

Artículo Original / Original Article

## Estudio preliminar fitoquímico de fracciones hexánicas de hojas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)

[Phytochemical preliminary study of hexane fractions of leaves of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)]Viviana S Bravi<sup>1</sup>, Sandra Castello<sup>2</sup> y Luis Bruno-Blanch<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Bioactivos, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina<sup>2</sup>Laboratorio de Control de Calidad, Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Buenos Aires, Argentina**Reviewed by:**Cecilia Carpinella  
Universidad Católica de Córdoba  
ArgentinaOscar M. Mosquera  
Universidad Tecnológica de Pereira  
Colombia**Correspondence:**Viviana BRAVI  
[adriana@cpqba.unicamp.br](mailto:adriana@cpqba.unicamp.br)**Section Phytochemistry**Received: 22 May 2020  
Accepted: 5 February 2021  
Accepted corrected: 2 January 2022  
Published: 30 January 2023**Citation:**Bravi VS, Castello S, Blanch LB.  
Estudio preliminar fitoquímico de fracciones  
hexánicas de hojas de *Eugenia uniflora* L.  
(Myrtaceae)**Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat**22 (1): 86 - 99 (2023).  
<https://doi.org/10.37360/blacpma.23.22.1.7>

**Abstract:** Fractions from the Hexane Extract (HE) of *Eugenia uniflora* L. leaves were subjected to various chromatographic systems. Germacrone sesquiterpene and bornyl acetate bicyclic ester were characterized by High Performance Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (HPLC-MS) with APCI Mass detector comparing with their homonymous spectrum provided by databases and characteristic fragmentation pathways were proposed. The monoterpene pulegone and the pentacyclic triterpene compound, ursolic acid, were found through High Performance Liquid Chromatography coupled to High Resolution Mass Spectrometry (HPLC - HRMS) by atmospheric pressure ionization (API) and the detector used was mass of Electronic Impact (IE). Both ursolic acid and bornyl acetate are present in other species of the same genus, but not in the species studied.

**Keywords:** *Eugenia uniflora* L.; Hexan extract; HPLC-HRMS; Ursolic acid; Bornyl acetate.

**Resumen:** Fracciones provenientes del Extracto Hexánico (EH) de hojas de *Eugenia uniflora* L. fueron sometidas a diversos sistemas cromatográficos. El sesquiterpeno germacrone y el éster bicíclico acetato de bornilo fueron caracterizados por Cromatografía Líquida de Alta Performance acoplada a Espectrometría de Masas (HPLC-MS) con detector Masa APCI comparando con su espectro homónimo aportado por bases de datos y fueron propuestas vías de fragmentación características. El monoterpene pulegona y el compuesto triterpénico pentacíclico, ácido ursólico, fueron encontrados a través de Cromatografía Líquida de Alta Performance acoplada a Espectrometría de Masas de Alta Resolución (HPLC - HRMS) por ionización a presión atmosférica (API) y el detector usado fue masa de Impacto Electrónico (IE). Tanto el ácido ursólico como el acetato de bornilo están presentes en otras especies del mismo género, no así en la especie estudiada.

**Palabras clave:** *Eugenia uniflora* L.; Extracto hexánico; HPLC - HRMS; Ácido ursólico; Acetato de bornilo.

## INTRODUCCIÓN

*Eugenia uniflora* L. pertenece a la familia Myrtaceae, llamada vulgarmente “pitanga” o “ñangapiri” es una especie nativa, de hábito arbusto o árbol, muy ramificado y globoso, con hojas opuestas, glabras, subsésiles, aovado-lanceoladas, de 2,5 - 5 cm. de largo. En Argentina se distribuye en las provincias de Catamarca, Chaco, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santa Fe y Tucumán. (Missouri Botanical Garden, 2018; Catálogo de las Plantas Vasculares – Flora del Cono Sur, 2018).

Por su diversidad en compuestos químicos aislados como así también en su actividad biológica: anticancerígenas (Lee *et al.*, 2000), antidiabéticas (de Almeida *et al.*, 2011), antioxidante (Celli *et al.*, 2011; Bagetti *et al.*, 2011, Costa *et al.*, 2013), anticonvulsivante (del Valle, 2012), anti-leishmaniasis. (Rodrigues *et al.*, 2013), antibacteriana (Castelo *et al.*, 2020), centramos nuestro interés en la caracterización química de compuestos en fracciones de baja polaridad cuya actividad biológica fue estudiada precedentemente. (Castelo *et al.*, 2020)

En este trabajo, nosotros registramos la presencia del ácido ursólico y el acetato de bornilo denotando su nueva presencia en *Eugenia uniflora*. Los compuestos germacrone y pulegona, los cuales estos últimos se encuentran mayoritariamente en el aceite esencial de hojas (Melo *et al.*, 2007; Peixoto *et al.*, 2009), en la especie estudiada fueron también identificados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos

Ácido Sulfomolibdico, Dragendorff (nitrato básico de bismuto (III), yoduro potásico, ácido acético glacial), Difenilbórico (éster del ácido 2 - amino etil difenil bórico (AEDBE)), Liebermann Burchard (anhídrido acético, ácido sulfúrico concentrado), Ninhidrina; Solución acuosa al 1% de Cloruro de hierro (III), Yodo, *p*-anisaldehído sulfúrico. Todos los solventes utilizados en el presente trabajo fueron de calidad analítica, y en el caso que fue necesario se procedió a su purificación, según técnicas descriptas en la literatura, y se le realizaron los controles correspondientes para verificar que cumpliera con dicha calidad (Bravi, 2018).

### Métodos cromatográficos

Para el análisis en Cromatografía en Capa Delgada (CCD) fueron empleados como fase estacionaria cromatofolios de sílica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) 0.25 mm de espesor, cromatofolios de sílica gel silanizada

(Merck) 0.25 mm de espesor, cromatofolios de celulosa (Merck) 0.25 mm de espesor y como fase móvil: diclorometano, éter de petróleo, metanol, tolueno, acetato de etilo, metanol, acetona, etanol, *n*-butanol, ácido acético (Sigma - Aldrich) (Bravi, 2018).

Para la purificación en Cromatografía en Columna fueron utilizados como fase estacionaria Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) 0.63 - 0.200 mm y fase móvil: éter de petróleo, diclorometano, acetona, metanol (Sigma - Aldrich) (Bravi, 2018).

Para la separación en Cromatografía Preparativa, fueron usadas como fase estacionaria Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck) 2 mm de espesor y la fase móvil: diclorometano, metanol (Sigma - Aldrich). Todos los solventes empleados en este trabajo fueron de grado cromatográfico (Bravi, 2018).

### Extracción y aislación

#### Material vegetal y extracción del extracto hexánico

Las hojas de *Eugenia uniflora* L. fueron recolectadas en la estación de primavera en horas de la mañana, en bosques secundarios de Santa Ana Departamento de Candelaria, Provincia de Misiones, Argentina. La determinación taxonómica fue realizada por el Profesor Doctor Aníbal G. Amat de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, depositándose un ejemplar en el herbario del Departamento de Farmacia correspondiente a la Facultad citada precedentemente cuyo código de la especie es N° A. G. Amat 2581.

