

# Estudio fitoquímico y biológico preliminar de la corteza (tallo) de *Vismia cayennensis* proveniente del estado Amazonas, Venezuela

Karina Marín<sup>1\*</sup>; Haydelba, D'Armas<sup>1,2</sup>; María Maillo<sup>3</sup>; José Villamizar<sup>3</sup>; Mirian García<sup>4</sup>

## Resumen

Se realizó un estudio químico y biológico preliminar de la especie *Vismia cayennensis*, colectada en el estado Amazonas, Venezuela. El ensayo antibacteriano del extracto de la corteza de la planta reveló una inhibición significativa de los microorganismos *Escherichia coli*, *Shigella* sp. y *Staphylococcus aureus*. Además, tres de las cinco fracciones solubles en solventes de distintas polaridades, específicamente las de cloroformo, acetona y agua, mantuvieron de manera moderada, esta actividad frente a la cepa *Shigella* sp. El extracto hidroalcohólico de la planta y la fracción soluble en cloroformo, exhibieron un efecto antiinflamatorio apreciable. Los ensayos de citotoxicidad realizados por los métodos de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio)/metosulfato de fenazina (MTS/PMS) y sulforodamina B, revelaron que sólo la fracción soluble en agua presenta efecto citotóxico. Adicionalmente, se realizó un estudio fitoquímico obteniéndose información de la presencia de algunas familias de metabolitos secundarios, tales como flavonoides, saponinas, taninos, polifenoles, antraquinonas, triterpenos y esteroides. Se puede inferir que la corteza del tallo de la planta *V. cayennensis*, es una fuente promisoría de metabolitos secundarios bioactivos.

**Palabras Clave:** Actividad anti-inflamatoria; citotoxicidad; *Escherichia coli*; metabolitos secundarios; *Shigella* sp; *Vismia cayennensis*.

## Phytochemical and biological preliminary study of *Vismia cayennensis* bark (stem) from Amazonas state, Venezuela

### Abstract

A chemical and biological preliminary study of the species *Vismia cayennensis*, collected in the Amazonas state, Venezuela. The antibacterial test of plant bark extract showed significant inhibition in *Escherichia coli*, *Shigella* sp and *Staphylococcus aureus*. In addition, three of the five soluble fractions of different polarity solvents, specifically those of chloroform, acetone and water, maintained moderately active against *Shigella* sp strain. The hydroalcoholic extract of the plant and the fraction soluble in chloroform, exhibited a significant anti-inflammatory effect. Cytotoxicity tests performed by the methods of (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfophenil)-2H-tetrazolium)/phenazine methosulfate of (MTS/PMS) and sulforhodamine B, revealed that only has water soluble cytotoxic effect. Additionally, a study phytochemical obtained information on the presence of some families of secondary metabolites such as flavonoids, saponins, tannins, polyphenols, anthraquinones, triterpenes and sterols. It can be inferred that the stem bark of the plant *V. cayennensis*, is a promising source of bioactive secondary metabolites.

**Keywords:** Anti-inflammatory activity; cytotoxicity; secondary metabolites; *Vismia cayennensis*.

**Recibido:** 25 de agosto de 2016

**Aceptado:** 16 de junio de 2017

<sup>1</sup> Laboratorio de Productos Naturales y Lípidos, Departamento de Química, Universidad de Oriente, estado Sucre, Venezuela. kmj1985@yahoo.es. orcid.org/0000-0002-3959-1659

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias de la Ingeniería, Universidad Estatal de Milagro, Provincia de Guayas, Ecuador. htrinidad86@hotmail.com.

<sup>3</sup> Laboratorio de Síntesis Orgánica y Productos Naturales, Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Venezuela. jvillami@ivic.ve.

<sup>4</sup> Laboratorio de Patología Celular y Molecular, Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Venezuela. miriam\_te11@yahoo.es

\*Autor para la correspondencia: kmj1985@yahoo.es

## I. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido y serán de gran importancia para la humanidad debido a sus aplicabilidades. En las últimas décadas, se ha intensificado la investigación científica para tratar de obtener información acerca del uso y de los constituyentes biológicamente activos de las plantas. Se ha reportado que los extractos de muchas plantas pertenecientes a la familia Clusiaceae (Guttifera), son usados en la medicina tradicional (Viscaya *et al.*, 2012). La planta *Vismia cayennensis* perteneciente a dicha familia, ha sido utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de algunas enfermedades.

