UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÌMICA
LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES

ESTUDIO FITOQUIMICO DE *BURSERA INVERSA* (BURSERACEAE)

www.bdigital.ula.ve

Br. Oscar José Silva Heredia

Tutor: Dr. Carmelo Rosquete Porcar

Trabajo Especial de Grado para optar a la Licenciatura en Química.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

DEDICATORIA

A mis padres

Lorenza Heredia y Oscar Silva, que me han formado con valores y principios indispensables para la vida, sus consejos en los momentos que más lo necesito, sin su amor, apoyo y comprensión no lo habría logrado. Son mi fuerza para seguir adelante. Este logro es para ustedes porque pase lo que pase y en cualquier circunstancia estare orgulloso de ser su hijo. Les amo inmensamente. Honra a tu padre y a tu madre, que es el primer mandamiento con promesa. Efesios 6:2-3.

A mis hijos

Abimael Silva y Oscmarie Silva quienes son mi fuerza y la razón de seguir avanzando cada dia. Que este logro sea de ejemplo para jamas rendirse en sus metas. Mi campeón y mi lucero. Dios los bendiga.

A mis hermanas

www.bdigital.ula.ve

Ana Oskarina, Angge Karolina, Karla Andreina y Klaudia Fernanda que son mi razón de ser, mi alegría y por las que estoy dispuesto a dar la vida si es necesario. Gracias por siempre estar presente a pesar de la distancia. Se que cuento con ustedes y ustedes siempre contaran conmigo. El rey de los conejos.

A mis sobrinos

Andres, Lorena, Anthony, Marcos y Sebastian por ser la nueva generación que llena nuestros días de alegría. Dios los bendiga.

A mi familia

Mi papa Eulogio,mi mama del fundo,mi abuelo Florecio,mi abuela Margot,mis tias; Chalin, Mary, la mensa, lala, Flor, Marlín y toda mi familia Silva Heredia en general, este logro es para ustedes, por cada abrazo, por cada palabra de aliento, por cada lagrima y por cada despedida porque a pesar de la distancia siempre estuvieron presentes.

A mis abuelas y hermano

Jacinta, Fafina y Marcos, los cuales siempre recordare y tendre presente en cada logro de mi vida. Se que desde el cielo estarán cuidando mis pasos.A Dios, sea la gloria..!!!

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por estar presente cada día y por darme la oportunidad de poder cumplir esta meta, por cada una de las experiencias necesarias en mi vida personal y profesional.Gracias por los buenos y malos momentos. Joel 3:10

Agradezco a toda mi familia Silva Heredia por ser parte fundamental en este proyecto de vida, siempre presente en todo momento, su apoyo incondicional, su amor y su cariño me llenaron de mucha fortaleza.

Agradezco a mi compañera incondicional, mi amor sobre ruedas! Gracias por estar presente en los momentos más necesarios.

El presente trabajo, se ha realizado con el apoyo del Profesor Dr. Carmelo Rosquette Poscar a quien siempre le agradeceré su gran apoyo y formación profesional, más que el tutor de esta tesis un buen amigo de la vida. También, un agradecimiento a la Dra. Mayra Rengifo y al Dr. Fernando Duran quienes desde la Universidad de Buenos Aires, me apoyaron con la realización de los espectros de RMN-H1 y RMN-C13, HSQC, HMBC y COSY.El Dr.Carlos Ayala decano de la facultad de ciencias de la ULA quien realizó los espectros IR para la elucidación de las estructuras. Los Profesores Maria Angelica Sanchez y Jesus Contreras quienes fueron jurados de evaluación de este trabajo y desde el primer momento brindaron su apoyo incondicional pese a las circunstancias, a ustedes un agradecimiento especial.

A todos los profesores de la facultad de ciencias que contribuyeron con mi formación academica, con los cuales siempre tendre muy buenos recuerdos.Un agradecimiento especial a las técnicos de laboratorio Iris Santos y Carolina Zavala, amigas que me ayudaron enormemente durante la carrera.

Al personal no docente de la Facultad de ciencias los cuales siempre compartimos como una familia.Finalmente, un sincero agradecimiento en general a todos mis amigos de la Facultad de ciencias, de mi estado Apure, del movimiento estudiantil Colectivo 86 y todos aquellos que me han acompañado en este proceso y proyecto de vida. A todos los que menciono y aquellos que no están en estas líneas por ser muy cortas para nombrarlos pero siempre estuvieron presentes al menos en un instante. Dios les pague!

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

RESUMEN

En esta monografía se muestran los resultados obtenidos de la revisión fitoquímica del género *Bursera* y del estudio fitoquímico del extracto metanólico residual obtenido de las hojas de *Bursera inversa* Daly. De ese extracto se aislaron 13 compuestos uno de los cuales fue identificado como ergosta-5,22-dien-3β-ol (brassicasterol). La asignación de los desplazamientos químicos en RMN ^{13}C del brassicasterol fueron revisados y corregidos mediante el análisis detallado del experimento HMBC.

PALABRAS CLAVES:
Fitoquímica, *Bursera*, *Bursera inversa*,

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

ABSTRACT

This monograph shows the results obtained from the phytochemical review of the genus Bursera and the phytochemical study of the residual methanolic extract obtained from the leaves of *Bursera inversa* Daly. From this extract, 13 compounds were isolated, one of which was identified as ergosta-5, 22-dien-3β-ol (brassicasterol). The assignment of the ^{13}C NMR chemical shifts of brassicasterol were reviewed and corrected by detailed analysis of the HMBC experiment.

KEY WORDS:

Phytochemistry, *Bursera*, *Bursera inversa*.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

CONTENIDO

		Página
	Contenido	ii
	Índice de tablas	ix
	Índice de figuras	x
1.	Introducción	1
2.	Marco teórico	5
2.1.	Determinación cualitativa de metabolitos secundarios.	8
2.1.1.	Ensayo para flavonoides (Shinoda).	8
2.1.2.	Ensayo para compuestos fenólicos ($FECl_3$).	8
2.1.3.	Ensayo para taninos (gelatina-sal).	9
2.1.4.	Ensayo para alcaloides.	9
2.1.5.	Ensayo para cardenólidos.	9
2.1.6.	Ensayo para terpenos y/o esteroles (Liebermanm-Burchard).	9
2.1.7.	Ensayo para quinonas.	9
2.1.8.	Ensayo para leucoantocianidinas.	9
2.1.9.	Ensayo para saponinas.	10
2.1.10.	Ensayo para cumarinas.	10
2.2.	Fitoquímica reportada para especies de *Bursera*	11
2.2.1.	Aceites esenciales y componentes volátiles	11

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2.2.2.	Diterpennoides, triterpenoides y esteroides	16
2.2.3.	Flavonoides	20
2.2.4.	Lignanos	21
2.2.5.	Otros compuestos fenólicos	24
2.3.	Actividades biológicas reportadas para especies del género *Bursera*	28
2.4.	Métodos cromatográficos	34
2.4.1.	Cromatografía de capa fina (CCF o *TLC*).	34
2.4.2.	Cromatografía de capa fina PREPARATIVA (CCFP o *PTLC*).	35
2.4.3.	Cromatografía de exclusión molecular.	35
2.4.4.	Cromatografía líquida al vacío (CLV o *VLC*).	36
2.4.5.	Cromatografía de gases/masas (CG/EM o *GC/MS*).	36
2.5.	Determinación estructural. Métodos espectroscópicos.	37
2.5.1.	Espectroscopia ultravioleta-visible (UV).	37
2.5.2.	Espectroscopia infrarroja (IR).	38
2.5.3.	Espectrometría de masas (EM).	38
2.5.4.	Resonancia magnética nuclear (RMN).	39
2.5.4.1.	Espectros RMN unidimensionales (1D).	39
2.5.4.1.1.	RMN ^{1}H.	40
2.5.4.1.2.	RMN ^{13}C.	40

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2.5.4.2. Espectros RMN bidimensionales (2D). 41

2.5.4.2.1. COSY (COrrelated SpectroscopY). 42

2.5.4.2.2. TOCSY (TOtal Correlation SpectroscopY). 42

2.5.4.2.3. HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence). 42

2.5.4.2.4. HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation). 43

2.5.4.2.5. NOESY (Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY). 44

2.5.4.2.6. ROESY (Rotatory Overhauser Effect SpectroscopY). 44

3. Justificación 45

4. Hipótesis 45

5. Objetivos 45

5.1. Objetivo general. 45

5.2. Objetivos específicos. 45

6. Experimental 46

6.1. Recolección del material botánico. 46

6.2. Determinación botánica. 46

6.3. Tratamiento del material vegetal. 46

6.4. Separación de los productos. 47

6.4.1. Sistema cromatográfico 1. 47

6.4.1.1. Montaje del sistema cromatográfico 1. 47

6.4.1.2. Separación cromatográfica 1. 47

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6.4.2.	Sistema cromatográfico 2.	48
6.4.2.1.	Montaje del sistema cromatográfico 2.	48
6.4.2.2.	Separación cromatográfica 2.	48
6.4.3.	Sistema cromatográfico 3.	49
6.4.3.1.	Montaje del sistema cromatográfico 3.	49
6.4.3.2.	Separación cromatográfica 3.	49
6.4.4.	Sistema cromatográfico 4.	49
6.4.4.1.	Montaje del sistema cromatográfico 4.	49
6.4.4.2.	Separación cromatográfica 4.	49
6.4.5.	Sistema cromatográfico 5.	50
6.4.5.1.	Montaje del sistema cromatográfico 5.	50
6.4.5.2.	Separación cromatográfica 5.	50
6.4.6.	Sistema cromatográfico 6.	50
6.4.6.1.	Montaje del sistema cromatográfico 6.	50
6.4.6.2.	Separación cromatográfica 6.	50
6.4.7.	Sistema cromatográfico 7.	51
6.4.7.1.	Montaje del sistema cromatográfico 7.	51
6.4.7.2.	Separación cromatográfica 7.	51
6.4.8.	Sistema cromatográfico 8.	51
6.4.8.1.	Montaje del sistema cromatográfico 8.	51

