

Triterpenos citotóxicos de la corteza de *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels, colectada en Venezuela

Cytotoxic triterpenes from the bark of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels collected in Venezuela

ALÍRICA I. SUÁREZ^{A,*}, ÁMBAR GONZÁLEZ^B, KATIUSKA CHÁVEZ^A,
FELIPE SOJO^{C,D}, FRANCISCO ARVELO^{C,D}

Resumen

Los triterpenoides phyllantol (**1**) y 3- β -acetoxi-13(18) oleanano (**2**), fueron aislados del extracto hexánico de la corteza de *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels, por cromatografía de columna. Las estructuras de los compuestos aislados fueron determinadas por un completo análisis de datos espectrales en 1D y 2D de RMN, IR y espectrometría de masas. La citotoxicidad de esos triterpenos fue evaluada sobre 4 líneas de cáncer humano, PC-3, MCF-7, SKBr3 y PANC-1. Phyllantol (**1**) mostró ser moderadamente citotóxico y selectivo sobre las líneas MCF-7 y PC-3. Un IC₅₀ de 5,14 $\mu\text{g/mL}$, indicó que este compuesto puede ser considerado un buen candidato para futuras evaluaciones. Los resultados aquí mostrados forman parte del primer estudio fitoquímico de esta planta medicinal de comprobados efectos terapéuticos colectada en Venezuela.

Palabras Clave: *Phyllanthus acidus*, triterpenos, bioactividad, citotoxicidad, planta medicinal, Euphorbiaceae.

Abstract

The triterpenoids phyllantol (**1**), and the 3- β -acetoxi-13(18) oleanane (**2**), were isolated from the hexane extract of stem barks of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels by column chromatography. The structures of isolated compounds were determined by extensive spectral data of 1D and 2D NMR, IR, and mass spectrometry. The cytotoxicity of these triterpenoids was evaluated on PC-3, MCF-7, SKBr3, and PANC-1 human cancer cells. Phyllantol (**1**) showed be moderately cytotoxic but selective on the MCF-7, and on PC-3 cancer cells, an IC₅₀ of 5.14 $\mu\text{g/mL}$ indicated that this compound, will be considered a good candidate to further evaluations. The results shown here represent preliminary results of the first phytochemical study of this medicinal plant of proven therapeutic effects, collected in Venezuela.

Key words: *Phyllanthus acidus*, triterpenes, bioactivity, cytotoxicity, medicinal plant, Euphorbiaceae.

Introducción

Las plantas medicinales de reconocido valor farmacológico, se han convertido en cosmopolitas, es decir, han sido diseminadas a nivel mundial, para el

aprovechamiento de sus propiedades benéficas. Se conoce bien que muchas especies de plantas con propiedades medicinales han sido introducidas en el continente americano, desde lugares muy lejanos alrededor del mundo,

^A Unidad de Productos Naturales, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.

^B Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.

^C Centro de Biociencias, Instituto de Estudios Avanzados (IDEA), Valle de Sartenejas, Venezuela.

^D Instituto de Biología Experimental (IBE), Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.

* Correspondencia: alirica1@yahoo.es.

pero su reputación relacionada con algunas propiedades medicinales no es corroborada. Sin embargo, esas plantas son utilizadas por los habitantes de nuestros países para tratar algunas enfermedades y problemas de salud. Algunos ejemplos podrían ser citados, y una de estas especies es *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels, una planta muy utilizada con actividades biológicas reconocidas (Devi y Paul, 2011) entre otras, antiinflamatoria y antinociceptiva (Chakraborty y col., 2012), anticolinesterasa (Moniruzzaman y col., 2015), antituberculosa (Santhosh-Kumar y col., 2011), citotóxica (Habib y col., 2011), antibacteriana (Jagessar y col., 2008; Rhaman y col., 2011), hepatoprotectora (Lee y col., 2006; Srirama y col., 2012), hipoglicemiante (Talubmook y Buddhakala, 2013), hipotensiva (Leeya y col., 2010). El género *Phyllanthus*, incluido hasta hace pocos años en la familia Euphorbiaceae (Hoffman y col., 2006), y más recientemente en las Phyllanthaceae (Steinman, 2007), se distribuye en los países tropicales y subtropicales. Este amplio género, con más de 900 especies, incluye un número significativo de plantas con beneficios medicinales (Nisar y col., 2018) entre ellas, *Phyllanthus amarus* (Patel y col., 2011) y *Phyllanthus niruri* (Bagalkotkar y col., 2006), dos de las especies más estudiadas del género. Una gran variedad de metabolitos secundarios han sido aislados de *Phyllanthus* incluyendo alcaloides (Mensah, 1988), flavonoides (Zhang y col., 2002), lactonas, cumarinas (Hnatyszyn y Ferraro, 1985), compuestos fenólicos (Zhao y col., 2014) y derivados bencénicos simples, esteroides, terpenoides (Fan y col., 2017), lignanos (Maciel y col., 2007), taninos (Yoshida y col., 1992), entre otros, considerándose a los lignanos, triterpenos y alcaloides los más abundantes (Calixto y col., 1998).