Estudios previos realizados sobre el extracto de la especie *Vismia* colectada en el estado Amazonas y los Andes venezolanos, permitieron aislar de su corteza el physcion,  $\beta$ -amyrin y sitosterol, y estimar la actividad antioxidante de este vegetal (Buitrago *et al.*, 2016). Además, de los frutos de esta especie, se ha aislado el ácido crisofánico, physcion, isocariofileno,  $\beta$ -selineno y trans- $\alpha$ -farneseno (Hussain *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2013) y de sus hojas se obtuvieron cuatro nuevas *Vismia*fenonas D, E, F y G. Reportándose que la *Vismia*fenona D exhibió actividad inhibitoria HIV (Singh *et al.*, 2005). Esta planta representa un buena fuente de sustancias bioactivas; sin embargo, la biosíntesis de estos metabolitos se ve drásticamente influenciada por el hábitat al cual está sometida una especie para su crecimiento, desarrollo y supervivencia.

En tal sentido, se realizó un estudio fitoquímico de la corteza (tallo) de *Vismia cayennensis* proveniente del estado Amazonas, con el fin de obtener información acerca de los constituyentes químicos presentes en esta especie que habita en suelo venezolano, así mismo se ensayó su efecto citotóxico (utilizando los métodos de Sulforodamina B y MTS/PMS), su posible actividad anti-inflamatoria en un screening inicial (utilizando como mediador el óxido nítrico) y antibacteriana contra las cepas de *Escherichia coli* y *Shigella sp.* (Asociadas con alteraciones gastrointestinales) y de ser probada alguna de estas actividades, su explotación representaría el punto de partida para la producción de futuros fármacos, en este campo biomédico.

## II. DESARROLLO

### 2. Metodología

#### PARTE EXPERIMENTAL

##### 2.1 Recolección del material vegetal

Las muestras de la corteza (tallo) de la planta *Vismia cayennensis* fueron recolectadas en la localidad de Yutajé, municipio Manapiare, estado Amazonas, Venezuela (Coordenadas: 05°36'51"N, 66°06'85"W/ Altitud m SNM: 110), e identificadas en la sección botánica del laboratorio de Fisiología Gastrointestinal del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

##### 2.2 Obtención del extracto y fracciones solubles

La maceración del ejemplar se realizó en campo y consistió en la colecta discriminada del mismo y la separación de sus partes: la hoja, el tallo, la raíz, la flor, el fruto, la corteza; cada uno de éstos cuando fuese conveniente. Se trasladaron las muestras al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas para ser sometidas a extracción y bioensayos posteriores. Seguidamente, se tomó una cantidad del material vegetal fresco y se homogeneizó con etanol, en proporciones de 1 kg de material vegetal fresco por 3 litros de etanol. Este material se dejó macerar durante 72 horas y culminado este periodo, se procedió a realizar el filtrado con ayuda de una bomba de vacío.

Posteriormente, se retomó en etanol el material vegetal del filtrado, este procedimiento se repitió varias veces. Seguidamente, se evaporó el solvente, bajo presión reducida (aprox. 11mbar) en un rotavaporador Büchi R-3000 y luego se liofilizó en un LABCONCO freezone 4.5, para dar lugar al extracto hidroalcohólico de la planta. El extracto, se sometió a una extracción sólido-líquido utilizando cinco solventes de polaridad ascendente (hexano<cloroformo<acetona<metanol<agua). Este procedimiento se basó, en una extracción sucesiva con el solvente correspondiente a una temperatura no mayor a los 40°C, para obtener las fracciones solubles.

##### 2.3 Pruebas fitoquímicas

Al extracto y a las fracciones solubles obtenidas se les practicaron algunas pruebas químicas preliminares para detectar la presencia de

familia de metabolitos secundarios, mediante la metodología descrita por Marcano *et al.* (2002).