Las hojas frescas de *Eugenia uniflora* L. fueron secadas a la sombra, a temperatura ambiente, por un período de cuatro semanas hasta peso constante. Se separaron las hojas, que fueron trituradas mecánicamente con reducción a un polvo fino empleando un molinillo Glen Creston (Stanmore England). El polvo fue secado en tambor de vacío hasta peso constante (250 g) y sometido a extracciones con hexano mediante un proceso de maceración, a temperatura ambiente, durante siete días utilizando shaker como agitador mecánico, hasta agotar el material. Se realizaron dos extracciones de un volumen de 1000 ml y dos de 500 ml, respectivamente. A continuación, fue filtrado con papel de filtro por gravedad separando de esta manera el residuo sólido del sobrenadante (Extracto Hexánico [EH]).

#### Análisis del EH

El Extracto Hexánico (EH) fue evaporado a presión reducida, en evaporador rotatorio a una temperatura

de 30°C, y secado en tambor de vacío hasta peso constante (8.31 g). Al EH le fueron realizadas las reacciones de caracterización química con Dragendorff, según Munier y Macheboeuf, (Munier, 1953) y Liebermann Burchard (Domínguez, 1973), para la caracterización de grupos químicos de alcaloides y esteroides o triterpenos respectivamente.

En REFER Se realizó una separación en cromatografía en columna con sílica gel usando el cromatógrafo "CombiFlash TM Sm 50 System" con detector UV de fracciones; la presión ejercida fue de 2 atm Flujo 4 izquierda. Se empleó sílica gel 60 (0.63 - 0.200 mm) como fase estacionaria (marca Merck) y fue particionado con éter de petróleo, seguido por un gradiente de solventes de éter de petróleo: diclorometano (6:1), (3:1), (2:1), (1:1), a continuación, con diclorometano y finalizando con acetona (Bravi, 2018).

Se obtuvieron las Fracciones Fr<sub>9</sub>, Fr<sub>14</sub>, Fr<sub>15</sub>, Fr<sub>16</sub>, Fr<sub>20</sub> y Fr<sub>22</sub> que presentaron un comportamiento cromatográfico semejante empleando como Fase Estacionaria cromatofolios de Sílica gel 60 F<sub>254</sub> Merck 0.25 mm de espesor de un tamaño de 6 cm x 2.5 cm realizando una siembra en forma puntual empleando micropipetas Accu-fill 90 (10 µl) y como Fase móvil = éter de petróleo: diclorometano (4:1), Revelado = luz UV 254 y 366 nm y ácido Sulfomolibdico (Bravi, 2018).

#### **Estudio de las fracciones Fr<sub>9</sub> y Fr<sub>15</sub>**

Las fracciones Fr<sub>9</sub> y Fr<sub>15</sub> fueron sometidas a una Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) acoplada a Espectrometría de Masas (HPLC-MS) en LC/MSD VL Agilent Technologies 1100 Series Liquid Chromatography en un rango de m/z 50 a 1500. Fue empleada una columna Phenomenex C18 100 x 4.6 mm de 5 µm de tamaño de partícula y el Detector Masa APCI (Ionización Química por Presión Atmosférica), modo positivo. El volumen de inyección fue de 8 µl, se trabajó a temperatura ambiente con una presión de 1100 psi. con un caudal de 1ml/min y el tiempo de corrida fue de 32 min. El solvente utilizado en la fase móvil fue acetonitrilo al 100%, de calidad analítica HPLC. Se filtró por filtro Millipore Millex-HN de 0.45 mm de diámetro de poro y desgasificó primero con ultrasonido y posteriormente burbujeo de gas Helio, a temperatura ambiente (Bravi, 2018).

Ambas fracciones fueron analizadas estructuralmente a través de un HPLC-MS LC/MSD VL Agilent Technologies 1100 Series Liquid Chromatography en un rango de m/z 50-1500

complementadas (HMDB, 2012; NIST, 2018; Bravi, 2018).

#### **Estudio de la fracción Fr<sub>20</sub>**

1.56 g de la Fr<sub>20</sub> fue sometida a un fraccionamiento en cromatografía preparativa en columna de longitud 30 cm y 3 cm de diámetro empleando como fase estacionaria sílica gel 60 (0.63 - 0.200 mm) y fue eluido con diclorometano seguido por diclorometano: metanol (98:2), (96:4), (90:10), (85:15), (70:30), (60:40) continuando con metanol y concluyendo con metanol: agua destilada (70:30) (Bravi, 2018).

Se colectaron 167 fracciones de 5 ml cada una las cuales fueron examinadas por CCD empleando la fase estacionaria Sílica gel 60 F<sub>254</sub> marca Merck de 0.25 mm de espesor, la fase móvil diclorometano: metanol (95:1) y el Revelador luz UV a 254 y 366 nm y ácido Sulfomolibdico. Se reunieron 10 fracciones que presentaron un perfil cromatográfico semejante: Fr<sub>20-1</sub> - Fr<sub>20-10</sub>. Fue evaluado el perfil cromatográfico de Fr<sub>20-10</sub> empleando como fase estacionaria Sílica gel 60 F<sub>254</sub>, fase móvil diclorometano: metanol (6:1) y Revelado LUZ UV a 254 y 366 nm y ácido Sulfomolibdico y vapores de Yodo (Bravi, 2018).

#### **Estudio de la fracción Fr<sub>22</sub>**

La fracción Fr<sub>22</sub> fue concentrada en evaporador rotatorio a 30°C y secada a peso constante en tambor de vacío. Se le realizaron extracciones de solventes de polaridad creciente obteniéndose cuatro extractos: EH (Extracto Hexánico), EDCM (Extracto Diclorometano), EA (Extracto Acetato de etilo) y EM (Extracto Metanólico) (Bravi, 2018).

A EDCM y EA se le realizaron reacciones de caracterización del núcleo terpénico con la Reacción de Liebermann Burchard. Se realizó una CCD contra Testigo de EDCM empleando como fase estacionaria cromatofolios de sílica gel 60 F<sub>254</sub> Merck 0.25mm de 6 cm x 2.5 cm de tamaño, se sembró EDC seco solubilizado en diclorometano, 1 mg/0.1 ml y como Testigo una solución diclorometánica 1% de ácido ursólico, la fase móvil<sub>1</sub> = tolueno: acetato de etilo (8:2), Fase Móvil<sub>2</sub> = diclorometano: metanol (95:5). El revelado se efectuó con LUZ UV a 254 y 366 nm y con el reactivo revelador *p*-anisaldehído sulfúrico con posterior calentamiento en estufa a 110°C durante 1 minuto para visualizar coincidencia de R<sub>f</sub> de la mancha del testigo con la muestra estudiada.