De la especie en estudio se ha reportado, en otras latitudes, la presencia de ácidos aromáticos y flavonoides en sus frutos (Devi y Paul, 2011), triterpenos (Sengupta y Mukhopadhyay, 1996) y lignanos (Vongnavich y col., 2000) en sus hojas y, más recientemente, de sus raíces una serie diterpenos de tipo cleintastanos (Zheng y col., 2018, Duong y col., 2017) y una serie de flavonoides que contienen ácidos sulfónicos (Duong y col., 2018).

Phyllanthus acidus es una especie de controversial origen, algunos autores consideran que es originaria de Madagascar y otros ubican a Brasil como su lugar de origen (Devi y Paul, 2011). En Indonesia, la India y Tailandia se conoce como *star gooseberry* y sus hojas son consumidas como vegetales. Es una planta de amplio uso en la medicina tradicional de estos países, donde sus diferentes órganos son considerados con propiedades analgésicas, antipiréticas, antirreumáticas, antivirales y con la capacidad de curar la ictericia, viruela e infecciones de las encías (Devi y Paul, 2011). Sus frutos, bastante ácidos, tienen un alto contenido de vitamina C y se suelen utilizar para preparar dulces y mermeladas. En Venezuela se encuentra distribuida en las zonas cálidas, donde se le conoce como "cerezo agrio". De fuentes orales se conoce que su corteza es utilizada para tratar infecciones y como tratamiento para la diabetes, sin embargo, no se logró obtener documentación escrita de estos usos. Considerando los interesantes antecedentes terapéuticos de esta planta, y, conociendo que dependiendo del origen de la misma pueden variar sus metabolitos secundarios, se propuso el primer estudio etnofarmacológico de la especie colectada en Venezuela.

En esta comunicación se reportan los resultados preliminares concernientes

al aislamiento y la evaluación de la citotoxicidad de los triterpenos mayoritarios presentes en la corteza de la planta, phyllantol (**1**) un inusual triterpeno con un característico anillo ciclopropano y también el 3- β -acetoxi-13(18) oleanano (**2**), por primera vez reportado en esta especie.

Compuestos de tipo triterpeno han demostrado ejercer una amplia gama de actividades biológicas; esto nos impulsó a evaluar los compuestos aislados (**1** y **2**) en citotoxicidad sobre varias líneas de células tumorales humanas, PC-3 (carcinoma de próstata), MCF-7 (carcinoma mamario sin sobre-expresión del gen HER2/c-erb-2), SKBr3 (carcinoma de mama, en el cual el gen HER2/c-erb-2 es sobre-expresado), PANC-1 (carcinoma de páncreas) y fibroblastos (dermis) como células control, utilizando el método del MTT; adicionalmente, la revisión de las referencias bibliográficas reportan actividad citotóxica de extractos de *P. acidus* (Rahman y col., 2011; Habib y col., 2011; Biswas y col., 2011, Gopika y col., 2015), pero ninguno de sus metabolitos secundarios aislados y caracterizados, han sido particularmente ensayados en líneas celulares de cáncer.

Materiales y métodos

MATERIAL VEGETAL

Phyllanthus acidus (L.) Skeels fue colectada en enero de 2016, en el sector El Moralito, municipio Francisco Javier Pulgar, Estado Zulia, Venezuela. La especie fue identificada por el Dr. Stephen Tillett. Una muestra de la colección se guardó bajo el número MYF-29366 en el Herbario Víctor Manuel Ovalles de la Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.

EXTRACCIÓN Y AISLAMIENTO

La corteza fragmentada (325 g) fue sometida a un procedimiento de extracción continua por maceración empleando MeOH como disolvente. El extracto metanólico así obtenido se filtró y posteriormente se concentró en un rotaevaporador hasta sequedad, obteniéndose un extracto crudo de 27,3 g. Este extracto se disolvió en una mezcla metanol/agua 1:1 a la cual se realizaron particiones con disolventes orgánicos de incrementada polaridad: *n*-hexano, diclorometano, acetato de etilo. Cada fracción orgánica obtenida luego de evaporar el disolvente, se sometió a cromatografía de capa fina (CCF) para conocer su composición y obtener las mejores condiciones que pudieran permitir la separación por cromatografía de columna. Se unieron las fracciones de hexano y de diclorometano por poseer un mismo comportamiento en capa fina. Esta fracción resultante se sometió a cromatografía en columna de fase normal sobre sílice gel, utilizando como eluyentes disolventes puros o mezclas de ellos. Las subfracciones eluidas se monitorearon por CCF y fueron unidas de acuerdo a criterios de R_f y de coloración con el reactivo de revelado *p*-anisaldehído. Los compuestos aislados fueron caracterizados por métodos espectroscópicos de IR y RMN de ^1H y ^{13}C , DEPT, HSQC y HMBC, espectrometría de masas y comparación con datos de la literatura (**Figura 1**).