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6.4.8.2. Separación cromatográfica 8. 51

6.4.9. Extracción con solventes del anillo inferior 52

6.4.10. Sistema cromatográfico 9. 52

6.4.10.1. Montaje del sistema cromatográfico 9. 52

6.4.10.2. Separación cromatográfica 9. 52

6.4.11. Extracción con solventes del anillo superior 52

6.4.12. Sistema cromatográfico 10. 53

6.4.12.1. Montaje del sistema cromatográfico 10. 53

6.4.12.2. Separación cromatográfica 10. 53

6.4.13. Sistema cromatográfico 11. 53

6.4.13.1. Montaje del sistema cromatográfico 11. 53

6.4.13.2. Separación cromatográfica 11. 53

6.4.14. Sistema cromatográfico 12. 54

6.4.14.1. Montaje del sistema cromatográfico 12. 54

6.4.14.2. Separación cromatográfica 12. 54

6.4.15. Sistema cromatográfico 13.

6.4.15.1. Montaje del sistema cromatográfico 13. 54

6.4.15.2. Separación cromatográfica 13. 55

7. Resultados y discusión. 58

7.1. Compuesto CROS-1. 58

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.2.	Compuesto CROS-2.	58
7.3.	Compuesto CROS-3.	58
7.4.	Compuesto CROS-4.	58
7.5.	Compuesto CROS-5.	58
7.6.	Compuesto CROS-6.	59
7.7.	Compuesto CROS-7.	59
7.8.	Compuesto CROS-8.	60
7.9.	Compuesto CROS-9.	60
7.10.	Compuesto CROS-10.	61
7.11.	Compuesto CROS-11.	61
7.12.	Compuesto CROS-12.	62
7.13.	Compuesto CROS-13.	62
7.13.1.	Espectroscopia infrarroja del compuesto CROS-13.	63
7.13.2.	Espectroscopia RMN ^{1}H del compuesto CROS-13.	63
7.13.3.	Espectroscopia RMN ^{13}C del compuesto CROS-13.	66
7.13.4.	Espectroscopia RMN 2D (HSQC) del compuesto CROS-13.	67
7.13.5.	Análisis espectroscópico preliminar del compuesto CROS-13.	70
7.13.6.	Espectroscopia RMN 2D (HMBC) del compuesto CROS-13.	71
7.13.6.1.	Doble enlace trisustituido en Δ^4.	72
7.13.6.2.	Doble enlace trisustituido en Δ^5.	72

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.13.6.3.	Doble enlace trisustituido en Δ^{7}.	73
7.13.6.4.	Doble enlace trisustituido en $\Delta^{9, 11}$.	74
7.13.6.5.	Doble enlace trisustituido en Δ^{14}.	75
7.13.6.6.	Doble enlace trisustituido en Δ^{16}.	76
7.13.7.	Resultado del análisis espectroscópico del compuesto CROS-13.	76
7.13.7.1.	Análisis completo del RMN ^{1}H Y ^{13}C realizado al compuesto CROS-13.	77
7.13.7.2.	Análisis completo del HMBC realizado al compuesto CROS-13.	79
7.13.7.3.	Análisis completo del COSY realizado al compuesto CROS-13.	80
7.13.8.	Determinación del punto de Fusión del compuesto brasicassterol.	82
8.	Distribución del brassicasterol en La Naturaleza.	82
9.	Actividades biológicas del brassicasterol.	82
10.	Conclusiones.	83
11.	Recomendaciones.	84
12.	Referencias bibliográficas	85
13.	Glosario	102
14.	Acrónimos y abreviaciones	104

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Distribución geográfica de las especies de *Bursera* reportadas en Venezuela.	3
Tabla 2.	Aplicaciones de las especies de *Bursera* en la Medicina Tradicional.	6
Tabla 3.	Determinación cualitativa de metabolitos secundarios de los extractos de las hojas y la corteza de *Bursera*	10
Tabla 4.	Resumen de los antecedentes fitoquímicos para el género *Bursera*.	25
Tabla 5.	Actividades biológicas reportadas de especies del género *Bursera*.	29
Tabla 6.	Resultados del sistema cromatográfico 1 (percolado).	47
Tabla 7.	Resultados del sistema cromatográfico 2 (columna plástica).	48
Tabla 8.	Resultados del sistema cromatográfico 3 (columna vidrio SC2-A).	49
Tabla 9.	Resultados del sistema cromatográfico 4 (columna vidrio SC2-C).	50
Tabla 10.	Resultados del sistema cromatográfico 11 (columna vidrio SC1-A).	53
Tabla 11.	Absorciones relevantes en el espectro IR de CROS-13.	63
Tabla 12.	Desplazamientos químicos de los hidrógenos y carbonos de CROS-13.	78
Tabla 13.	Interacciones HMBC (esperadas y observadas) de CROS-13.	79
Tabla 14.	Interacciones COSY (esperadas y observadas) de CROS-13.	81

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Mapa de distribución de Burseraceae.	1
Figura 2.	Mapa de distribución mundial de *Bursera*. (Burseraceae).	3
Figura 3.	Características vegetativas y reproductivas de *Bursera inversa* Daly.	4
Figura 4.	Monoterpenoides identificados en especies del género *Bursera*.	1
Figura 5.	Sesquiterpenoides identificados en especies del género *Bursera*.	15
Figura 6.	Diterpenoideis aislados en especies del genero *Bursera*.	17
Figura 7.	Triterpenoides y esteroides aislados de especies del género *Bursera*.	19
Figura 8.	Flavonoides aislados en especies de *Bursera*.	21
Figura 9.	Lignanos aislados en especies del género *Bursera*.	23
Figura 10.	Otros compuestos fenólicos aislados de especies del género *Bursera*.	24
Figura 11.	Esquema de separación de los compuestos.	57
Figura 12.	Espectro IR de CROS-5.	58
Figura 13.	Espectro IR de CROS-6.	59
Figura 14.	Espectro IR de CROS-7.	59
Figura 15.	Espectro IR de CROS-8.	60
Figura 16.	Espectro IR de CROS-9.	60
Figura 17.	Espectro IR de CROS-10.	61
Figura 18.	Espectro IR de CROS-11.	61

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Figura 19. Espectro IR de CROS-12. 62

Figura 20. Espectro IR de CROS-13. 63

Figura 21. Espectro de RMN H^1. 64

Figura 22. Desdoblamiento del protón vinílico y los protones olefínicos. 64

Figura 23. Protón geminal al grupo oxidrilo. 65

Figura 24. Desdoblamiento de los metilos en el compuesto CROS-13. 66

Figura 25. Espectro RMN C^{13} con la asignación de las bandas correspondientes. 66

Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C (ampliación) de CROS-13. 67

Figura 27. Espectro HSQC del compuesto. 68

Figura 28. Correlaciones HSQC de los protones olefínicos. 69

Figura 29. Correlación del protón geminal a la función oxigenada. 69

Figura 30. Correlación de los protones metílicos con los carbonos correspondientes. 70

Figura 31. Espectro HMBC del compuesto CROS-13. 71

Figura 32. Espectro HMBC (ampliación) del compuesto CROS-13 donde se muestran las interacciones de C5. 73

Figura 33. Correlación del carbono saturado con respecto al protón metilo singulete. 74

Figura 34. Correlaciones del protón vinílico del doble enlace trisustituido en el HMBC. 75

Figura 35. Representaciones estructurales del brassicasterol. 77

Figura 36. Modelo 3D parcial (anillos A y B) de brassicasterol donde se resalta 79

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

la geometría de Δ^6.