44 mg del EDCM solubilizado en diclorometano fue sembrado en Cromatografía en Placa Preparativa utilizando como fase estacionaria

sílica gel 60 F<sub>254</sub> de 15 cm x 15 cm, la fase móvil diclorometano: metanol (20:1) (x 3) y el revelado con LUZ UV a 254 y 366 nm. Se obtuvieron 5 fracciones denominadas Fr<sub>D1</sub>, Fr<sub>D2</sub>, Fr<sub>D3</sub>, Fr<sub>D4</sub> y Fr<sub>D5</sub> las cuales fueron marcadas, separadas y extraídas con diclorometano como solvente de extracción. Se realizó una CCD contra Testigo ácido ursólico, de las cinco fracciones, utilizando como sistema cromatográfico: Fase Estacionaria Sílica gel 60 F<sub>254</sub>; Fase Móvil diclorometano: metanol (95:5); Revelado LUZ UV a 254 y 366 nm y *p*-anisaldehído sulfúrico con motivo de observar R<sub>f</sub> similar al de la sustancia de referencia.

#### Estudio de la fracción Fr<sub>20-10</sub> y de la fracción Fr<sub>D3</sub>

La fracción Fr<sub>D3</sub> que deriva del extracto EDCM y la fracción Fr<sub>20-10</sub> (obtenida de la Fr<sub>20</sub>) fueron analizadas por Cromatografía Líquida de Alta Performance acoplada a Espectrometría de Masas de Alta Resolución (HPLC-HRMS) (Bravi, 2018). La técnica empleada fue la ionización a presión atmosférica (API), que incluye la electronebulización o electrospray (ES), empleándose como detector Masa de Impacto Electrónico (IE) en el modo positivo y una Columna C18 BEH 130 Å, 2.1 mm x 50 mm de 1.7 µm de tamaño de partícula. El volumen de inyección fue de 10 µl y se trabajó a una temperatura de 35°C, a flujo constante en un valor de 1.8 µl/min. La fase móvil utilizada fue acetona, de calidad analítica HPLC procediendo del mismo modo que en la técnica cromatográfica explicada anteriormente. El tiempo de corrida fue de 38 min.

El estudio fue complementado con la presencia de tablas, pertenecientes a las muestras analizadas, en donde se especifican los distintos picos, a diferentes señales, con su respectiva m/z resaltando aquellas coincidentes con m/z del espectro de masas del ácido ursólico (NMIJ, 2018) y Spectral Database for Organic Compounds para la fracción Fr<sub>D3</sub>, y para Fr<sub>20-10</sub> (NMIJ, 2018).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Pulegona*

En el cromatograma de la Figura N° 1, a un Tr. 1.991 se observa la posible presencia de *Pulegona* que al comparar con su espectro homónimo (Figura N° 2) aportado por la base de datos HMDB, se visualizan algunos picos característicos del compuesto hallado. Se encuentra un ión molecular m/z 152 [M<sup>+</sup>] correspondiente con la fórmula molecular C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O.

El fragmento m/z 137 se corresponde al (2-etinil-5-metilenciclohexil) oxonio, C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>O<sup>+</sup>, el de m/z 123 al (3-etinil-4-metilpenta-1,4-dien-2-il) oxonio con la fórmula molecular C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>O<sup>+</sup> y el de m/z 111 (C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O<sup>+</sup>), correspondiente al (5- metilenciclohex-3-en-1-il) oxonio según base de datos consultada (HMDB) (Figura N° 3).

En la fracción Fr<sub>9</sub> fue encontrado *Pulegona* mediante un análisis de HPLC-MS y estudios previos muestran la presencia de este compuesto en el aceite esencial de hojas mediante hidrodestilación (Peixoto et al., 2009).

Según la literatura internacional consultada, los compuestos químicos encontrados en mayor proporción en hojas de *Eugenia uniflora* L. fueron los sesquiterpenos selina-1,3,7,(11)-trien-8-ona, furanodieno, oxidoselina-1,3,7,(11)-trien-8-ona (El-Shabrawy, 1995; de Morais et al., 1996; Kanazawa et al., 2000), limoneno, verbenona, *pulegona*, carvona, nerolidol, (Henriques et al., 1993) *germacrone* y *curzerene* (Maia et al., 1999; Melo et al., 2007).

### *Germacronne*

En el perfil cromatográfico de la Fr<sub>15</sub> (Figura N° 4), a un Tr. 12.660 se observa la posible presencia del *Germacrone*, con un ión molecular m/z 218 correspondiente con la fórmula molecular C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O. Con la pérdida de un propeno (H<sub>2</sub>C=CH-CH<sub>3</sub>) y posteriormente un metilo (-CH<sub>3</sub>), se obtendría el fragmento m/z 162 correspondiente a C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O el cual con la pérdida de un HO- se obtendría el fragmento m/z 145 (C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>).

Los otros fragmentos característicos serían m/z 103 que podría obtenerse a partir de la pérdida de un propeno (m/z 42) y el de m/z 121, de la pérdida de un H<sup>+</sup> obteniendo el fragmento m/z 161 equivalente a C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>O y finalmente al perderse un H<sub>2</sub>C=CH-CH<sub>3</sub> se obtendrían los fragmentos m/z 121 y m/z 42. (Figura N° 5). Con los datos aportados por la base de datos Nist, se observa el Espectro de Masas del *Germacrone* en donde se indican algunos de los picos característicos (Figura N° 6), pertenecientes a dicho compuesto en la muestra de análisis (Figura N° 4).

El *Germacrone* es uno de los compuestos químicos que se encuentra en mayor proporción en el aceite esencial de hojas del género *Eugenia*. Estudios realizados en *Eugenia uniflora* L. revelan la presencia de ese compuesto en el aceite esencial de hojas (Melo et al., 2007).