PROCEDIMIENTOS GENERALES

Los espectros de IR fueron tomados en un espectrofotómetro Varian (FT-IR), Modelo 640. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jhons y son reportados sin corrección. Los espectros de RMN fueron tomados en un RMN Varian 400 MHz en CDCl_3 .

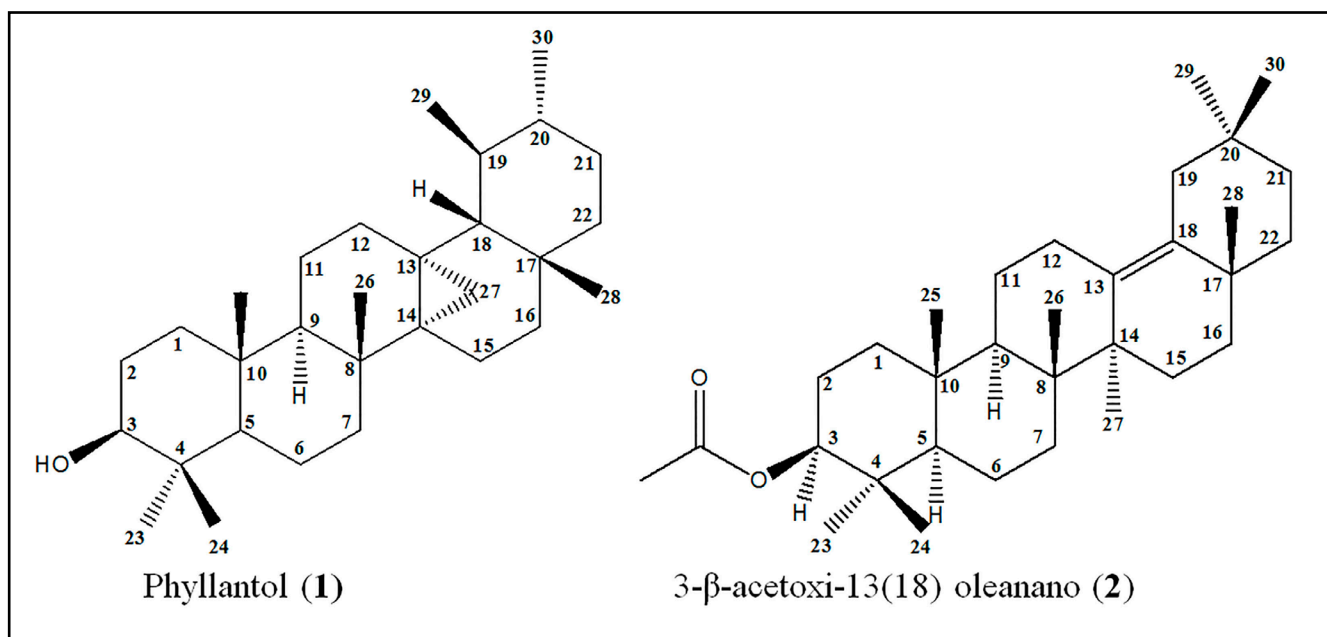


Figura 1. Estructuras de los triterpenos aislados de la corteza de *Phyllanthus acidus*

Los análisis de CCF fueron realizados en placas de aluminio preparadas con sílice gel G₂₅₄ (Merck) y los compuestos fueron visualizados por irradiación UV (254 nm) y reacción con *p*-anisaldehído/H₂SO₄/HOAc. Para cromatografía de columna se utilizó sílice gel 60 (Merck 100-200 mesh).

Phyllantol (13, 27-cicloursan-3β-ol) (1)