Figura 37. Espectro COSY del compuesto. 80

Figura 38. Diagrama molecular de las interacciones en el COSY de CROS-13. 80

Figura 39. Correlaciones del protón geminal al oxidrilo en el COSY. 81

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

1. INTRODUCCIÓN.

Las Burseraceas, podemos considerarlas como una familia de plantas moderadamente grandes, ya que está conformada por unos 20 géneros y más de 640 especies de árboles y/o arbustos de mediano tamaño. (Moreno *et al.*, 2010; De la Cerda-Lemus, 2011; The Plant List, 2013). Esta familia se distribuye ampliamente por todo el Mundo, en especial en las zonas subtropicales y tropicales (figura 1), presentándose en una variedad de hábitats que van desde las selvas bajas caducifolias, sabanas naturales, bosque de mangle costero, y bosque tropical pluvioso, con una mayor concentración en África, Malasia, Centro- y Sur-América (Case *et al.*, 2003; Clarkson *et al.*, 2002). Existe una mayor diversidad en América tropical, encontrándose desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Perú, agrupada en 8 géneros, 6 de los cuales, son endémicos del continente americano (De la Cerda-Lemus, 2011; Hernández-Pérez *et al.*, 2011; García-Martínez, 2012; Muñoz-Acevedo *et al.*, 2013).

www.bdigital.ula.ve

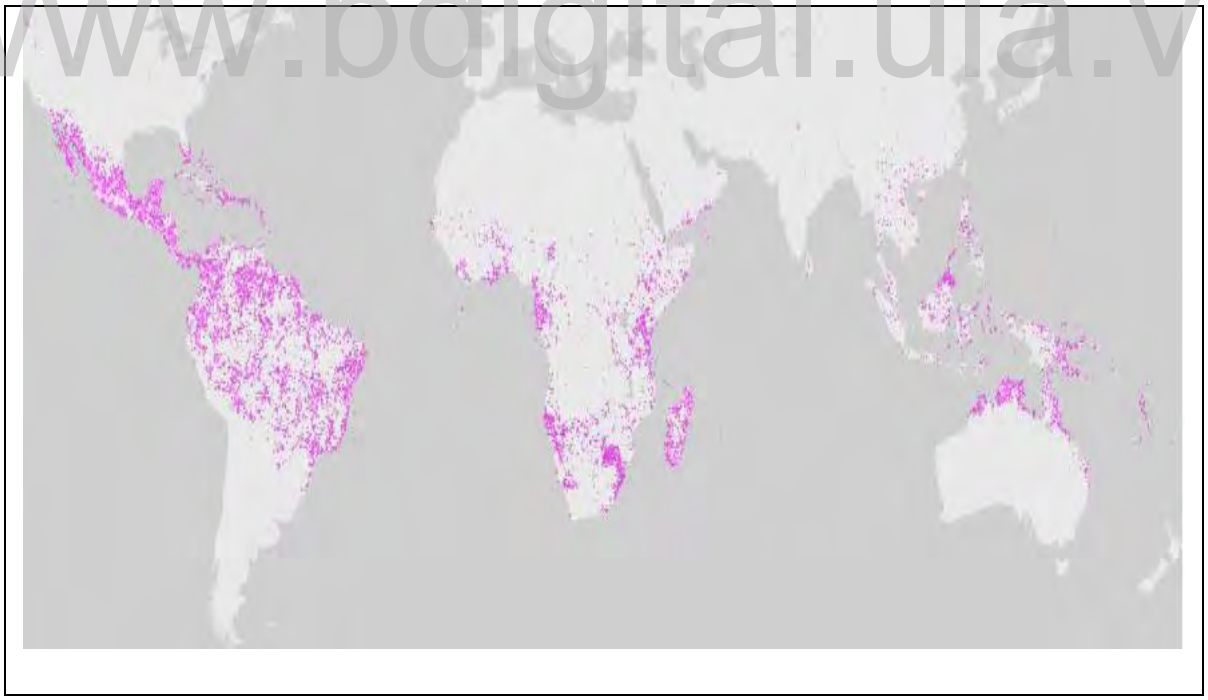


Figura 1. Mapa de distribución de Burseraceae. En color púrpura se muestra la distribución de la familia Burseraceae. (85,102 registros georreferenciados, Global Biodiversity Information Facility (GBIF), (2017).

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

La familia *Burseraceae* se caracteriza por exudar aceites esenciales y oleorresinas aromáticas que han sido usadas mayormente con fines litúrgicos, terapéuticos, cosméticos, entre otros (Case *et al.*, 2003). Estos aceites esenciales constituidos por terpenoides, lignanos y otros compuestos de bajo peso molecular, le confieren aromas característicos y propiedades medicinales a muchas especies de esta familia (Jaimes, 2009; Siani *et al.*, 2012).

Los extractos acuosos y etanólicos de las hojas y corteza han sido estudiados debido a que poseen actividad anticancerosa, antioxidante, antimicrobiana, antiséptica, antitumorales, antiinflamatoria, colesterolémica, insecticida, analgésicas, antialérgica y hepatoprotectora (Robles *et al.*, 2005; Abbas *et al.*, 2007; Fuentes, 2009; Jaimes, 2009; Kubitzki, 2011; Becerra *et al.*, 2012; Monzote *et al.*, 2012; Siani *et al.*, 2012; Muñoz-Acevedo *et al.*, 2013).

Registros etnobotánicos indican que los aceites esenciales de las especies de esta familia son utilizados para diversos propósitos, tales como la impermeabilización de barcos y casas, producción de barnices y pegamentos, para repeler insectos, como aromatizantes de casas y ceremonias religiosas, como agentes emolientes para estimular la reparación de fracturas, para tratar cefaleas, retención urinaria y estreñimiento (Fuentes, 2009; Jaimes, 2009; Siani *et al.*, 2012).

www.bdigital.ula.ve

La familia Burseraceae está integrada por las especies de 19 géneros agrupados dentro de 3 tribus: Bursereae (8 géneros), Canarieae (8 géneros) y Protieae (3 géneros). La tribu Bursereae está subdividida en 2 subtribus: Boswellinae (5 géneros) y Burserinae (3 géneros).

El género *Bursera* (Burseraceae-Bursereae-Burserinae), a su vez, ha sido subdividido en 3 subgéneros: *Bursera*, *Elaphrium* y *Buntingia*. A pesar de ser un género que cuenta con unas 120 especies botánicamente aceptadas (The Plant List, 2013), solo han sido estudiadas la composiciones químicas de unas 40 especies aproximadamente, siendo *B. graveolens*, *B. simaruba*, *B. fagaroides*, *B. microphylla* y *B. linanoe* las especies más estudiadas fitoquímicamente hasta la actualidad. Esto nos demuestra que son muchas las especies de *Bursera* de las que aún se desconoce su composición, no solo en cuanto a los aceites esenciales, sino también a otros metabolitos como triterpenos, flavonoides, lignanos,

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

cumarinas, entre otros que pueden estar presentes y que han sido reportados en algunas especies del género.

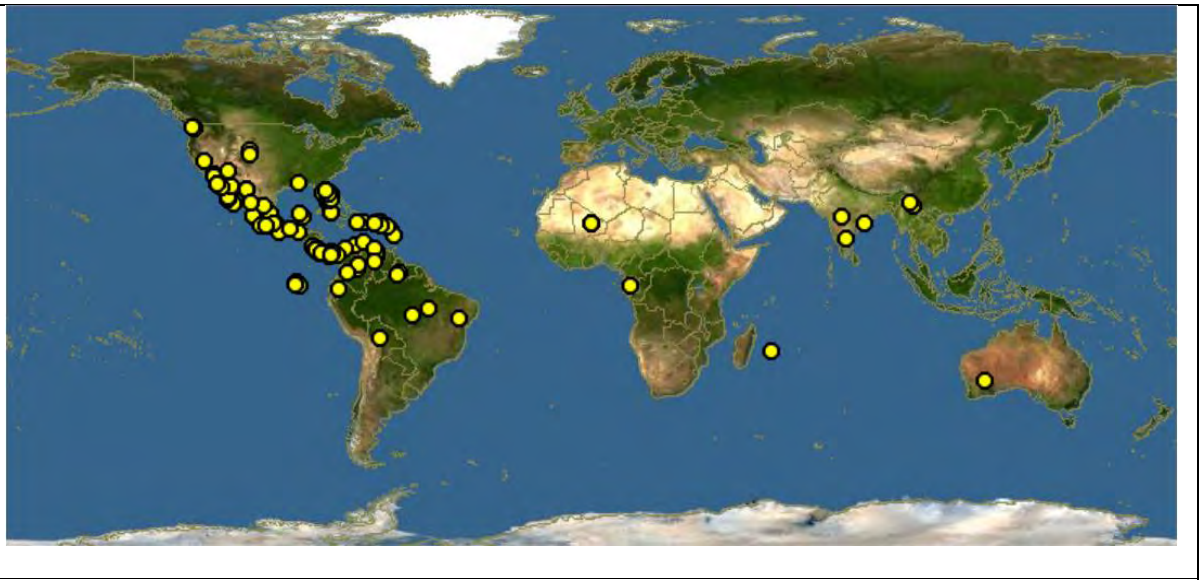


Figura 2. Mapa de distribución mundial de *Bursera*. (Burseraceae).Tomado de https://www.discoverlife.org/20/m?act=make_map

www.bdigital.ula.ve

En Venezuela, se ha señalado la presencia de seis especies (ver tabla 1), ubicadas en distintos subgéneros: *B. karsteniana* y *B. simaruba*, las cuales se encuentran dentro del subgénero *Bursera*; y tres especies se agrupan dentro del subgénero *Elaphrium*: *B. glabra*, *B. graveolens* y *B. tomentosa* (Castro-Laportte, 2013) y *B. inversa* (subgénero *Buntingia*).

Tabla 1. Distribución geográfica de las especies de *Bursera* reportadas en Venezuela.

Especie	Distribución
B. simaruba	Amazonas, Aragua, Barinas, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Falcón, Lara, Mérida, Miranda, Monagas, Nueva Esparta, Portuguesa, Vargas, Yaracuy, Zulia
B. glabra	Lara, Mérida, Zulia
B. graveolens	Mérida, Trujillo
B. inversa	Zulia, Mérida
B. karsteniana	Anzoátegui, Aragua, Falcón, Miranda, Nueva Esparta, Sucre, Vargas
B. tomentosa	Aragua, Bolívar, Carabobo, Falcón, Guárico, Lara, Sucre, Zulia

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Al considerar la gran diversidad de propiedades medicinales que se atribuyen en la Medicina Tradicional a las especies pertenecientes del género *Bursera* y los numerosos metabolitos aislados de sus especies, surge entonces el interés de realizar el estudio fitoquímico de la especie *Bursera inversa*, ya que para esta especie los reportes sobre su composición química son escasos.