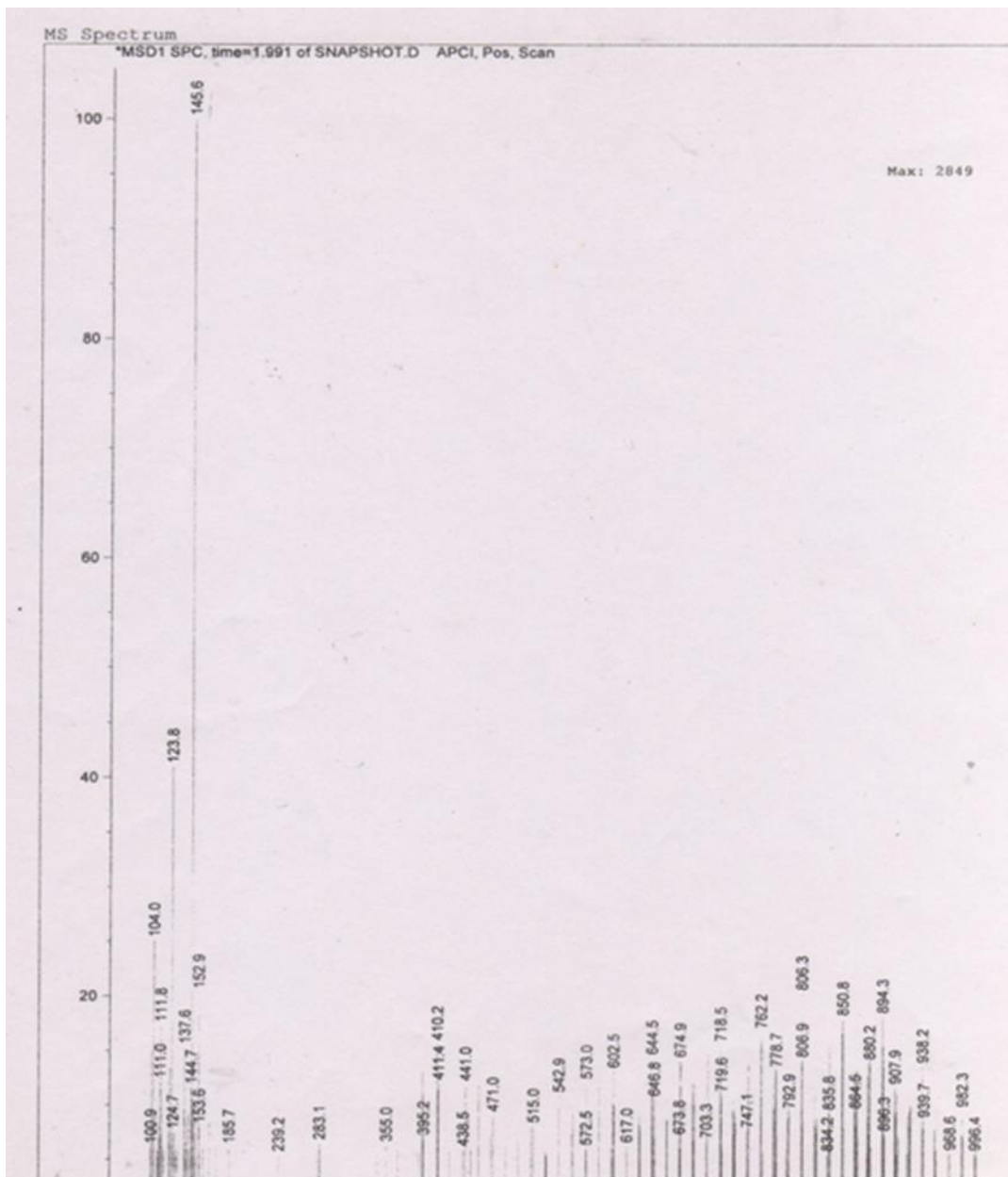


Figura N° 1  
HPLC-MS de la Fr<sub>9</sub>

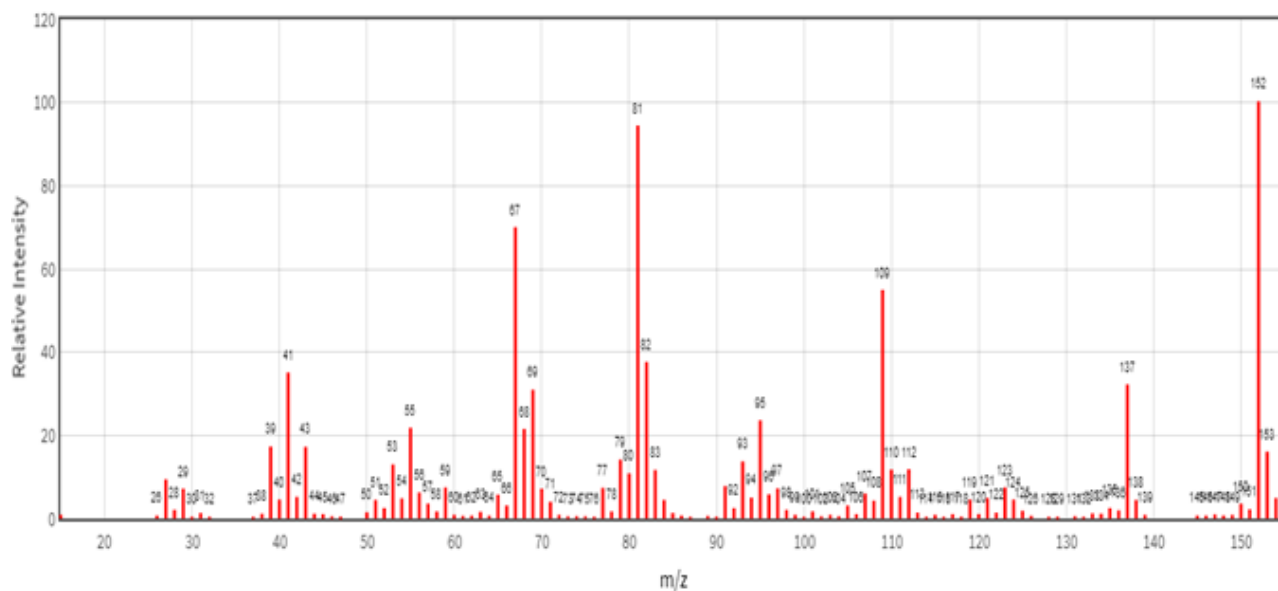


Figura N° 2  
EM Pulegona

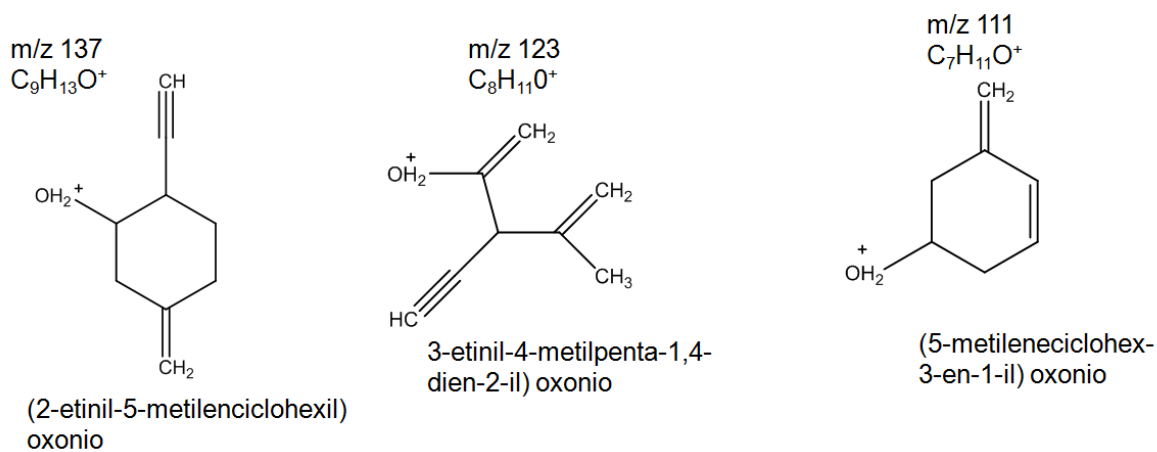


Figura N° 3

Compuestos químicos pertenecientes a fragmentos de la Pulegona según base de datos HMDB