Sólido blanco, Pf: 226-228°C, IR: λ_{max} (NaCl) cm⁻¹: 3306 (O-H), 2943 (CH), 1031(ciclopropil); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 3.18 (m, 1H, H-3); 1.85 (m, 1H, H-12a), 1.82 (m, 1H, H-15a); 1.77 (m, 1H, H-12b); 1.72 (m, 1H, H-7a); 1.58 (m, 2H, H-2); 1.56 (m, 1H, H-1b); 1.54 (m, 1H, H-6a); 1.42 (m, 1H, H-15b); 1.37 (m, 1H, H-6b); 1.34 (m, 1H, H-22a); 1.32 (m, 1H, H-16a); 1.30 (m, 1H, H-21a); 1.27 (m, 2H, H-11); 1.24 (m, 1H, H-22b); 1.21 (m, 1H, H-7b); 1.10 (s, 3H, H-26); 0.99 (m, 1H, H-18); 0.98 (m, 1H, H-21b); 0.96 (m, 1H, H-20); 0.94 (s, 3H, H-23); 0.92 (d, *J* = 5.6 Hz, 3H, H-29); 0.90 (s, 3H, H-28); 0.89 (m, 1H, H-1a); 0.87 (d, *J* = 5.6 Hz, 3H, H-30); 0.85 (s, 3H, H-25); 0.83 (m, 1H, H-19); 0.79 (m, 1H, H-9); 0.77 (s, 3H,

H-24); 0.74 (m, 1H, H-16b); 0.70 (m, 1H, H-5); 0.66 (d, 2H, *J* = 5.6Hz, H-27); 4,67 (s, 1H, H-29); 1,66 (s, 1H, H-30). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 38.5 (C-1); 27.9 (C-2); 79.1 (C-3); 38.9 (C-4); 55.8 (C-5); 18.2 (C-6); 38.5 (C-7); 37.0 (C-8); 54.1 (C-9); 37.3 (C-10); 17.7(C-11); 35.3 (C-12); 27.3 (C-13); 32.3 (C-14); 21.4(C-15); 27.9 (C-16); 32.1 (C-17); 50.2 (C-18); 40.8 (C-19); 38.9 (C-20); 31.3 (C-21); 42.1 (C-22); 28.2 (C-23); 15.5 (C-24); 16.2 (C-25); 28.2 (C-26); 13.4 (C-27); 28.2 (C-28); 17.4 (C-29); 20.7 (C-30). M⁺ = 426 m/z.

3-β-acetoxi-13(18) oleanano (2)

Sólido blanco, Pf: 253-255°C; IR: λ_{max} (NaCl) cm⁻¹: 2943 (CH), 1730 (C=O), 1243 (C-O); RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 4.46 (t, *J* = 4.3Hz, 1H, H-3); 2.64 (s, 3H, CH₃CO), 1.93 (m, 2H, H-19); 1.89 (m, 2H, H-15); 1.85 (m, 2H, H-22); 1.74 (m, 1H, H-12a); 1.72 (m, 2H, H-16); 1.67 (m, 1H, H-1b); 1.63 (m, 2H, H-2); 1.55 (m, 1H, H-6a); 1.57 (m, 1H, H-7a), 1.55 (m, 1H, H-12b); 1.51 (m, 1H, H-11b); 1.42 (m, 1H, H-6b); 1.33 (m, 1H, H-9); 1.27 (m, 1H, H-11a); 1.25 (m, 1H, H-7b); 1.17 (s,

3H, H-27); 1.05 (m, 1H, H-1a); 1.07 (s, 3H, H-28); 0.92 (s, 3H, H-26), 0.90 (s, 3H, H-24); 0.86 (s, 3H, H-29); 0.83 (m, 1H, H-5); 0.79 (3H, s, H-30); 0.75 (s, 3H, H-23); 0.72 (s, 3H, H-25). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm: 38.7 (C-1); 23.8 (C-2); 81.1 (C-3); 37.9 (C-4); 55.5 (C-5); 18.4 (C-6); 34.8(C-7); 44.1 (C-8); 50.7 (C-9); 37.3 (C-10); 21.8(C-11); 26.6 (C-12); 134.2(C-13); 44.7 (C-14); 25.0 (C-15); 36.7 (C-16); 34.6 (C-17); 133.3 (C-18); 39.4 (C-19); 33.3 (C-20); 35.5' (C-21); 38.6 (C-22); 28.1 (C-23); 17.7 (C-24); 16.4 (C-25); 16.6 (C-26); 21.3 (C-27); 24.1 (C-28); 22.8 (C-29); 30.9 (C-30); 170.0 (CO), 21.7 (CH_3CO).

ENSAYO DE CITOTOXICIDAD

CÉLULAS HUMANAS

Las líneas celulares MCF-7 (carcinoma de mama sin sobre-expresión del gen HER2/c-erb-2), SKBR3 (carcinoma de mama en el cual el gen HER2/c-erb-2 está sobre-expresado), PC3 (próstata), HeLa (cáncer cervical) y PANC-1 (páncreas) fueron utilizadas para estos ensayos. Las líneas celulares de cáncer de mama se hicieron crecer y fueron cultivadas en medio Dulbecco modificado (DMEM; Gibco) suplementado con suero fetal bovino inactivado (FBS; Gibco) 10% (v/v), 2 mM glutamax (Gibco), 100 unids/ml penicilina y 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ estreptomina. Las líneas de carcinoma de próstata (PC3), carcinoma cervical (HeLa) y carcinoma epitelial de páncreas (PANC-1), se hicieron crecer y fueron cultivadas en medio RPMI 1640 suplementado con 10% (v/v) de suero fetal bovino inactivado (FBS; Gibco), 2 mM glutamax (Gibco), 100 unids/ml penicilina y 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ estreptomina. Los cultivos primarios de fibroblastos dérmicos humanos, fueron usados como células control, se obtuvieron de cultivos primarios y se hicieron crecer y fueron cultivados en medio DMEM suplementado

