (2010). Alkaloids from the Genus *Duguetia*. *Alkaloids: Chemistry and Biology*, 68(10), 83–156. [https://doi.org/10.1016/S1099-4831\(10\)06803-3](https://doi.org/10.1016/S1099-4831(10)06803-3)

Pérez, E. G., Sáez, J., & Cassels, B. K. (2005). A convenient, renewable source of the anxiolytic proaporphine alkaloid glaziiovine: *Duguetia vallicola* leaves. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 50(3), 553–557.

<https://doi.org/10.4067/s0717-97072005000300005>

Pérez, E., Saez, J., Blair, S., Franck, X., & Figadere, B. (2004). Isoquinoline Alkaloids from *Duguetia Vallicola* Stem Bark with Antiplasmodial Activity. *Letters in Organic Chemistry*, 1(1), 102–104. <https://doi.org/10.2174/1570178043488743>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Min, Y., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity applying an improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Sharma, O., & Bhat, T. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202–1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>

Soares, F., da Silva, G., Echeverria, G., Muller, K., Kemmerich, I., Lausmann, A., Martins, J., Athayde, M., Boligon, A., Kamdem, J., Franco, J., Alencar, I., & Posser, T. (2014). Phytochemical constituents and toxicity of *Duguetia furfuracea* hydroalcoholic extract in *Drosophila melanogaster*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2014/838101>

Zhang, Z., ElSohly, H., Jacob, M., Pasco, D., Walker, L., & Clark, A. (2002). New sesquiterpenoids from the of root of *Guatteria multivenia*. *Journal of Natural Products*, 65(6), 856–859. <https://doi.org/10.1021/np0200717>