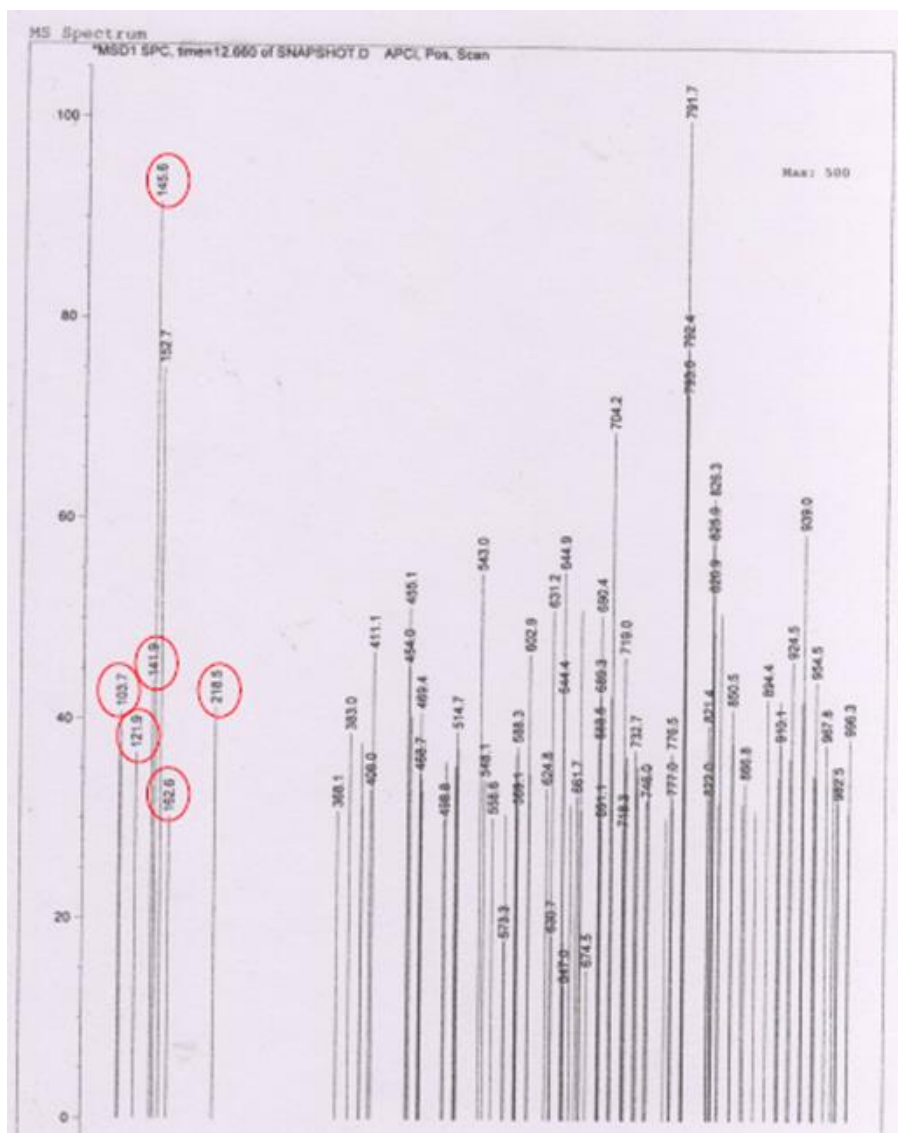
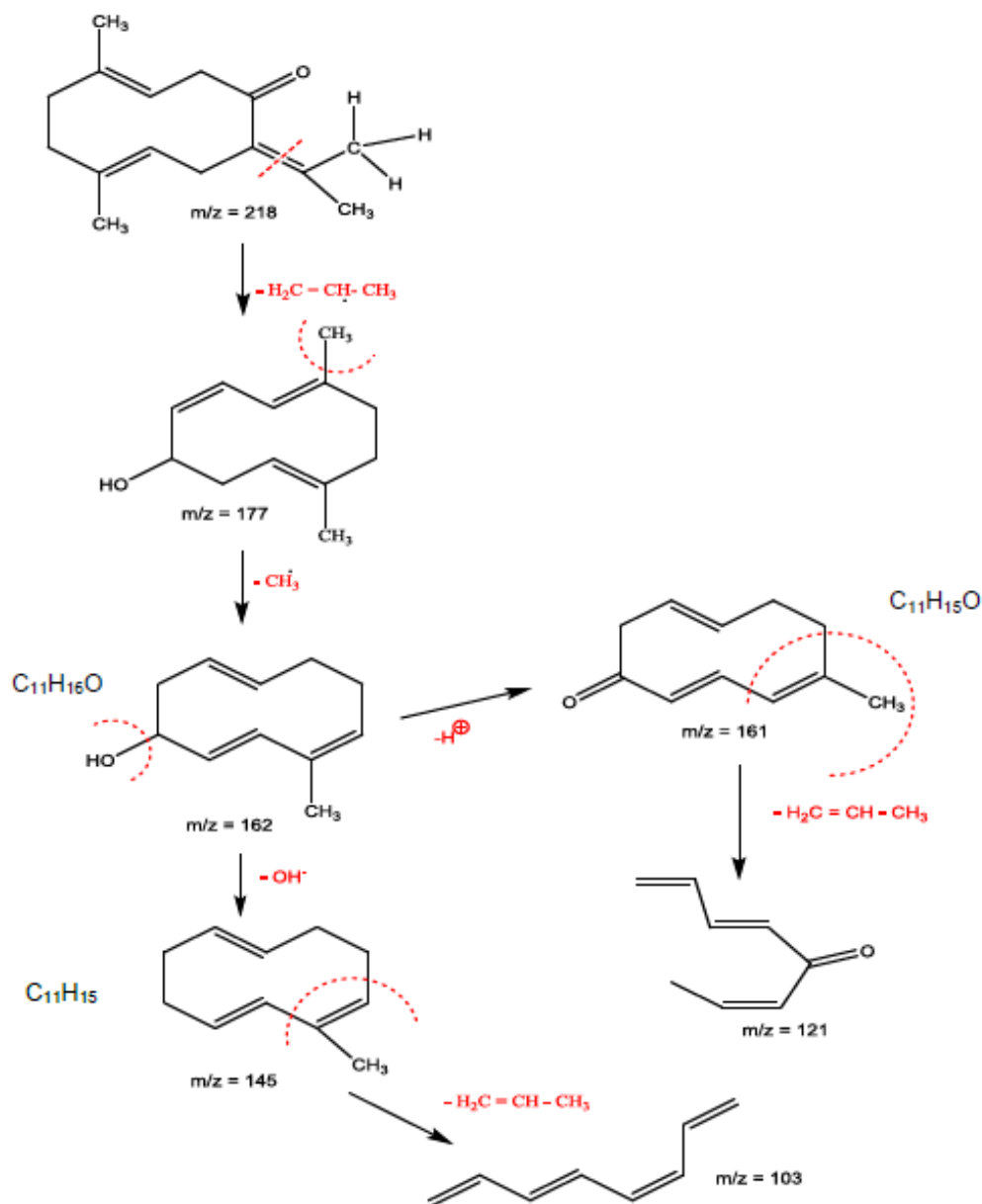