## 2.4 Bioensayos

### 2.4.1 Actividad antibacteriana del extracto y fracciones solubles

El ensayo de actividad antibacteriana se realizó mediante el método del Antibiograma descrito por (Bauer *et al.*, 1966), empleando discos de filtro Whatman N° 3, de 7 mm de diámetro con 25 µl de una solución preparada con el extracto y con 10 µl para las fracciones y sub-fracciones a analizar, de una concentración de 40 mg/ml. Se utilizaron como microorganismos las cepas Gram negativas: *Escherichia coli* [IBE (DOC-9)], *Staphylococcus aureus* [IBE (DOC-9)], *Shigella sp.* [ATCC 11126], *Pseudomona aeruginosa* (Bioanálisis B), *Salmonella sp* [IBE (DOC-6)] y *Serratia marcescens* [IBE (DOC-4)].

Los antibiogramas se realizaron por triplicados, con sus respectivos controles, con un período de incubación 24 horas a 37°C en una estufa, para permitir el crecimiento bacteriano y la actividad se determinó mediante la medida directa de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor del disco.

### 2.4.2 Ensayo de citotoxicidad

Línea celular: para los ensayos de citotoxicidad y determinación de óxido nítrico se emplearon macrófagos murinos Raw 264,7.

La citotoxicidad se evaluó mediante la técnica de MTS/PMS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio)/metosulfato de fenazina siguiendo la metodología de Promega Corporation (2009) y por el método de Sulforodamina B descrito por Houghton *et al.* (2007).

### 2.4.3 Actividad anti-inflamatoria

La actividad anti-inflamatoria fue evaluada a través de la determinación de nitritos, como mediador estable de la síntesis del óxido nítrico, a través de la reacción de Griess. Los ensayos se realizaron por triplicado usando como control aminoguanidina y una curva estándar de nitritos.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1 Análisis fitoquímico

El estudio fitoquímico realizado al extracto hidroalcohólico de la planta (EHP) mostró presencia de flavonoides, taninos, polifenoles, triterpenos pentacíclicos y esteroides insaturados; los últimos se detectaron también en las fracciones de hexano y cloroformo. Por su parte, las fracciones solubles en hexano, cloroformo y metanol, mostraron presencia de flavonoides. Se determinaron saponinas, polifenoles y triterpenos pentacíclicos en las fracciones de acetona y metanol. Así mismo, los taninos se detectaron en la fracción de metanol y la fracción soluble en acetona dio positivo el ensayo para antraquinonas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Resultados de las pruebas químicas, realizadas al extracto hidroalcohólico de la planta (EHP) y fracciones de *Vismia cayennensis* en solventes de distintas polaridades.

Familia de metabolitos secundarios	Fracciones solubles					
	EHP	FSH	FSC	FSA	FSM	FSAG
Alcaloides	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	+	+	+	-	+	-
Saponinas	-	-	-	+	+	-
Taninos	+	-	-	-	+	-
Polifenoles	+	-	-	+	+	-
Antraquinonas	-	-	-	+	-	-
Triterpenos	+	-	-	+	+	-
Esteroides	+	+	+	-	-	-

EHP: extracto hidroalcohólico de la planta; FSH: Fracción soluble en hexano; FSC: Fracción soluble en cloroformo; FSA: Fracción soluble en acetona; FSM: Fracción soluble en metanol; FSAG: Fracción soluble en agua; (+): Presencia; (-): No detectado.

Estudios fitoquímicos realizados sobre especies del género *Vismia*, revelan que este género es una buena fuente de xantonas, antraquinonas, terpenos, esteroides, polifenoles y flavonoides; este hecho es relevante, debido a que este estudio reveló que el extracto de la especie *Vismia cayennensis*, colectada en latitudes venezolanas, posee en su composición química, muchas de estas familias de metabolitos secundarios con actividades biológicas (Singh *et al.*, 2005; Kuete *et al.*, 2006; Nguemaving *et al.*, 2006; Epifano *et al.*, 2007; Nougoué *et al.*, 2007; Yadav *et al.*, 2016; Buitrago *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017).

### 3.2 Pruebas biológicas

#### 3.2.1 Actividad antibacteriana

Los resultados obtenidos en esta ensayo, revelaron que el extracto hidroalcohólico de la planta (EHP) exhibió una actividad inhibitoria significativa frente a las bacterias Gram negativas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.* y *Pseudomonas aeruginosa*, causantes de enfermedades gastrointestinales. La actividad antibacteriana del extracto se ve reflejada en los halos bactericidas observados, 15,50 mm; 10,88 mm; 16,63 mm y 7,75 mm contra las cepas *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.* y *Pseudomonas aeruginosa* respectivamente (Tabla 2).