con suero fetal bovino 10% (v/v) (FBS; Gibco), 2 mM glutamax (Gibco), 100 unidades/ml penicilina y 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ estreptomina. Las células fueron incubadas con humedad controlada con 5% CO_2 , a 37°C hasta alcanzar la fase exponencial de crecimiento.

CITOTOXICIDAD IN VITRO

La viabilidad celular fue evaluada usando el ensayo del MTT el cual consiste en la formación de púrpura de formazán a partir de una sal de tetrazolio, el MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio), en donde esta sal es reducida por la acción de la enzima succinato deshidrogenasa mitocondrial (Mosmann, 1983). Esta reacción se realiza cuando la reductasa mitocondrial está activa. Las células se hicieron crecer en placas de 96 pozos e incubadas a 37°C por 72 horas en presencia de los compuestos a evaluar individualmente a concentraciones crecientes de 0; 0,001; 0,01; 0,1; 1; 5; 10; 15; 25; 50; 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivamente; con una atmósfera de 5% de CO_2 y 95% de humedad. Los compuestos fueron diluidos en DMSO. La concentración final del DMSO en el medio de cultivo fue siempre menor al 1%, concentración que no causa efecto citotóxico ni interfiere con la detección del método colorimétrico. Luego de la incubación, el medio fue removido y las células fueron tratadas con 100 μL de MTT e incubadas por 3 horas a 37°C a 5% de CO_2 . Seguidamente, se descarta el MTT y se añade 100 μL de DMSO. El producto de formazan solubilizado es cuantificado con ayuda de un lector de ELISA, TECAN-SunriseTM a 570 nm. El taxol es usado como control positivo para estos ensayos. Los valores de IC_{50} fueron calculados por una regresión lineal de cada experimento individual a través del programa computacional *GraphPad Prisma* v.5.02.

ÍNDICE DE SELECTIVIDAD

El índice de selectividad (SI) fue calculado como el promedio IC_{50} (células control)/ IC_{50} (células tumorales). Un índice de selectividad > 1 indica que la citotoxicidad sobre las células tumorales es superior a las células control.

Resultados y discusión

La caracterización e identificación de los compuestos aislados de los extractos provenientes de la corteza de *P. acidus* fue realizada por medio de diferentes técnicas espectroscópicas: Resonancia Magnética Nuclear de protones y carbono-13 (RMN 1H y RMN ^{13}C), DEPT, HSQC, HMBC e IR.

El compuesto **1** fue aislado como un sólido blanco, de las fracciones mayoritarias de la separación cromatográfica del extracto de hexano, en una mezcla de elución *n*-hexano/ CH_2Cl_2 en una proporción 7/3. Igualmente se obtuvo en forma impura pero en gran cantidad, cuando el balón donde se guardaba el extracto de hexano se lavó con metanol; allí se observó una gran cantidad de un precipitado, que al ser purificado por cristalización (*n*-hexano/MeOH), mostró ser el mismo compuesto. El espectro de IR de este compuesto, mostró una banda ancha en 3306 cm^{-1} , lo cual señaló la presencia de un alcohol en la estructura, adicional a ésta, las bandas a 3045 cm^{-1} , 1031 cm^{-1} sugieren un grupo ciclopropil en la estructura. El espectro de RMN de 1H mostró solo señales de tipo alifáticas, distinguiéndose un multiplete en 3,18 ppm, el cual sugería un oxi-metino. Se observaron cinco señales de metilos singletes a δ 0,77; 0,85; 0,90; 0,94; 1,10 ppm e igualmente dos señales de metilos dobletes a δ 0,87 y 0,92 ppm, esta serie de metilos sugirió que la estructura analizada correspondía a un