Figura N° 4  
HPLC-MS de la Fr<sub>15</sub>



**Figura N° 5**  
Esquema de fragmentación propuesto para Germacrone

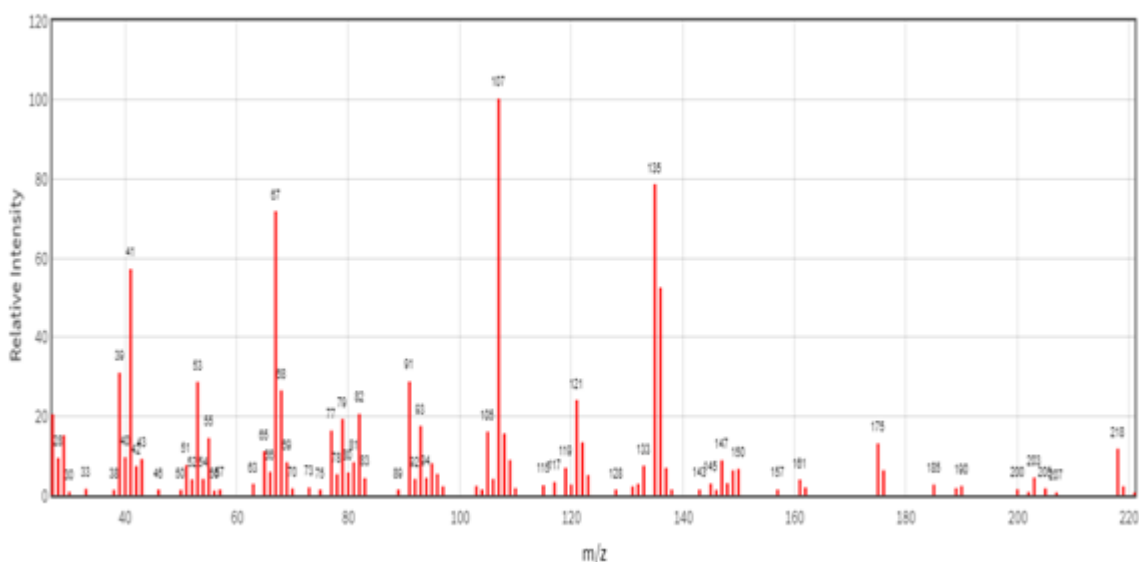
### Ácido ursólico

En el cromatograma de la Figura N° 7 se observa a un Tr. 35.536 la posible presencia del ácido ursólico en donde se evidencia el pico del ión molecular  $m/z$  456  $[M^+]$  correspondiente con la fórmula molecular  $C_{30}H_{48}O_3$ . El estudio fue complementado con valores de  $m/z$  provenientes de distintos compuestos presentados en tablas (Tabla N° 1), pertenecientes a la misma muestra analizada, en donde se especifican los

distintos picos, a diferentes señales, con su respectiva  $m/z$  resaltando aquellas coincidentes con  $m/z$  del espectro de masas del ácido ursólico (NMIJ, 2018) (Figura N° 8).

El fragmento de  $m/z$  409, correspondería al compuesto cuya fórmula molecular es  $C_{29}H_{44}O$  y el de  $m/z$  55, a 1-butene ( $C_4H_7$ ), (HMDB, 2012) (Figura N° 9).





**Figura N° 6**  
Espectro de Masas: Germacrone

**Tabla N° 1**

Compuesto químico	m/z
1	55,6397
2	95,0454
3	409,3535

**Compuestos químicos con su respectiva m/z de la Fr<sub>D3</sub> coincidentes con m/z del espectro de masas del ácido ursólico**

En una fracción de éter de petróleo derivada de un extracto etanólico de hojas de *Eugenia brasiliensis* Lam., fue identificado también este ácido triterpénico monohidroxilado. (Frighetto *et al.*, 2005)

#### **Acetato de bornilo**

La evaluación de la Fr<sub>20-10</sub> se realizó analizando los datos de tablas en donde se especifican los distintos picos con su m/z de la fracción de estudio (Tabla N°

2), contrastándolos con aquellos del acetato de bornilo provenientes de su Espectro de Masa (Figura N° 10) (NMIJ, 2018) (Tabla N° 3). El ión molecular de m/z 196 [M<sup>+</sup>] sería compatible con la fórmula molecular C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>.

El fragmento m/z 139 sería correspondiente a la fórmula molecular C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>O<sup>+</sup>, el de m/z 69 perteneciente a C<sub>5</sub>H<sub>9</sub><sup>+</sup>, m/z 55 relacionado con C<sub>4</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup> y m/z 53 con C<sub>4</sub>H<sub>5</sub> (HMDB, 2012) (Figura N° 11).