B. inversa es descrita por primera vez en la revisión hecha por Daly en 1993. Actualmente es la especie tipo del subgénero monotípico *Buntingia*. Esta especie crece en las selvas húmedas bajas de unas pocas áreas subcosteras de Suramérica cercanas al Mar Caribe, principalmente en la esquina noroeste de Suramérica. Existen reportes de esta especie en Colombia, Panamá y Venezuela (Municipio Colón-Estado Zulia). Esta especie suelen ser árboles resinosos de 18-25 metros de altura, su corteza es rojiza y se exfolia en láminas delgadas, las hojas son folioladas y los frutos son de verde oscuro a marrón y con forma ovoide, la semilla, de consistencia ósea, es ovoide y totalmente cubierta por un pseudoarilo carnoso de color rojo. (Castro-Laporte, 2013; Daly, 1993).

www.bdigital.ula.ve

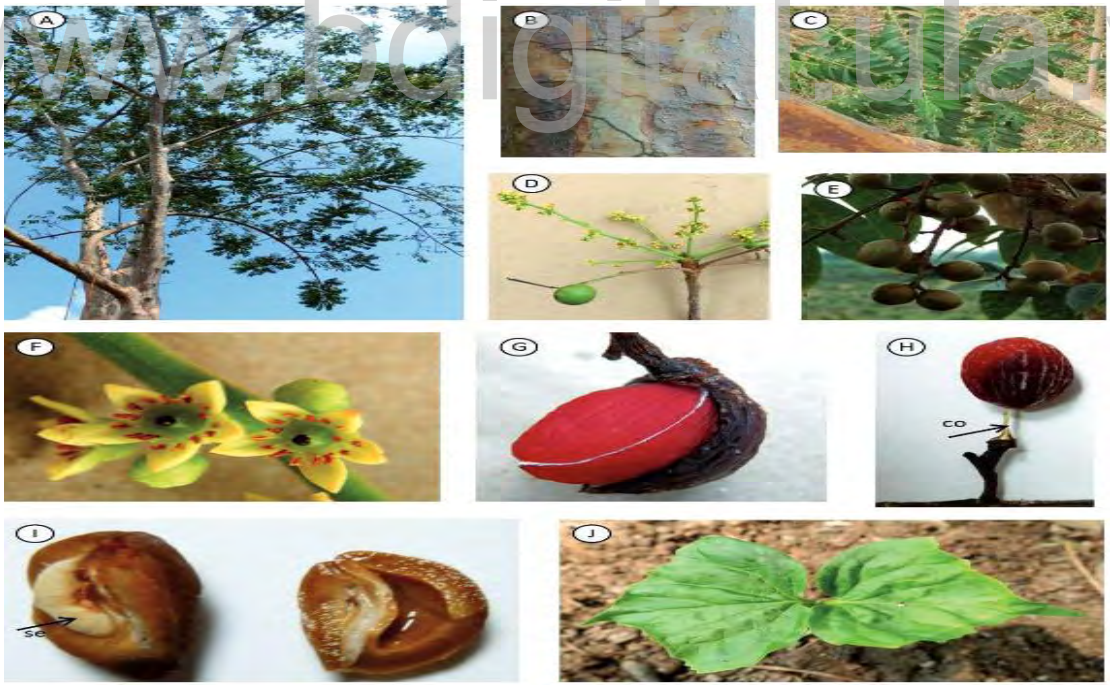


Figura 3. Características vegetativas y reproductivas de *Bursera inversa* Daly. A: Biotipo. B: Detalle de la corteza. C: Rama con hojas. D: Inflorescencia. E: Infrutescencia. F: Detalle de las flores femeninas. G: Fruto. H: Detalle del fruto con la columela. I: Pireno con semillas. J: Cotiledones. Co: columela. Se: semilla. (Tomado de Castro-Laportte, 2013).

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2. MARCO TEÓRICO.

El género *Bursera* es uno de los más representativos de la familia Burseraceae debido a su número de especies y a la amplitud geográfica de su distribución (Rzedowski *et al.*, 2005; CONABIO, 2013). Sus especies se agrupan en dos secciones; la primera, Bullockia, corresponde a los copales, arbustos y árboles pequeños de climas semiáridos que suelen tener propiedades aromáticas. En la segunda sección, también llamada Bursera, están los mulatos, árboles altos del trópico húmedo, y los cuajiotes, arbustos y árboles pequeños de climas subhúmedos y semiáridos (McVaugh y Rzedowski, 1965).

El género *Bursera* agrupa alrededor de 120 especies de plantas leñosas. Las plantas pertenecientes a este género son típicamente árboles bajos o de estatura mediana (5-15 m de altura), que constituyen un elemento característico de los bosques tropicales caducifolios, donde habitan preferentemente en altitudes entre 0 y 1.800 msnm. La mayoría de las especies se destacan por sus resinas y substancias aromáticas volátiles de olores más o menos agradables, la corteza de los troncos suele ser delgada y con frecuencia exfoliante (Rzedowski *et al.*, 2004).

www.bdigital.ula.ve

Son generalmente deciduos, dioicos o polígamodioicos, rara vez hermafroditas, cuyos troncos son de corteza externa exfoliante, rojiza o amarillenta (cuajiotes), la corteza interna con tonos de verde muy diversos o corteza no exfoliante, lisa y gris (copales), con resinas aromáticas frecuentemente con ramas cortas (braquiblastos); catáfilos generalmente conspicuos-inconspicuos. Sus hojas se desarrollan en rosetas sobre el ápice de los braquiblastos o ramas de nuevo crecimiento, generalmente imparipinnadas, compuestas con foliolos opuestos. Inflorescencias auxiliares aparecen antes de las primeras hojas, fasciculadas aparentemente o aglomeradas sobre los braquiblastos en panículas, tirsos, pseudoracimos, cimas, glomérulos o flores solitarias, brácteas y/o bractéolas presentes. Flores unisexuales, rara vez funcionalmente hermafroditas, generalmente tienen una semilla por fruto (Medina-Lemos, 2008; Loeza-Corte *et al.*, 2013).

Las especies de este género son ampliamente incluidas dentro de la medicina tradicional o popular debido a sus propiedades como antiinflamatorio, antibacteriana e insecticida. Estas propiedades han sido reconocidas y atribuidas a sus aceites esenciales, así

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

como a los diterpenos, triterpenos, esteroides, flavonoides y lignanos aislados de especies de *Bursera* (Becerra *et al.*, 2001). Diversas especies de *Bursera* han sido explotadas comercialmente, principalmente debido al alto porcentaje aceites esenciales aromáticos en la madera y las frutas, y también en menor medida por sus resinas, las cuales son de valor para la manufactura de barnices (Bullock, 1936). En la tabla 2 se muestran los diferentes usos que se les han dado a las especies de este género en la Medicina Tradicional.

Tabla 2. Aplicaciones de las especies de *Bursera* en la Medicina Tradicional.

Especie	Uso/Aplicaciones	Forma de utilización	Referencia
B. aloexylon (*Sin. B. linanoe*)	Picaduras de escorpión	Gotas del aceite esencial	Becerra, 1993
B. arida	Heridas, erupciones de piel, manchas	El látex obtenido de la planta es aplicado directamente en el área afectada	Canales *et al.*, 2005
B. bipinnata	Problemas de hernias	Se utiliza la resina para la preparación de emplastos	De la Cerda-Lemus, 2011
B. fagaroides	Para el tratamiento de golpes y tumores	Se emplea la corteza y/o exudados de la planta	Mojica *et al.*, 2016
B. filicifolia	Neumonía, heridas, tos, úlceras estomacales, úlceras en la piel	-	Encarnación-Dimayuga *et al.*, 1998b
B. graveolens	Analgésico, diaforético, para aliviar el reumatismo	Se emplea la resina como analgésico, la corteza hervida como diaforético y el extracto alcohólico para aliviar el reumatismo	Carmona *et al.*, 2009
	Insecticida y para curar dermatitis	Insecticida: quema de las hojas y/o corteza. Dermatitis: Infusiones acuosas de la corteza y/o las hojas	Tene *et al.*, 2007
B. hindsiana	Para curar la disnea	Té preparado a partir de virutas de la madera	Felger y Moser, 1973
B. jorullensis (Sin. *B. copallifera*)	Enfermedades uterinas	Pomada preparada a partir de la resina	Becerra, 1993

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

B. laxiflora	Dolores de garganta, resfriados y picaduras de animales	Té preparado con la corteza	Felger y Moser, 1973
B. microphylla	Dolores de estómago, heridas, moretones, úlceras en la piel	-	Encarnación-Dimayuga *et al.*, 1998b
	Enfermedades venéreas	Infusión de la corteza	Becerra, 1993
	Tratamiento de heridas y dolores de cabeza	Decocción preparada con las hojas y/o la corteza	Felger y Moser, 1973
B. morelensis	Enfermedades venéreas	Decocción de la corteza	Becerra, 1993
	Mitigar dolores, tratamiento de moretones y heridas superficiales	Infusiones de corteza y resina	Carrera-Martínez *et al.*, 2014
B. simaruba	Aliviar la fiebre y tratar la varicela	Se usa el extracto acuoso de la corteza como té, aplicaciones rectales y lavados	Bork *et al.*, 1996
	Antiinflamatorio y para la artritis	Se preparan pomadas con las hojas	Abad *et al.*, 1996
	Caries, enfermedades de las encías, antiinflamatorio	Infusiones o decocciones de los tallos y/o corteza	Rosas-Piñón *et al.*, 2012
	Hipoglicémico	-	Román-Ramos *et al.*,1992
	Infecciones del tracto urinario	Té preparado con la corteza	Noguera *et al.*, 2004
	Infecciones internas, fiebres, enfermedades del tracto urinario, golpes de calor, resfriados	La decocción es tomada como un té	Camporese *et al.*, 2003
	Para aliviar heridas, urticarias y picaduras de insectos	-	
	Para el tratamiento de resfriados, diarrea, heridas, hipertensión y como diurético	-	Mitchell y Ahmad, 2006
	Problemas en la piel, analgésico, antipirético, infecciones urinarias, tratamiento de heridas	Decocciones y emplastos preparados con las hojas	Álvarez *et al.*, 2015
	Purgante	Infusión preparadas con las hojas	Becerra, 1993