El extracto presentó el mayor espectro de acción inhibiendo el 66,67% de las bacterias ensayadas (Tabla 3). Sin embargo, las fracciones

solubles no mostraron una actividad antibacteriana relevante, sólo las fracciones solubles en acetona, metanol y agua exhibieron una moderada actividad antibacteriana frente a la bacteria *Shigella sp.*, con halos de inhibición de 9,00 mm; 8,25 mm y 11,00 mm respectivamente (Tabla 2). Estas tres fracciones mostraron un espectro de acción inhibiendo el 16,67% de las bacterias ensayadas (Tabla 3). El hecho de que el extracto crudo inhibiera la acción de las bacterias ensayadas de manera significativa en comparación con las fracciones solubles, puede deberse a la sinergia química entre los distintos metabolitos secundarios.

Es importante destacar que además de los halos bactericidas, se observó que el extracto y algunas fracciones presentaron una fuerte actividad bacteriostática frente a la cepa *Shigella sp.*, este hecho puede ser atribuido a la presencia de más de un componente bioactivo y al tipo de microorganismo sobre el cual esté actuando la sustancia. Este estudio realizado a la especie de *Vismia cayennensis*, es de suma importancia ya que aporta una valiosa información al campo de la química orgánica y productos naturales presentes en plantas tropicales. Se han reportado numerosos estudios con extractos de plantas de la familia Clusiaceae, los cuales presentan potente actividad antibacteriana, alguna de estas especies son la *Garcinia mangostana*, *Mesua ferrea*, *Ochrocarpos siamensis*, *Vismia laurentii* de Wild, *Garcinia atroviridis*, *Hypericum* entities, entre otras (Mahady, 2005).

**Tabla 2.** Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico (EHP) y fracciones solubles en solventes de distintas polaridades, de la corteza (tallo) de *V. cayennensis*.

Cepas bacterianas	Origen	EHP	Fracciones solubles		
			FSA	FSM	FSAG
<i>Escherichia coli</i>	[IBE (DOC-9)]	15,50	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	[IBE (DOC-9)]	10,88	-	-	-
<i>Shigella sp.</i>	[ATCC 11126]	16,63 (15,60*)	9,00 (11,42*)	8,25 (11,58*)	11,00 (10,88*)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(Bioanálisis B)	7,75	-	-	-
<i>Salmonella sp.</i>	[IBE (DOC-6)]	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	[IBE (DOC-4)]	-	-	-	-

El diámetro del papel de filtro utilizado fue de 7mm; (-): No inhibió; (\*) Halo bacteriostático. EHP: extracto hidroalcohólico de la planta; FSH: Fracción soluble en hexano; FSC: Fracción soluble en cloroformo; FSA: Fracción soluble en acetona; FSM: Fracción soluble en metanol; FSAG: Fracción soluble en agua.

**Tabla 3.** Porcentajes de fracciones que inhiben a la bacteria (% F) y de bacterias inhibidas por las fracciones (% B).

Cepas	EHP	FSH	FSC	FSA	FSM	FSAG	% F
<i>E. coli</i>	+++	-	-	-	-	-	16,67
<i>S. aureus</i>	++	-	-	-	-	-	16,67
<i>Shigella sp.</i>	++	-	-	-	-	-	66,67
<i>P aeruginosa</i>	+	-	-	++	++	++	16,67
<i>Salmonella</i>		-	-	-	-	-	0,00
<i>S. marceres</i>		-	-	-	-	-	0,00
% B	66,67	0,00	0,00	16,67	16,67	16,67	

+ = 6,00-9,00 mm, ++ = 10,00-13,50 mm, +++ = 14,00-24,11 mm.