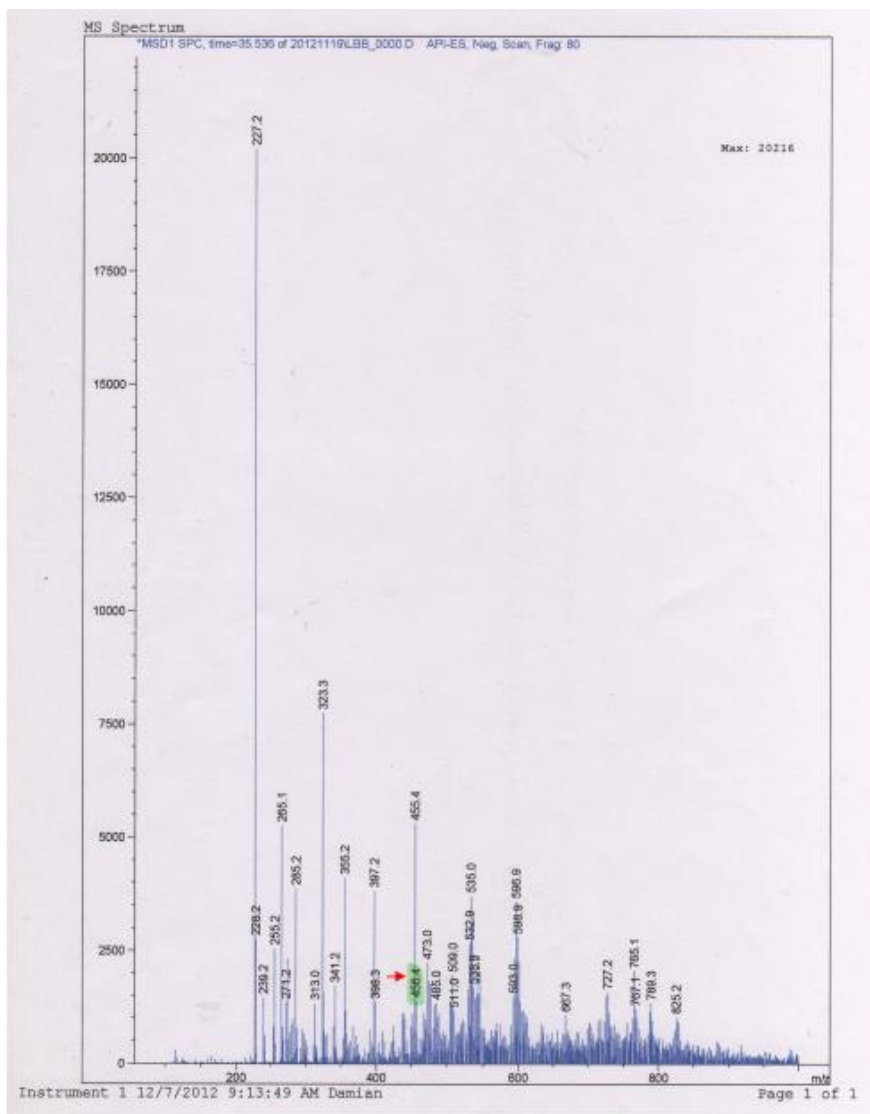


Figura N° 7  
 HPLC-HRMS de Fr<sub>D3</sub>

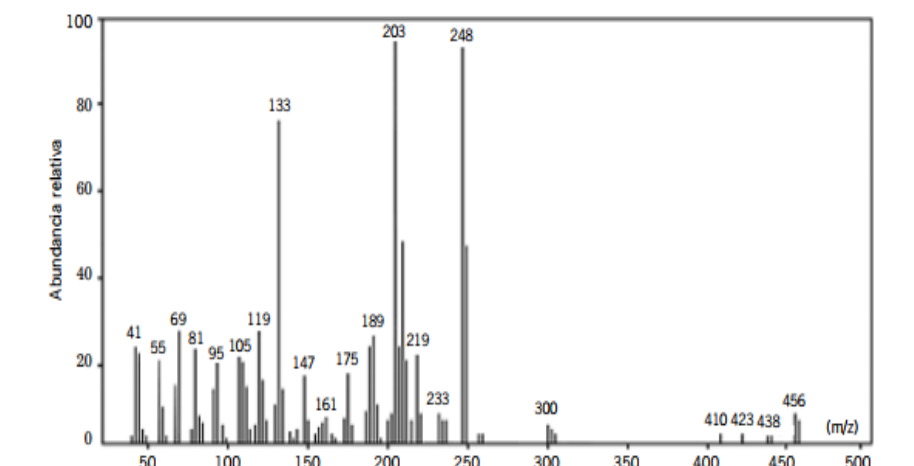


Figura N° 8  
 Espectro de masa del ácido ursólico

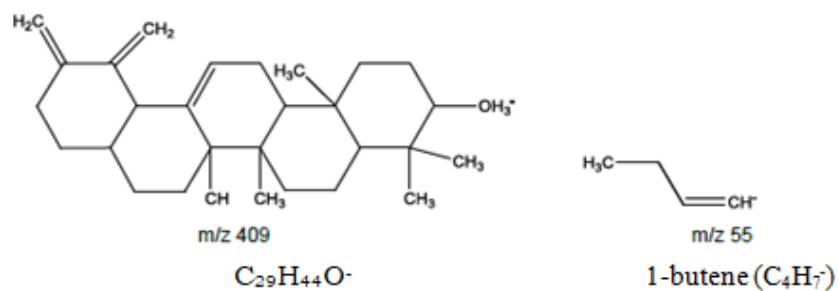


Figura N° 9

Compuestos químicos pertenecientes a fragmentos del ácido ursólico según base de datos HMDB

Compuesto químico	m/z
1	29,5239
2	44,3387
3	53,0347
4	53,6664
5	55,0595
6	69,4812
7	70,4082
8	92,0389
9	139,7821

Tabla N° 2

Compuestos químicos con su respectiva m/z de la  $Fr_{20-10}$  coincidentes con m/z del espectro de masas del acetato de bornilo

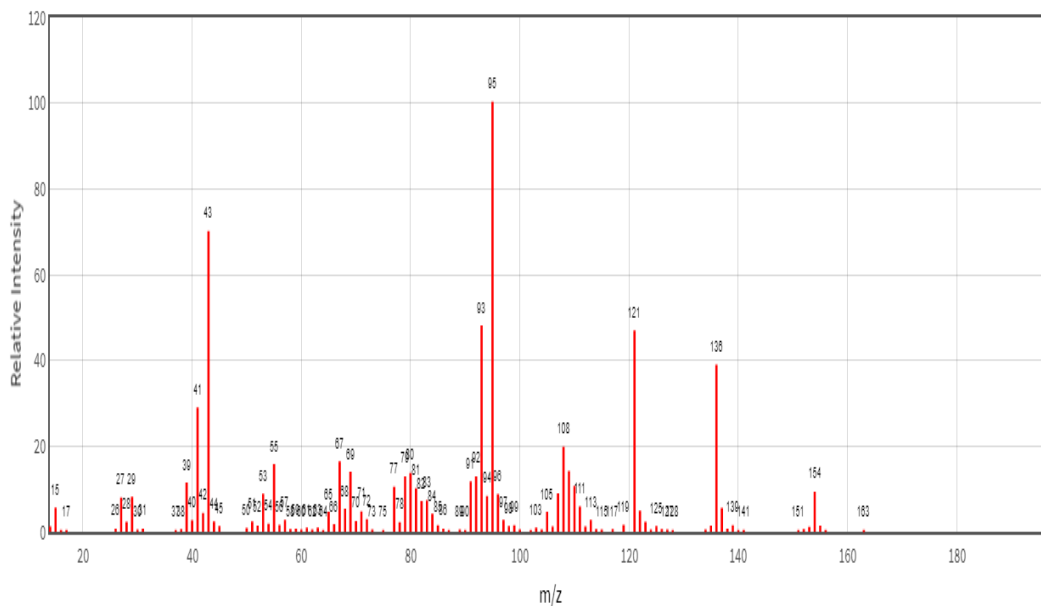


Figura N° 10

Espectro de masa del acetato de bornilo

Tabla N° 3

Compuesto químico	m/z
1	29,0
2	44,0
3	53,0
4	55,0
5	69,0
6	70,0
7	92,0
8	139,0

m/z del acetato de bornilo observando los picos encontrados en la Fr<sub>20-10</sub> –  
National Metrology of Japan (NMIJ)

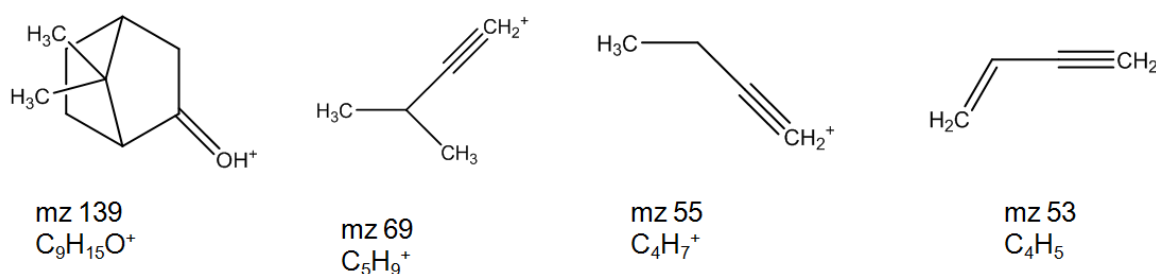


Figura N° 11

Compuestos químicos pertenecientes a fragmentos del acetato de bornilo según base de datos HMDB

El acetato de bornilo fue identificado también en el aceite esencial de hojas de *Eugenia octopleura* Krug & Urb. (Tenorio *et al.*, 2011).