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

B. simaruba (continuación)	Tratamiento de desórdenes gastrointestinales: diarrea, cólicos, dolor de estómago, gastritis y pérdida de apetito	Se emplean la corteza, frutos hojas y/o resinas	Cáceres *et al.*, 1990

Las Burseras son caracteristicas de la selva baja caducifolia, cuya vegetación se desarrolla en los lugares con sequias prolongadas durante más de cuatro meses al año, lo que hace que los árboles estén un tiempo sin hojas y luego reverdezcan con las lluvias. La mayoria produce flores al principio de la temporada de lluvias, hacia fines de mayo y principios de junio. Las flores aparecen al mismo tiempo que las nuevas hojas con floración rápida y formación de frutos verdes a finales de junio. La mayoria de los frutos maduran entre agosto y principios de septiembre (Purata-Velarde, 2008).

2.1. DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE METABOLITOS SECUNDARIOS.

Para la identificación cualitativa de los diferentes constituyentes químicos presentes en los extractos de hojas y corteza de *Bursera*, se realiza el screening o tamizaje fitoquímico teniendo en cuenta la metodología propuesta por Jiménez y Tamara (tabla 3) (Jiménez y Tamara, 2017).

www.bdigital.ula.ve

Entre las pruebas más importantes para la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en un extracto orgánico que permiten de forma rápida y sencilla asumir la presencia de alguno de ellos podemos mencionar las siguientes:

2.1.1. ENSAYO PARA FLAVONOIDES (SHINODA).

Se adicionan 2 mL del extracto total en etanol en un vial y se añade limadura de Mg, posterior a esto se le se agrega cuidadosamente por la pared del tubo unas gotas de HCl concentrado. La aparición de colores desde el naranja al violeta se considera prueba positiva para flavonoides.

2.1.2. ENSAYO PARA COMPUESTOS FENÓLICOS ($FECl_3$).

Se adicionan 2 mL del extracto total en etanol en un vial y se le agrega una gota de $FeCl_3$ al 1 % y posteriormente se agita. La aparición de coloraciones violetas, verdes, azules u oscuras se considera prueba positiva.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2.1.3. ENSAYO PARA TANINOS (GELATINA-SAL).

Se adiciona 2 mL del extracto en etanol en un vial, y posteriormente se le agregan 2 mL de solución de gelatina-sal al 2 % en agua. La formación de precipitado se considera prueba positiva.

2.1.4. ENSAYO PARA ALCALOIDES.

En 6 viales se adicionan 2 mL del extracto acidulado con HCl al 1 %, posteriormente a cada uno de los viales se le agregan cinco gotas de los reactivos de Dragendorff, Erbam, Erlyc, Wagner, Hager y Meyer, respectivamente. La formación de precipitado, turbidez o cambio de color en alguno se considera positiva.

2.1.5. ENSAYO PARA CARDENÓLIDOS.

Se adicionan 2 mL de la fracción clorofórmica de extracto, se lleva a sequedad y se redisuelve con 2 mL de $CHCl_3$. En un vial al cual se le agrega 1 mL de solución Kedde (A) + 1 mL de solución Kedde (B) y se deposita el vial en un recinto con oscuridad y se esperan cinco minutos. La aparición de color violeta es prueba positiva para cardenólidos.

2.1.6. ENSAYO PARA TERPENOS Y/O ESTEROLES (LIEBERMANM-BURCHARD).

www.bdigital.ula.ve

Se adicionan 2 mL de la fracción clorofórmica del extracto en un vial, se agrega 1 mL de anhídrido acético posteriormente y luego se agrega una gota de H_2SO_4 concentrado por la pared del vial. Se considera prueba positiva la coloración violeta, verde o azul.

2.1.7. ENSAYO PARA QUINONAS.

Se adicionan 2 mL de la fracción clorofórmica del extracto en un vial, el cual se lleva a sequedad y se redisuelve con 10 mL de NaOH al 5 %, luego se le agrega 1 mL de H_2O_2 al 20% se filtra y se toman 5 mL de filtrado y se le agregan 10 gotas de ácido acético glacial y 5 mL de benceno a la mezcla. Si la parte bencénica se torna de color amarillo la prueba se considera positiva para quinonas.

2.1.8. ENSAYO PARA LEUCOANTOCIANIDINAS.

Se adicionan 2 mL de la fracción clorofórmica del extracto se lleva a sequedad y se redisuelve con 2 mL de etanol, posterior a esto se le adiciona 1 mL de HCl concentrado y se lleva a calentamiento en un baño María durante 15 minutos. La aparición de coloración rojiza u oscura se considera como prueba positiva para leucoantocianidinas.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2.1.9. ENSAYO PARA SAPONINAS.

Se adicionan 2 mL de extracto etanólico diluido en agua en un tubo de ensayo y se agita vigorosamente durante 30 segundos. La prueba se considera positiva cuando hay presencia de una capa espumosa que permanece por cinco minutos.

2.1.10. ENSAYO PARA CUMARINAS.

A 2 mL de filtrado orgánico en un vial se adiciona 0,5 mL de reactivo de Baljet, la presencia de precipitado rojo se considera positivo.

De forma general para resumir estos ensayos se realiza una tabla (ver tabla 3) que contiene la información necesaria para su aplicación en la determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en un extracto. Estos ensayos orientan de cierta manera para tomar decisiones en los próximos trabajos que se vayan a realizar al extracto en vista de los resultados positivos y negativos obtenidos.

Tabla 3. Determinación cualitativa de metabolitos secundarios de los extractos de las hojas y la corteza de *Bursera.*

www.bdigital.ula.ve

Metabolito secundario	**Prueba o reactivo**
Flavonoides	Shinoda, $FeCl_3$
Compuestos fenólicos	$FeCl_3$
Taninos	Gelatina sal
Alcaloides	Dragendorff, Wagner, Erbam, Erlyc, Hager, Mayer.
Cardenólidos	Kedde
Terpenos – Esteroles	Liebermanm-Burchard
Quinonas	Formación de anillo interfase
Leucoantocianidinas	Ácido clorhídrico concentrado
Saponinas	Agua/extracto + agitación vigorosa
Cumarinas	Baljet

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2.2. FITOQUÍMICA REPORTADA PARA ESPECIES DE *BURSERA*.

Las plantas producen miles de compuestos químicos diferentes conocidos como metabolitos secundarios o especializados cuya variedad y proporción se conoce como diversidad fitoquímica, un componente clave de la diversidad funcional, pues establecen las relaciones de los individuos que comparten un mismo hábitat (Lewinsohn y Gijzen, 2009; Richards *et al.*, 2015).

Para especies del género *Bursera* se ha reportado que contienen resinas y bálsamos de tipo terpenoidal y aceites esenciales ricos en terpenos, esteroles, lignanos y flavonoides. Estas sustancias les confieren intensos y variados aromas característicos y únicos para cada especie. Sin embargo, mediante cromatografía de gases se ha mostrado que la presencia y cantidad de los diferentes terpenos varía más entre poblaciones de la misma especie que entre los diferentes taxa del género (Rzedowski *et al.*, 2004; Manzano *et al.*, 2009; Maldini, *et al.*, 2009; Moreno *et al.*, 2010; Castillo, 2016).

2.2.1. ACEITES ESENCIALES Y COMPONENTES VOLÁTILES.

www.bdigital.ula.ve

Las resinas son productos comunes que las coníferas y angiospermas tropicales exudan naturalmente (de superficie) o que pueden obtenerse por incisión (internas) (Dell y McComb, 1979; Langenheim, 2003). Se define a la resina como una mezcla soluble en lípidos de compuestos terpénicos volátiles y no volátiles que son biosintetizadas en estructuras o conductos secretores internos llamados canales resiníferos, cuya localización es diversa, puede ser superficial en la parénquima cortical o bien profunda en el parénquima vascular o medular (Alonso-Peña, 2011).

Para el género *Bursera* existe una gran variedad de reportes sobre la composición química de los aceites esenciales y los componentes volátiles de las hojas, frutos, tallos y corteza. Los metabolitos hallados en los aceites y las fracciones volátiles de las especies de *Bursera* suelen ser monoterpenos, sesquiterpenos y en algunos casos hidrocarburos de cadena larga.

La fracción aromática volátil de la resina es la más abundante consiste de mono- y sesquiterpenos (10 y 15 C respectivamente) con algunos compuestos oxigenados y ocasionalmente de algunos hidrocarburos diterpénicos (20 C) mientras que la fracción

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

minoritaria es no volátil y está compuesta principalmente de di- y triterpenos (20 y 30 C). (Moore, 1993; Daly *et al.*, 2010; Langenheim, 2013).