triterpeno de tipo ursano; otra serie de señales con diferentes multiplicidades entre 0,74 y 1,54 ppm pertenecen a los diferentes grupos metilenos presentes en una estructura triterpenoide, y una señal muy característica de grupo ciclopropil se encontró como un doblete a 0,66 ppm. La asignación de cada protón y cada carbono en la estructura se logró con los análisis de HSQC y HMBC. El análisis de ^{13}C conjuntamente con el DEPT, nos ratificó la estructura de un triterpeno de tipo ursano con un anillo ciclopropano entre los carbonos 13 y 14, y un grupo hidroxilo en la posición 3 de la estructura. Este tipo de triterpenos no son comunes; la búsqueda en la literatura nos condujo al compuesto conocido como phyllantol (13, 27-cicloursan-3 β -ol), previamente reportado en varias especies de *Phyllanthus* (Calixto y col., 1998), siendo inclusive considerado como un posible marcador quimio-taxónomico para el género. La mayoría de las referencias del aislamiento y caracterización de este compuesto, son un poco antiguas (Hnatyszyn y Ferraro, 1985; Sengupta y Mukhopadhyay, 1996) y los datos de RMN son escasos; en esta comunicación se expone con detalles su caracterización en base a experimentos 2D (**Figura 2**).

El compuesto **2**, fue aislado como un sólido blanco de las subfracciones cromatográficas de la fracción de *n*-hexano eluidas con una mezcla hexano/AcOEt 95:5. El espectro de IR de este compuesto mostró, como las bandas más características, la correspondiente a un grupo (C=O) de éster a 1730 cm^{-1} y la correspondiente a estiramientos CH a 2943 cm^{-1} . El espectro de RMN de 1H , mostró la presencia de 9 metilos singletes incluyendo uno perteneciente a un grupo acetilo (2,64 ppm), el resto de ellos a δ 1,17; 1,07; 0,92; 0,90; 0,86; 0,79; 0,75 ppm. Una señal triplete en 4,46 ppm, es

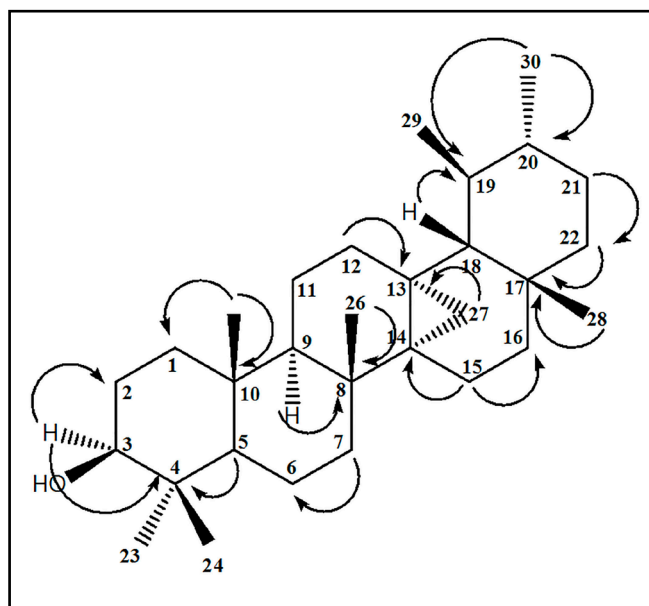


Figura 2. Principales correlaciones observadas en el HMBC para phyllantol (1)

característica de metinos que contienen grupos acilos. El espectro de RMN ^{13}C , el cual se analizó en conjunto a un DEPT 135, dio cuenta de la identidad de cada carbono de la estructura analizada, mostrando particularmente la señal del carboxilo del éster a 170,9 ppm y dos señales cuaternarias de carbonos olefínicos a 134,2 y 133,3 ppm. Igualmente fue evidente el metino oxigenado en 81,1 ppm. El resto de las señales correspondían a carbonos metílicos, entre las cuales se distinguió el metilo del grupo acetilo en 21,7 ppm, así como los metilenos, metinos y carbonos cuaternarios de una estructura triterpénica de tipo oleanano

(Konoshima y Lee, 1986), los cuales fueron correlacionados con sus protones utilizando los espectros HSQC y HMBC. Al igual que el phyllantol (1), los compuestos con una olefina entre las posiciones 13 y 18 son inusuales (Misra y col., 1984), generalmente se encuentran como dienos o con la olefina entre los carbonos 12 y 13. La revisión de la literatura permite sugerir que **2** es aislado por primera vez en *Phyllanthus acidus*.

En la evaluación de la viabilidad celular con los compuestos **1** y **2**, se encontró actividad citotóxica y selectividad contra las líneas celulares tumorales PC3, con respecto a las células control, pero no para otras líneas celulares tumorales. Curiosamente, los valores IC_{50} obtenidos con los fibroblastos normales de la dermis indican que las células tumorales son más sensibles a los compuestos aislados, ya que el IC_{50} (>100) obtenido con la célula control es mayor que el IC_{50} (5,14 y 37,72) para los compuestos **1** y **2**, respectivamente; mostrado para las células tumorales.