## CONCLUSIÓN

Se aplicaron métodos de extracción de material vegetal poco convencionales para fracciones no polares diferenciándose del método clásico de destilación. Los métodos cromatográficos y espectrocópicos empleados pudieron identificar los compuestos químicos germacrone, acetato de bornilo, ácido ursólico y pulegona. Los resultados presentaron que al ácido ursólico y al acetato de bornilo se los reconocen como nuevos constituyentes químicos para *Eugenia uniflora* mientras que se encuentran presentes en otras especies del mismo género, lo que denota su hallazgo al no ser ambos compuestos mayoritarios en otras especies del género *Eugenia*.

Debido a que el ácido ursólico es un

compuesto vegetal con una amplísima gama de propiedades farmacéuticas, entre ellas se ha demostrado que tiene la capacidad de inhibir al Rotavirus - una de las principales causas de gastroenteritis aguda grave en niños menores de cinco años - y además el acetato de bornilo posee propiedades antibacterianas, expectorantes, etc., los resultados obtenidos en este estudio preliminar son prometedores para continuar profundizando el análisis fitoquímico de la especie.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Aníbal G. Amat († 11/02/2013) por su generosa contribución en facilitarnos el material vegetal sobre el cual se pudo realizar el presente trabajo. ANPCyT N°BID 1728/OC-AR 11985. Universidad Nacional de La Plata por los subsidios recibidos.

## REFERENCIAS

- Bagetti M, Facco EM, Piccolo J, Hirsch GE, Rodriguez-Amaya D, Kobori CN, Vizzotto M, Emanuelli T. 2011. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). **Ciênc Tecnol Aliment** 31: 147 - 154. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000100021>
- Base de datos del National Metrology Institute of Japan (NMIJ): (2018) <https://unit.aist.go.jp/nmij/english/service/database>
- Bravi VS. 2018. **Aislamiento y determinación de la estructura química de principios activos presentes en *Eugenia uniflora* L., obtenidos de compuestos solubles en éter de petróleo.** Tesis, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. <https://doi.org/10.35537/10915/71832>
- Celli GB, Pereira-Netto AB, Beta T. 2011. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. **Food Res Int** 44: 2442 - 2451. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.036>
- Castelo S, Bravi V, Bruno-Blanch L. 2020. Evaluación antimicrobiana de fracciones del extracto hexánico de hojas de *Eugenia uniflora* L. **Revista BIFASE/Bibliografía Farmacéutica Seleccionada** 33: 26 - 31.
- Catálogo de las Plantas Vasculares - Flora del Cono Sur. 2018. <http://www.darwin.edu.ar>
- Costa AGV, Garcia-Diaz DF, Jimenez P, Silva PI. 2013. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **J Funct Foods** 5: 539 - 549. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2013.01.029>
- de Almeida R, Agra MF, Maior FNS, de Sousa DP. 2011. Essential oils and their constituents: anticonvulsant activity. **Molecules** 16: 2726 - 2742. <https://doi.org/10.3390/molecules16032726>
- de Moraes S, Craveiro A, Machado M, Alencar JW. 1996. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from Northeastern Brazil. **J Essent Oil Res** 8: 449 - 451. <https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700664>
- del Valle ME. 2012. **Aislamiento y determinación de estructura química de principios activos presentes en *Eugenia uniflora*, centrado en los compuestos solubles en metanol.** Tesis, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. <https://doi.org/10.35537/10915/20800>
- Domínguez XA. 1973. **Métodos de investigación fitoquímica.** Editorial Limusa, México.
- El-Shabrawy A. 1995. Essential oil composition and tannin contents of the leaves of *Eugenia uniflora* L. grown in Egypt. **Bull Fac Pharm Cairo Univ** 33: 17 - 21.
- Frighetto N, Welendorf RM, Silva AMP, Nakamura MJ, Siani AC. 2005. Aplicação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. **Braz J Pharmacogn** 15: 338 - 343. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000400015>
- Henriques AT, Sobral ME, Cauduro AD, Schapoval EES, Bassani VL, Lamaty G, Menut C, Bessièrre JM. 1993. Aromatic plants from Brazil II. The chemical composition of some *Eugenia* essential oils. **J Essent Oil Res** 5: 501 - 505. <https://doi.org/10.1080/10412905.1993.9698270>
- Human Metabolome Database (HMDB). 2012. <http://www.hmdb.ca>
- Kanazawa A, Patin A, Greene AE. 2000. Efficient highly enantioselective synthesis of Selina-1,3,7(11)-trien-8-one, a major component of the essential oil of *Eugenia uniflora*. **J Nat Prod** 63: 1292 - 1294. <https://doi.org/10.1021/np000065f>
- Lee MH, Chiou JF, Yen KY, Yang LL. 2000. EBV DNA polymerase inhibition of tannins from *Eugenia uniflora*. **Cancer Lett** 154: 131 - 136. [https://doi.org/10.1016/s0304-3835\(00\)00353-0](https://doi.org/10.1016/s0304-3835(00)00353-0)
- Maia JGS, Andrade EHA, da Silva MHL, Zoghbi MGB. 1999. A new chemotype of *Eugenia uniflora* L. from North Brazil. **J Essent Oil Res** 11: 727 - 729. <https://doi.org/10.1080/10412905.1999.9712006>
- Melo RM, Corrêa VFS, Amorim ACL, Miranda ALP, Rezende CM. 2007. Identification of impact aroma compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) leaf essential oil. **J Braz Chem Soc** 18: 179 - 183. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000100020>
- Missouri Botanical Garden. 2018. <http://www.tropicos.org/>
- National Metrology Institute of Japan (NMIJ). 2018. <https://unit.aist.go.jp/nmij/english/info>
- Munier R. 1953. Separation of alkaloids from their N-oxides by paper chromatography. **Bull Soc Chim Biol** 35: 1225 - 1291.
- Peixoto CA, Oliveira AL, Cabral FA. 2009. Composition of supercritical carbon dioxide extracts of Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves. **J Food Proc Eng** 33: 848 - 860. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00311.x>
- Rodrigues KAF, Amorim LV, Oliveira JMG, Dias CN, Moraes DFC, Andrade DHA, Maia JGS, Carneiro SMP,

- Carvalho FAA. 2013. *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-leishmania agent: effects on *Leishmania amazonensis* and possible mechanisms of action. **Evid Based Complement Alt Med** 2013: Article ID 279726, 10 pages <https://doi.org/10.1155/2013/279726>
- Tenorio AI, Vargas D, Espinosa A, Diaz A, Gupta MP. 2011. Chemical composition of leaf essential oils of *Calyptanthes microphylla* B. Holts & M. L., *Myrcia* aff *fosteri* Croat and *Eugenia octopleura* Kruz & Urb from Panamá. **J Essent Oil Res** 23: 29 - 33. <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700478>
- Spectral Database for Organic Compounds. 2018. [http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct\\_frame\\_top.cgi](http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_top.cgi)