Generalmente, los metabolitos secundarios pertenecen a la familia de los alquenos, alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos y cetonas, cuando las moléculas contienen el átomo de oxigeno suelen llamarse terpenoides, aunque ambas denominaciones se usan de forma indistinta (Ormeño y Fernández, 2012). En las plantas los terpenos se localizan en las hojas, flores y en los frutos y en menos medida en los troncos y raíces, pero en las resinas de los troncos pueden acumularse cantidades muy elevadas de estos metabolitos secundarios así como resinas fenólicas que comúnmente se entremezclan con los terpenoides. Los terpenos y compuestos fenólicos que constituyen a las resinas, se derivan de carbohidratos producidos fotosintéticamente que se descomponen para producir compuestos más simples (productos de piruvato) como los terpenoides y compuestos fenólicos que se biosintetizan a través de diferentes vías metabólicas (Langenheim, 2003; Taiz y Zeiger, 2006).

Una de las especies más estudiadas es *B. graveolens*, para la cual se ha estudiado el aceite esencial de las hojas (Carmona *et al.*, 2009), del duramen (Crowley, 1964), de las ramas (Santana *et al.*, 2009) y de los tallos (Young *et al.*, 2007). Además de los aceites esenciales también se han estudiado las fracciones volátiles de hojas, ramas, corteza, frutos inmaduros y resina de *B. graveolens* colectada en Colombia (Muñoz-Acevedo *et al.*, 2013) y de la madera de especímenes encontrados en Perú (Yukawa *et al.*, 2006, 2005, 2004a, 2004b; Yukawa y Iwabuchi, 2003). Estos estudios demuestran la presencia en *B. graveolens* de los monoterpenos: limoneno [Bm1], α-terpineol [Bm2], (*E*)-β-ocimeno [Bm3], mentofuranona [Bm4], 3-hidroximentofuranona [Bm5], (-)-isomentalactona [Bm6], 2,3 didehidromentalactona [Bm7], 1-acetil-4-isopropenil-1-ciclopenteno [Bm8], 5-isopropenil-2-metil-1-ciclopenten-1-carbaldehido [Bm9]; Así como los sesquiterpenos: β-elemeno [Bs1], α-cadinol [Bs2], germacreno D [Bs3], *trans*-β-cariofileno [Bs4], viridiflorol [Bs5], (-)-dihidro-α-agarofurano [Bs5], (-)-5,11-epoxi-4α,5β,10α-eudesm-1-eno [Bs7], (-)-4α-hidroxidihidroagarofurano [Bs8], (-)-3β, 4β-oxidoagarofurano [Bs9], (-)-10-*epi*-γ-eudesmol [Bs10], (-)-juneol [Bs11], dihidrojuneol [Bs12], 6β-hidroxi-4(15)eudesmen1ona [Bs13], 6β-hidroxi-*nor*-eudesman-4-ona [Bs14], 6,10-epoxi-7(14)-isodaucano [Bs15], 10-hidroxi-6,10-epoxi-7(14)-isodaucano [Bs16].

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

En la especie *B. microphylla* se han analizado el aceite esencial de las hojas (Bradley y Haagen-Smit, 1951) y de la resina (Mooney y Emboden Jr., 1968; Tucker *et al.*, 2009), donde se han hallado los monoterpenos: α-pineno [Bm10], β-pineno [Bm11], 1,8-cineol [Bm12], β-mirceno [Bm13], α-felandreno [Bm14], β-felandreno [Bm15], felandral [Bm16], limoneno [Bm1]. Así como el sesquiterpeno *trans*-β-cariofileno [Bs4].

La composición química del aceite esencial de las hojas (Junor *et al.*, 2008b; Sylvestre *et al.*, 2007), la corteza (Junor *et al.*, 2008b) y de los frutos (Junor *et al.*, 2008b; Rosales y Cicció, 2002) de *B. simaruba* han reportado la presencia de los monoterpenos: α-terpineno [Bm17], γ-terpineno [Bm18], 4-terpineol [Bm19], *p*-cimeno [Bm20], sabineno [Bm21], α-pineno [Bm10], β-pineno [Bm11], mirceno [Bm13] y limoneno [Bm1]. Junto con los sesquiterpenos; *trans*-β-cariofileno [Bs4], viridoflorol [Bs5], germacreno D [Bs3], α-humuleno [Bs17], β-selineno [Bs18], óxido de cariofileno [Bs19].

Zuñiga y colaboradores (2005) analizaron las fracciones volátiles (obtenidas por destilación con arrastre con vapor y posterior fraccionamiento con éter etílico) de la madera de ocho especies de *Bursera* (*B. grandifolia*, *B. lancifolia*, *B. morelensis*, *B. aptera*, *B. glabrifolia*, *B. velutina*, *B. aloexylon (*sinónimo de *B. linanoe)* y *B. submoniliformis*) colectadas en los Estados de Puebla y Guerrero (México). Entre los compuestos mayoritarios identificados se encuentran los monoterpenos: α-tujeno [Bm22], linalool [Bm23], limoneno [Bm1], α-terpineol [Bm2] y 4-terpineol [Bm19].

Los sesquiterpenos: β-eudesmol [Bs20] y espatulenol [Bs21]; así como los alcanos de cadena larga heptadecano y docosano (Zúñiga *et al.*, 2005).

Por su parte, en el estudio realizado por Noge y Becerra (2009) se analizaron los componentes volátiles de las hojas de 5 especies de *Bursera* (*B. copallifera*, *B. excelsa*, *B. mirandae*, *B. ruticola* y *B. fagaroides*) extraídos con CH_2Cl_2; encontrándose los monoterpenos: α-pineno [Bm10], β-pineno [Bm11], α-felandreno [Bm14] y los sesquiterpenoides: *trans*-β-cariofileno [Bs4], α-humuleno [Bs17], germacreno D [Bs3], biciclogermacreno [Bs22] entre los metabolitos mayoritarios (Noge y Becerra, 2009).

El aceite esencial de las hojas de *B. linanoe* (Quiroga *et al.*, 2007) y el estudio de sus componentes volátiles (Noge *et al.*, 2010) indica la presencia de los monoterpenos: linalool [Bm23], alcanfor [Bm24], acetato de linalool [Bm25] y germacreno D [Bs3].

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

En el caso del *B. aromática*, el aceite esencial de hojas, corteza y frutos están compuestos predominantemente por el alcano nonano, los monoterpenos: limoneno [Bm1], β-pineno [Bm11], así como los sesquiterpenos: α-copaeno [Bs23], δ-cadineno [Bs24], *trans*-β-cariofileno [Bs4], viridoflorol [Bs5] (Junor *et al*., 2010b).

En el aceite esencial de las hojas y corteza de *B. hollicki* (Jamaica) los monoterpenos representan los componentes mayoritarios con: α-pineno [Bm10], β-pineno [Bm11] y α-terpineol [Bm2]: de los sesquiterpenos, los componentes predominantes son el *trans*-β-cariofileno [Bs4] y α-humuleno [Bs17] (Junor *et al.*, 2008a).

Para la especie *B. lunanii*, los principales metabolitos de los aceites esenciales de las hojas, frutos y corteza son los monoterpenos: α-pineno [Bm10], α-terpineol [Bm2], verbenona [Bm26], *cis*-pinanediol [Bm27], *trans*-verbenol [Bm28] y mirtenal [Bm29]. Los sesquiterpenos *trans*-β-cariofileno [Bs4] y óxido de cariofileno [Bs19] (Junor *et al.*, 2010a).

La fracción volátil (obtenida con CH_2Cl_2) de las hojas de *B. velutina* (Noge *et al.*, 2011) y el aceite esencial de las partes aéreas de *B. tonkinensis* (Hoi *et al.*, 2004) poseen principalmente los monoterpenos: α-pineno [Bm10], α-felandreno [Bm14], β-felandreno [Bm15]. Por su parte en el aceite esencial de la partes aéreas de *B. morelensis* se han encontrado estos mismos compuestos junto con el sesquiterpeno *trans*-β-cariofileno [Bs4] (Carrera-Martínez *et al.*, 2014).

El aceite esencial de los frutos de *B. tomentosa* contiene: *cis*-ocimeno [Bm30], germacreno D [Bs3], *n*-nonano (Moreno *et al.*, 2010a). Mientras que el aceite de la corteza posee: *n*-nonano, *cis*-ocimeno [Bm30], espatulenol [Bs21], biciclogermacreno [Bs22], *epi*-α-cadinol [Bs25], globulol [Bs26], β-selineno [Bs18] (Moreno *et al.*, 2010b).

Las hojas de *B. chemapodicta* tienen un aceite esencial rico en compuestos no terpenoides, principalmente alcanos de cadena corta y derivados de alcanos no terpenoides, cuyo componente mayoritario es el *n*-heptano. (Evans y Becerra, 2006).