La comparación de la citotoxicidad y la citotoxicidad no específica de los compuestos ensayados se presenta en la **tabla I**. Según estos resultados, phyllantol (**1**) presentó una alta selectividad para las células de próstata PC3 (SI = 19,46). Además, esta alta selectividad va

Tabla I
Actividad citotóxica de triterpenos aislados de *Phyllanthus acidus*

Comp.	Línea de Célula Tumoral (ug/mL)					Células Normales (ug/mL)		
	MCF-7	SKBr3	PC3	PANC-1	Promedio (A)	Fibroblastos (B)	TS (B/A)	PSE (TS/A) *100
1	59,73	>100	5,14	>100	66,22	>100	1,51	2,28
2	SA	>100	37,72	>100	84,43	>100	1,18	1,40
Taxol	0,14	1,03	0,025	0,048	0,31	0,76	2,45	787,03

acompañada de un PSE de alta potencia (2,28) pero no mayor que el mostrado por el taxol (787,03). De acuerdo con el estudio *in silico*, es interesante notar que los valores de TPSA predicen una biodisponibilidad deficiente para la droga de referencia, taxol, y una buena biodisponibilidad para los triterpenos **1** y **2** caracterizados en este estudio (**Tabla II**).

Tabla II
Índice de selectividad (SI) de los compuestos ensayados

Comp.	Líneas de células tumorales			
	SI			
	MCF-7	SKBr3	PC3	PANC-1
1	1,67	1,00	19,46	1,00
2	1,00	1,00	2,65	1,00
Taxol	5,43	0,74	30,40	15,83

Referencias bibliográficas

- Bagalkotkar G, Sagineedu SR, Saad MS, Stanslas J. 2006. Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn. and their pharmacological properties: a review. *J Pharm Pharmacol* 58: 1559–1570.
- Biswas SK, Chowdhury A, Das J, Karmakar UK, Shill MC, Raihan SZ. 2011. Assessment of cytotoxicity, antibacterial activity and phytochemical screening of ethanol extract of *Phyllanthus acidus* L. (family: Euphorbiaceae) bark. *J App Pharm Sci* 01 (06): 112–114.
- Calixto JB, Adair RS, Santos RS, Filho VC, Yunus RA. A Review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. In: *Plants of the genus Phyllanthus*. John Wiley & Sons, Inc. 1998. pp 225–258.
- Chakraborty R, De Biplab, Devanna N, Sen S. 2012. Antiinflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of *Phyllanthus acidus* L. extracts. *Asian Pacific J Trop Biomed* S953–S961.
- Devi SS, Paul SB. 2011. An overview on *cicca acida (Phyllanthus acidus)*. Assam University J of Sci & Techn: *Biol Environ Sci* 7: 156–60.
- Duong TH, Bui XH, Pogam PL, Nguyen HH, Tran TT, Nguyen TAT, Chavasiri W, Boustie J, Nguyen KPP. 2017. Two novel diterpenes from the roots of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeel. *Tetrahedron* 73(38): 5634–5638.
- Duong TH, Beniddir MA, Nguyen VK, Aree T, Gallard JF, Mac DH, Nguyen HH, Bui XH, Boustie J, Nguyen KPH, Chavasiri W, Le Pogam P. 2018. Sulfonic acid-containing flavonoids from the roots of *Phyllanthus acidus*. *J Nat Prod* 81: 2026–2031.
- Fan YY, Gan LS, Liu HC, Li H, Xu CH, Zuo JP, Ding J, Yue JM. 2017. Phainanolide, a highly modified and oxygenated triterpenoid from *Phyllanthus hainanensis*. *Org Lett* 19: 4580–4583.
- Gopika G, Sujesh M, Babu TD. 2015. Evaluation of cytotoxic and anti-tumor activity of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels leaf extracts. *Int J N Res Life Sci* 2(2): 19–26.
- Habib MR, Sayeed MA, Rahman MM, Hasan MR, Saha A. 2011. In vitro evaluation of cytotoxic, antibacterial, antioxidant and phytochemical screening of petroleum ether extract of *Phyllanthus acidus*. *Int J Pharm Sci Res* 2: 875–881.
- Hnatyszyn O, Ferraro G. 1985. Phyllanthol from *Phyllanthus sellowianus* (Euphorbiaceae). *Planta Med* 51(5): 467.
- Hoffmann P, Kathriarachchi H, Wurdack KJA. 2006. Phylogenetic classification of Phyllanthaceae. *Kew Bulletin* 61(1): 37–53.
- Jagessar RC, Marsa A, Gomesb G. 2008. Selective Antimicrobial properties of *Phyllanthus acidus* leaf extract against *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using stokes disc diffusion, well diffusion, streak plate and a dilution method. *Nat Sci* 6: 24–38.
- Konoshima T, Lee KH. 1986. Antitumor agents, 82. Cytotoxic saponins from *Aesculus hippocastanum*. *J Nat Prod* 49(4): 650–656.
- Lee CY, Peng WH, Cheng HY, Lai MT, Chiu TH. 2006. Hepatoprotective effect of *Phyllanthus* in Taiwan on acute liver