### 3.2.2 Ensayo anti-inflamatorio y citotóxico

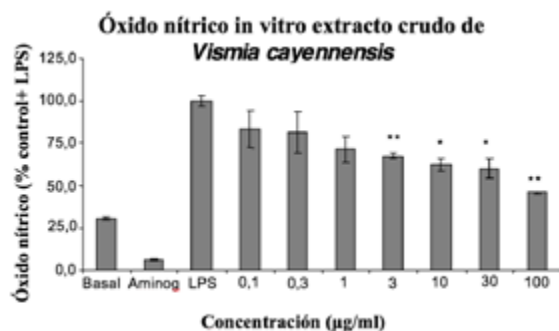
Los resultados en el ensayo anti-inflamatorio utilizando óxido nítrico como mediador, revelan un efecto inhibitorio dosis dependiente para el extracto hidroalcohólico de la planta y la fracción soluble en cloroformo, los cuales fueron estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ) para todas las concentraciones probadas al comparar con el control lipopolisacárido (LPS). En la Figura

1, se observa la actividad inhibitoria del extracto hidroalcohólico correspondiente al 32%, a una concentración de 3  $\mu\text{g/ml}$ , alcanzando 54% a la concentración de 100  $\mu\text{g/ml}$ . Este efecto se asume como relevante debido a que el extracto mostró una inhibición del 50% de las células (IC<sub>50</sub>) a concentraciones cercanas a los 67  $\mu\text{g/ml}$ , mediante el método de sulforodamina B (Ver Tabla 4).

**Tabla 4.** Resultados del ensayo citotóxico del extracto hidroalcohólico (EHP) y fracciones solubles de *V. cayennensis*, mediante el método de sulforodamina B.

Fracciones	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	ITC ( $\mu\text{g/ml}$ )	CL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
EHP	67	-	-
FSH	34	43	98
FSC	67	-	-
FSA	8	-	-
FSM	71	-	-
FSAG	-	-	-

IC<sub>50</sub>: Inhibición del 50% del crecimiento de la célula; ITC ( $\mu\text{g/ml}$ ): inhibición total del crecimiento; CL<sub>50</sub>: Efecto citotóxico del 50% de las células; (-): No inhibió; EHP: extracto hidroalcohólico de la planta; FSH: Fracción soluble en hexano; FSC: Fracción soluble en cloroformo; FSA: Fracción soluble en acetona; FSM: Fracción soluble en metanol; FSA: Fracción soluble en agua.



**Figura 1.** Determinación de óxido nítrico del extracto hidroalcohólico de *V. cayennensis*, (amino/: aminoguanidina 50  $\mu\text{g/ml}$ , LPS: lipopolisacárido 2  $\mu\text{g/ml}$ , valores expresados como la media  $\pm$  DS n=3).

Por otra parte, en la Figura 2 se visualiza la acción de la fracción soluble en cloroformo, la cual presentó una inhibición del 57% a una concentración de 30  $\mu\text{g/ml}$ . El resultado observado para esta fracción se considera significativo, debido a que ésta no exhibió citotoxicidad relevante a concentraciones menores o iguales a 30  $\mu\text{g/ml}$ , según los resultados reflejados por el ensayo citotóxico mediante el método de (MTS/PMS) (Figura 3).

Los resultados anteriores son relevantes, debido a que reflejan que el extracto crudo y la fracción de cloroformo inhiben aproximadamente el 50% de la producción de óxido nítrico con respecto al control

LPS. Datos no mostrados revelaron que las demás fracciones solubles no inhibieron de manera apreciable la producción de óxido nítrico, sólo se observó que la fracción soluble en hexano exhibió una actividad citotóxica a concentraciones mayores o iguales a 30 µg/ml, este valor lo reflejan los resultados del método MTS/PMS y de sulforodamina B, en el que se observó un IC<sub>50</sub> de 34 µg/ml, la inhibición total del crecimiento (ITC) a 43 µg/ml y el efecto citotóxico del 50% de las células (CL<sub>50</sub>) a 98 µg/ml (Tabla 4). El resto de estas fracciones mantuvieron valores relativamente bajos de citotoxicidad.

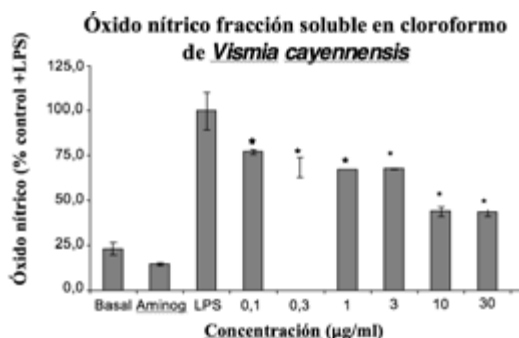


Figura 2. Determinación de óxido nítrico para la fracción soluble en cloroformo de *V. cayennensis* (amino/aminoguanidina 50 µg/ml, LPS: lipopolisacárido 2 µg/ml, valores expresados como la media ± DS n=3).