Las estructuras de los monoterpenoides y sesquiterpenoides hasta ahora identificados en especies de *Bursera* están representadas en las figuras 4 y 5.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

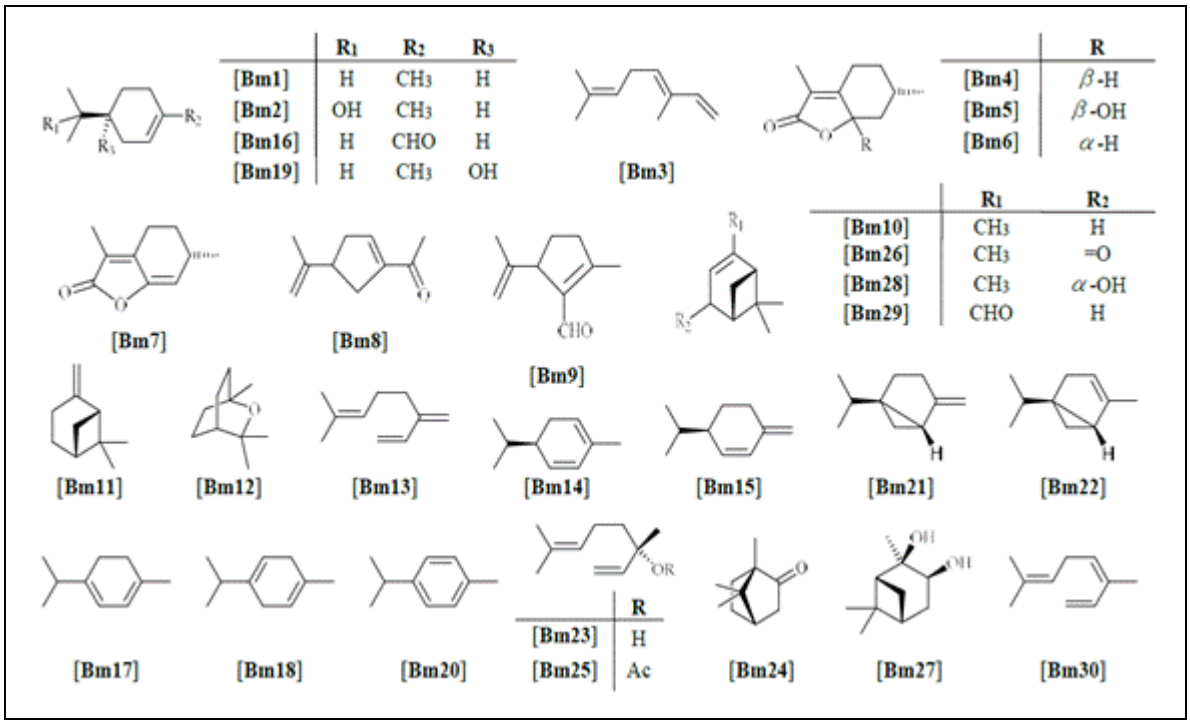


Figura 4. Monoterpenoides identificados en especies del género *Bursera*.(Rengifo et al.,2017)

www.bdigital.ula.ve

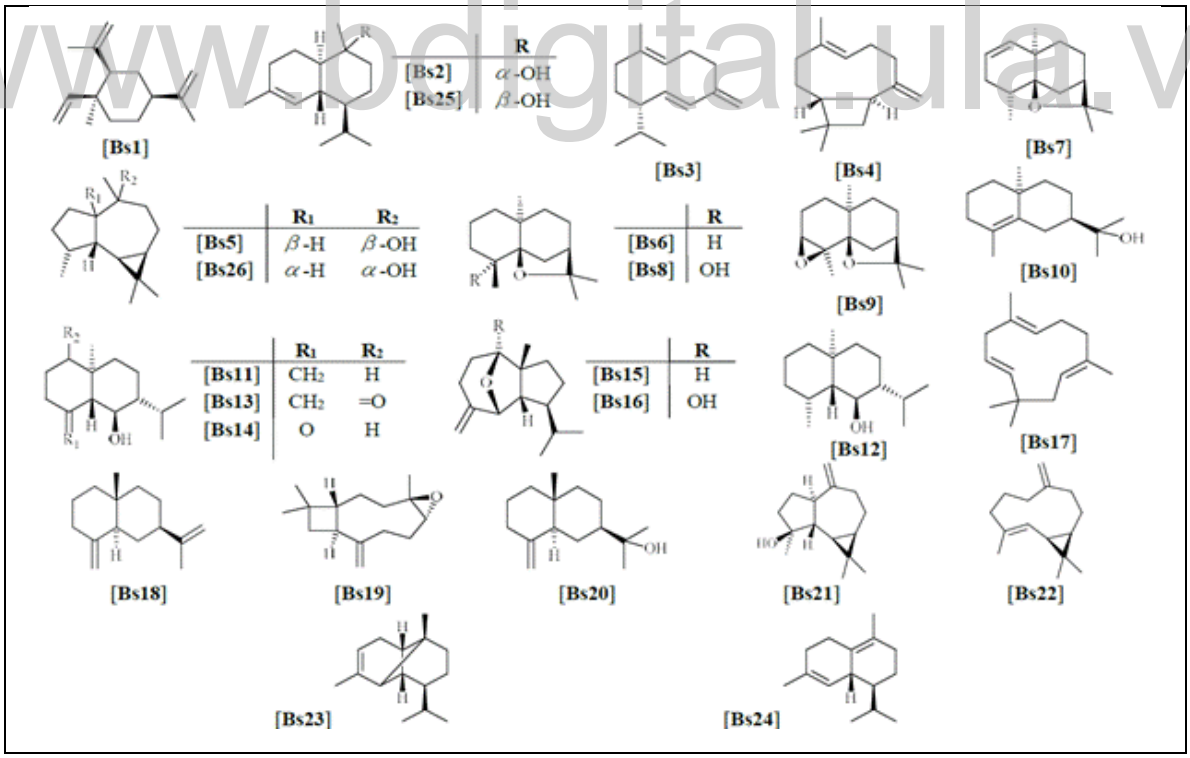


Figura 5. Sesquiterpenoides identificados en especies del género Bursera.(Rengifo *et al.*,2017)

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2.2.2. DITERPENOIDES, TRITERPENOIDES Y ESTEROIDES.

Adicionalmente a los mono- y sesquiterpenoides hallados en los aceites esenciales y las fracciones volátiles de las especies de *Bursera*, también han sido aislados e identificados otros terpenoides tales como diterpenos, triterpenos y esteroides en las fracciones no volátiles de las plantas pertenecientes a este género.

Los terpenoides son compuestos basados en unidades de isopreno, cuatro unidades en el caso de los diterpenos y seis unidades en el caso de los triterpenos.

Hasta la fecha solo se han encontrado reportes de diterpenos en cuatro especies de *Bursera* y todos ellos poseen el mismo esqueleto base, el del verticilano. En los tallos de *B. kerberi* colectada en México se aislaron 4 diterpenos de este tipo en el extracto de hexano; (1*S*,3*E*,7*E*,11*R*)-(+)-verticila-3,7,12(18)-trieno [Bd1], (1*R*,3*E*,7*E*,11*R*,12*Z*)-(+)-verticila-3,7,12-trieno [Bd2], (1*R*,7*E*,11*Z*)-(-)-verticila-4(20),7,11-trieno [Bd3], *ent*-5-*epi*-verticilol [(1*S*,3*E*,7*E*,11*S*,12*R*)-(+)-verticila-3,7-dien-12-ol] [Bd4] (Hernández *et al.*, 2005).

El extracto de hexano de *B. suntui* contiene los diterpenos; [Bd1], [Bd2], [Bd3], (1*S*,3*E*,7*E*,11*S*,12*S*)-(+)-verticila-3,7-dien-12-ol [Bd5], (1*S*,3*E*,7*E*,11*S*,12*S*)-(+)-verticila-3,7-dieno-12,20-diol [Bd6], (1*S*,3*Z*,7*S*,8*S*,11*S*,12*S*)-(+)-7,8-epoxiverticil-3-eno-12,20-diol [Bd7], (1*S*,3*Z*,7*S*,11*S*,12*S*)-(+)-verticila-3,8(19)-dieno-7,12,20-triol [Bd8] y los acetatos de [Bd6], [Bd7] y [Bd8] ([Bd9], [Bd10] y [Bd11] respectivamente (García-Gutiérrez *et al.*, 2008; Hernández *et al.*, 2005).

Las otras dos especie de *Bursera* en la que se han reportado diterpenos son: el extracto metanólico de la resina de *B. microphylla*, del cual se aislaron: microphyllanina [Bd12], verticileno [Bd13], *ent*-5-*epi*-verticilol [Bd4] (Messina *et al.*, 2015). Y en los tallos de *B. multijuga* donde se identificaron: el cembreno A [Bd14], cembrenol [Bd15], (-)-(1*S*, 3E, 7R, *8*R, 11E)-7,8-epoxicembra-3,11-dien-1-ol [Bd16], su acetato [Bd17] (Hernández *et al.*, 2014).

En cuanto a los triterpenos, la especie con mayor cantidad de reportes de este tipo de compuestos es *B. graveolens*, para la cual en el extracto de EtOH de la corteza de un espécimen colombiano se reportan los compuestos: ácido β-elemónico [Bt1], ácido α-elemólico [Bt2], ácido 3α-hidroxitirucala-7,24-dien-21-oico [Bt3] (Robles *et al.*, 2005).

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Adicionalmente en el extracto metanólico de las virutas de duramen de una especie encontrada en Venezuela se encontró la presencia del ácido 2,3-*seco*-oleana-12-eno-2, 3,28-trioico [Bt4] (Crowley, 1964). En los tallos, el lupeol [Bt5] y epilupeol [Bt6] fueron identificados en el extracto de MeOH (Nakanishi *et al.*, 2005), mientras que en el extracto metanólico de las hojas se aisló la α-amirina [Bt7] y el esteroide 3-O-β-D-glucopiranosil-β-sitosterol [Bt8] (Nakanishi *et al.*, 2003).