- damage induced by carbon tetrachloride. *Am J Chin Med* 34: 471–482.
- Leeya Y, Mulvany MJ, Queiroz EF, Andrew Marston A, Hostettmann K, Jansakul C. 2010. Hypotensive activity of an n-butanol extract and their purified compounds from leaves of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels in rats. *Eur J Pharmacol* 649: 301–313.
- Maciel MAM, Cunha AF, Dantas TNC, Kaiser CR. 2007. NMR Characterization of bioactive lignans from *Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn. *Ann Magn Reson* 6 (3): 76–82.
- Mensah J. 1988. Alkaloids from the leaves of *Phyllanthus discoideus*. *J Nat Prod* 51(6): 1113–1115.
- Misra TN, Singh RS, Upadhyay J, Srivastava R. 1984. Chemical constituents of *Vernonia cinerea*, Part I. Isolation and spectral studies of triterpenes. *J Nat Prod* 47(2): 368–372.
- Moniruzzaman M, Asaduzzaman M, Hossain S, Sarker J, Rahman A, Rashid M, Rahman M. 2015. *In vitro* antioxidant and cholinesterase inhibitory activities of methanolic fruit extract of *Phyllanthus acidus*. *BMC Complement Altern Med* 15: 403.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Imm Meth* 55–63.
- Nisar MF, He J, Ahmed A, Yang Y, Li M, Wan C. 2018. Chemical components and biological activities of the genus *Phyllanthus*: a review of the recent literature. *Molecules* 23: 2567.
- Patel JR, Tripathi P, Sharma V, Chauhan NS, Dixit VK. 2011. *Phyllanthus amarus*: ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology: a review. *J Ethnopharmacol* 138: 286–313.
- Rahman M., Habib R., Hasan R, Aktar-Sayeed M, Rana S. 2011. Antibacterial, cytotoxic and antioxidant potential of methanolic extract of *Phyllanthus acidus* L. *Int J Drug Dev Res* 3(2): 154–161.
- Santosh-Kumar C, Bhattacharjee C, Debnath S, Chandu AN. 2011. In-vitro antimicrobial synergistic and anti-TB activities of *Phyllanthus acidus* methanolic extract. *Ind-Am J Pharm Res* 1(1): 18–25.
- Sengupta P, Mukhopadhyay J. 1966. Terpenoids and related compounds VII. Triterpenoids of *Phyllanthus acidus* Skeels. *J Nat Prod* 5: 531–534.
- Steinmann V. 2007. Phyllanthaceae. Flora del bajo y de regiones adyacentes. Fascículo 152: 1–2.
- Srirama R, Deepak HB, Senthilkumar U, Ravikanth G, Gurusurthy BR, Shivanna MB, Chandrasekaran CV, Agarwal A, Uma-Shaanker R. 2012. Hepatoprotective activity of Indian *Phyllanthus*. *Pharma Biol* 50(8): 948–953.
- Talubmook C, Buddhakala N. 2013. Hypoglycemic and hypolipidemic properties of leaf extracts from *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels, *Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit. and *Psidium guajava* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J BioSc* 2(2): 30–34.
- Vongvanich N, Kittakoop J, Kramyu M, Tanticharoen M, Thebtaranonth Y. 2000. Cytotoxic norbisabolane glycosides from *Phyllanthus acidus* Skeels. *J Org Chem* 65: 5420–5423.
- Yoshida T, Itoh H, Matsunaga S, Tanaka R, Okuda T. 1992. Hydrolyzable tannins with C4 glucose core from *Phyllanthus flexulosus*. *Chem Pharm Bull* 40: 53
- Zhang YJ, Abe T, Tanaka T, Yang CR, Kouno I. 2002. Two new acylated flavanone glycosides from the leaves and branches of *Phyllanthus emblica*. *Chem Pharm Bull* 50(6): 841–843.
- Zhao JQ, Wang YM, Lv JJ, Zhu HT, Wang D, Yang CR, Xu M, Zhang YJ. 2014. New phenolic glycosides from *Phyllanthus cochinchinensis*. *J Braz Chem Soc* 25(8): 1446–1454.
- Zheng XH, Yang J, Lv JJ, Zhu HT, Dong Wang D, Xu M, Yang CR, Zhang YJ. 2018. Phyllaciduloids A–D: four new cleistanthane diterpenoids from *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels. *Fitoterapia* 125: 89–93.

Recibido: 24-04-2019

Aceptado: 22-07-2019