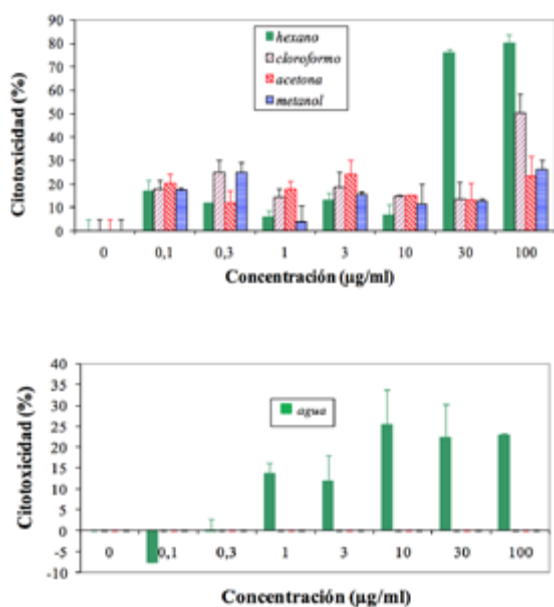


Figura 3. Citotoxicidad (MTS/PMS) en macrófagos Raw 264,7 de las fracciones de *V. cayennensis*, solubles en solventes de distintas polaridades.

Este análisis realizado a la especie *Vismia cayennensis*, representa el punto de partida para próximas investigaciones en el campo de los productos naturales y la medicina. Se han reportado resultados de compuestos con actividad anti-inflamatoria significativa aislados de extractos de plantas de la familia Clusiaceae, tal es el caso de la hipericina e hiperforina, aislados de las especies *Hypericum entibies* y *Hypericum empetrifolium*. El efecto citotóxico de ciertas plantas pertenecientes al género *Vismia* sobre algunas líneas celulares humanas de cáncer ha sido ampliamente estudiado (Hussein *et al.*, 2003).

Estudios del efecto antiproliferativo del extracto metanólico de *Vismia baccifera*, reveló actividad citotóxica sobre líneas celulares de cáncer de mama, pulmón y sistema nervioso central; así como también las especies *V. jefensis* y *V. microphylla*. El extracto de raíces de *V. guianensis* ha mostrado citotoxicidad en células de carcinoma oral y adenocarcinoma de colon. De las especies *V. japurensis*, *V. reichardtiana* y *V. decipiens* se han aislado otros antranoides prenilados conocidos como vismionas A, B, H, D y F; los cuales poseen actividad citotóxica contra diferentes células tumorales (Hussein *et al.*, 2003).

### III. CONCLUSIONES

Se evidenció la presencia de flavonoides en EHP y en las fracciones de hexano, cloroformo y metanol; saponinas en las fracciones de acetona y metanol; triterpenos y/o esteroides en las fracciones de acetona y cloroformo; y antraquinonas tan solo en la fracción acetónica, mediante pruebas fitoquímicas.

El extracto hidroalcohólico de la corteza (tallo) de la planta *V. cayennensis* exhibió una actividad antibacteriana sobre las cepas de *Escherichia coli* y *Shigella sp.*, y las fracciones de acetona, metanol y agua revelaron una inhibición moderada del microorganismo *Shigella sp.*

Los ensayos de citotoxicidad, revelaron que las fracciones solubles poseen una baja citotoxicidad (25%) hasta concentraciones menores o iguales a 10 µg/ml, la fracción de cloroformo presentó 50% de citotoxicidad a concentraciones iguales o mayores a 100 µg/ml, y la de hexano exhibió una actividad citotóxica de aproximadamente 80%, a concentraciones iguales o mayores a 30 µg/ml.

Los ensayos antiinflamatorios realizados a las fracciones solubles, revelaron que la fracción de



cloroformo exhibió una inhibición moderada de la producción de óxido nítrico en comparación con el control.

Se puede inferir que la corteza del tallo de la planta *V. cayennensis*, es una fuente promisoría de metabolitos secundarios bioactivos.

#### IV. AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al FONACIT por el financiamiento parcial de esta investigación, otorgada a través del proyecto Misión Ciencias (N° 2007000960). A los laboratorios de Síntesis Orgánica y Productos Naturales del Centro de Química, Fisiología Gastrointestinal del Centro de Biofísica y Bioquímica y al laboratorio de Patología Molecular y Celular del Centro de Medicina Experimental del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

#### V. REFERENCIAS

- Bauer, A., Kirby, A., Sherris, J., y Turk, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45 (4): 493-496.
- Buitrago, A., Rojas, J., y Peñaloza, Y. (2016). In vitro antioxidante activity and qualitative phytochemical analysis of two *Vismia* (Hypericaceae) species collected in Los Andes, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 64(4), 1431-1439.
- CellTiter 96TM Non-Radioactive Cell Proliferation Assay. (2009). Technical Bulletin, # TB112, Promega Corporation.
- Choi, E., y Hwang, J. (2004). Screening of Indonesian medicinal plants for inhibitor activity on nitric oxide production of Raw 264.7 cells and antioxidant activity. *Fitoterapia*, 76, 194-203.
- Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., y Curini, M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* 68, 939-953.
- Houghton, P., Fang, R., Techatanawa, I., Steventon, G., Hylands, P., y Lee, C. (2007). The Sulphorhodamine (SRB) assay and other approaches to testing plant extracts and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. *Methods*, 42, 377-387.
- Hussain, H., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Saleem, M., Green, I., Van Ree, T., y Ghulam, A. (2012). Chemistry and biology of genus *Vismia*. *Pharmaceutical Biology*, 50 (11), 1448-1462.
- Hussein, A., Bozzi, B., Correa, M., Capson, T., Kursar, T., Coley, P., Solis, P., y Gupta, M. (2003). Bioactive Constituents from Three *Vismia* species. *J. Nat. Prod.* 66 (6), 858-860.
- Kuete, V., Nguemeving, J., Beng, V., Azebaze, A., Etoa, F., Meyer, M., Bodo, B., y Nkengfack, E. (2006). Antimicrobial activity of the methanolic extracts and compounds from *Vismia Laurentii* De Wild (*Guttiferae*). *Journal of Ethno-Pharmacology*, 109, 372-379.
- Kumar, S., Sharma, S., y Chaattopadhyay, S. (2013). The potential health benefit of polyisoprenylated benzophenones from *Garcinia* and related genera: Ethnobotanical and therapeutic importance. *Fitoterapia*, 89, 86-125.
- Mahady, G. (2005). Medicinal Plants for the Prevention and Treatment of Bacterial Infections. *Current Pharmaceutical Design*, 11, 2405-2427.
- Marcano, D., y Hasegawa, M. 2002. Fitoquímica orgánica. Segunda edición. Litopar. Universidad Central de Venezuela. Caracas.
- Nguemeving, J., Azebaze, A., Kuete, V., Carly, N., Beng, V., Meyer, M., Blond, A., Bodo, B., y Nkengfack, A. (2006). Laurentixanthonones A and B, antimicrobial xanthonones from *Vismia laurentii*. *Phytochemistry*, 67, 1341-1346.
- Noungove, D., Antheaume, C., Chaabi, M., Ndjaka, B., Ngouela, S., Lobstein, A., y Tsamo, E. (2008). Antraquinones from the fruits of *Vismia laurentii*. *Phytochemistry* 69, 1024-1028.
- Oliveira, A., Oliveira, G., Carnevale, F. Portuondo, D., Batista, A., y Carlos, I. (2017). Anti-inflammatory activity of *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. extracts and antifungal activity against *Sporothrix schenckii*. *Journal of Ethnopharmacology*, 195, 266-274.
- Singh, I., Bharate, S., y Bhutani, K. (2005). Anti-HIV natural products. *Current Science*, 89, 269-290.
- Viscaya, M., Morales, A., Rojas, J., y Nuñez, R. (2012). Revisión bibliográfica sobre la composición química y actividades farmacológicas del género *Vismia* (*Guttiferae*). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(1), 12-34.
- Yadav, M., Sehrawat, A., Kumar, D., y Bhidhasra, A. (2016). Therapeutic Plants and Phytoconstituents as Natural Anti-HIV Agents: A Review. *Inventi Rapid: Planta Activa*, 2017(1), 1-5.