Para *B. simaruba* en los extractos de hexano de las hojas de especies encontradas en La Habana (Cuba) y Caracas (Venezuela) se identificaron los triterpenos: (3β, 18β)-lupa-5,20(29)-dien-3-ol [Bt9], (3β, 18β)-lupa-12,20(29)-dien-3-ol [Bt10], betulinol [Bt11], α-amirina [Bt7]. Junto con los esteroides: β-sitosterol [Bt12], campesterol [Bt13], (24*S*)-estigmasta-5,22(E)-dien-3β-ol (estigmasterol) [Bt14] (Álvarez *et al.*, 2015; Carretero *et al.*, 2008). En el extracto de cloroformo de la resina se hallaron los triterpenos: α-amirina [Bt7], β-amirina [Bt15], epiglutinol [Bt16], lupeol [Bt5], epilupeol [Bt6], lup-20(29)-eno-3β, 23-diol [Bt17] (Peraza-Sánchez *et al.*, 1995).

Las estructuras de los diterpenoides hasta ahora identificados en especies de *Bursera* están representadas en la figura 6.

www.bdigital.ula.ve

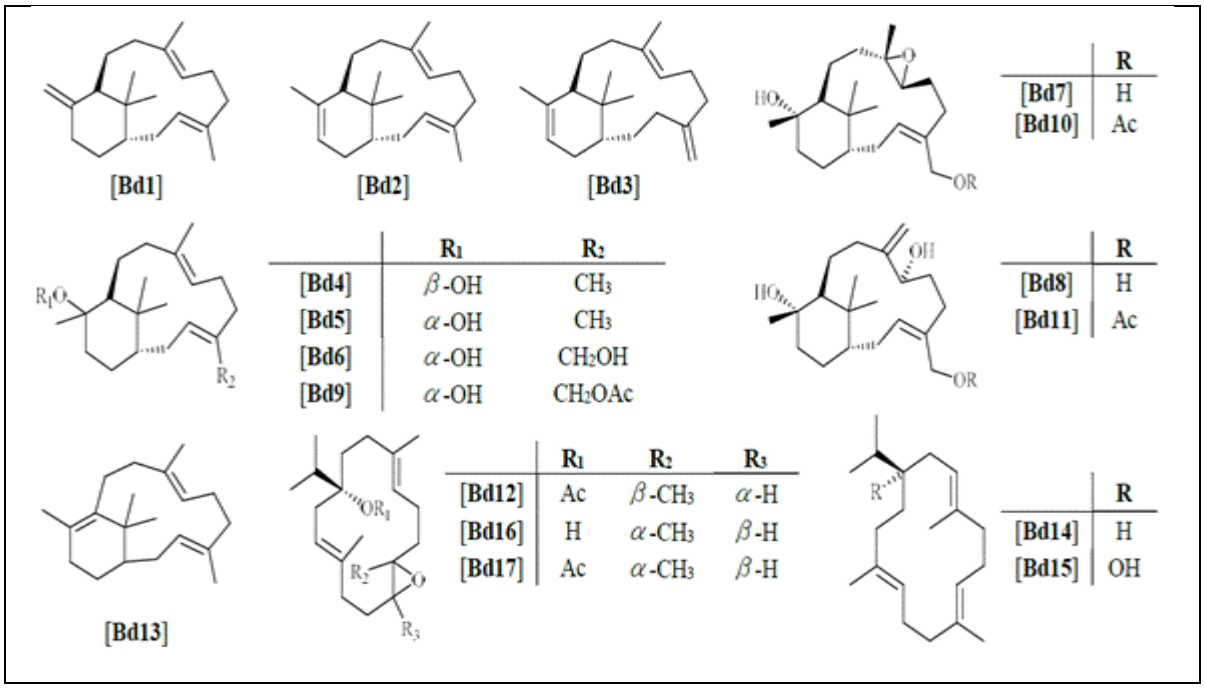


Figura 6. Diterpenoides aislados en especies del género *Bursera*. (Rengifo *et al*.,2017)

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

B. delpechiana (sinónimo de *B. linanoe*) recolectada en Bangalore posee los triterpenos: α-amirina [Bt7], ácido ursólico [Bt18], ácido ursónico [Bt19], ácido acetilursólico [Bt20], ácido 11-oxoursólico [Bt21], ácido 11-oxo-acetilursólico [Bt22], 3β-acetoxiurs-11-en-28,13-olida [Bt23], 3β-acetoxi-11α,12α-epoxiursan-28,13-olida [Bt24], 3β-acetoxi-12β-hidroxiursan-28,13-olida [Bt25] en el extracto de MeOH de la resina (Syamasundar *et al.*, 1991; Syamasundar y Mallavarapu, 1995).

El extracto de MeOH de *B. microphylla* (Messina *et al.*, 2015) reporta la presencia de: ácido oleanónico [Bt26], ácido betulónico [Bt27], mansumbinona [Bt28], malabaricatrienona [Bt29], malabaricatrienol [Bt30], 16,20-dihidroxidammarenona [Bt31]. Mientras que en el extracto de éter etílico de los tallos de la misma especie se aisló el β-sitosterol [Bt12] (Bianchi *et al.*, 1968).

En la resina de *B. cuneata* se identificaron los triterpenos: α-amirina [Bt7], β-amirina [Bt15], hop-22(29)-en-3β-ol [Bt32] y urs-20-en-3-ol [Bt33] (De la Cruz-Cañizares *et al.*, 2005; Doménech-Carbó *et al.*, 2006).

Un triterpeno pentacíclico ha sido aislado del extracto de cloroformo de los tallos de *B. arida*, nombrado como benulina (ácido 3α-hidroxi-3,25-epoxilup-20(29)-en-28-oico) [Bt34] (Ionescu *et al.*, 1977).

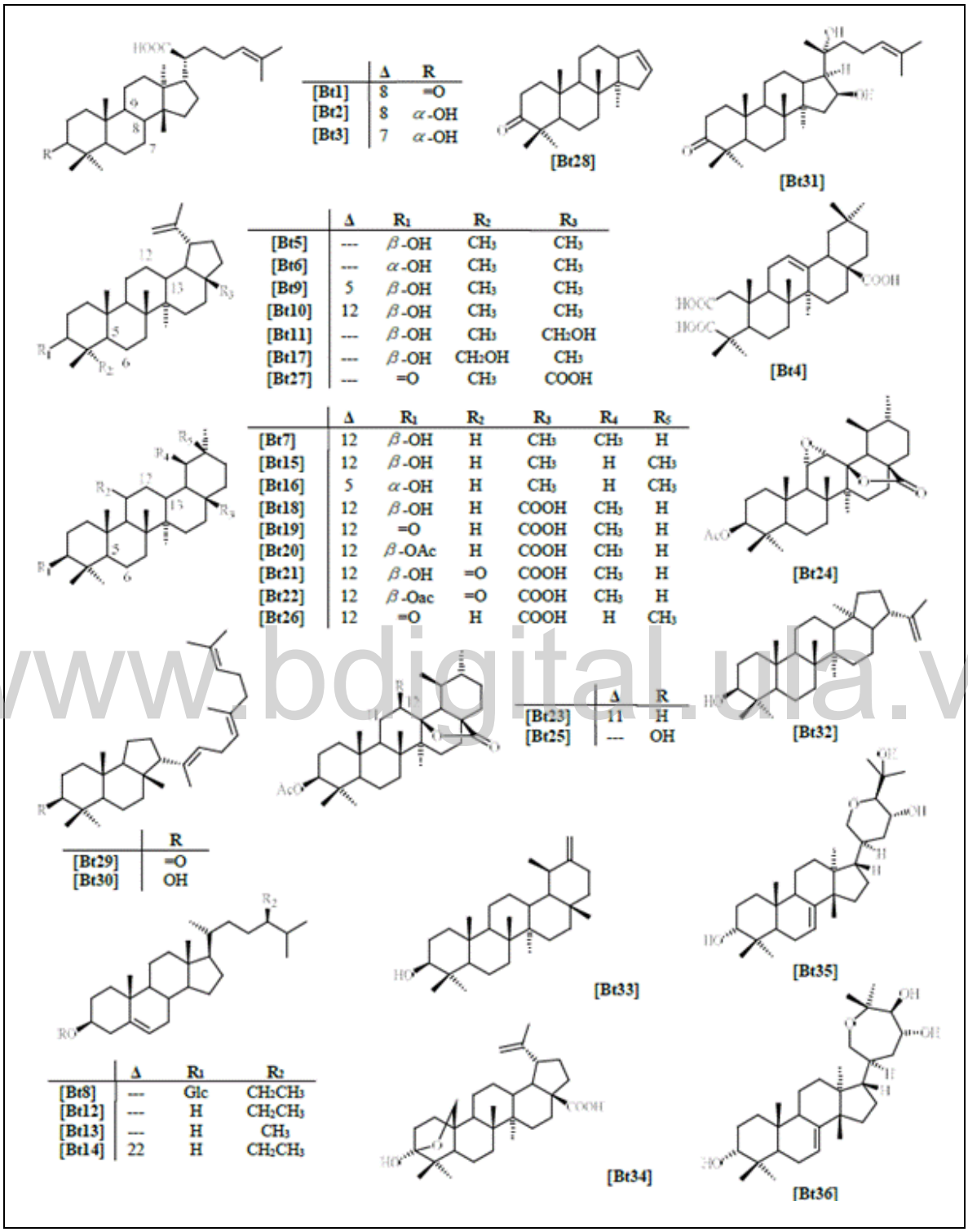
www.bdigital.ula.ve

De las hojas de *B. klugii* (extracto EtOH) colectada en Perú se reportaron los triterpenos: sapelina A [Bt35], sapelina B [Bt36] (Jolad *et al.*, 1977a).

En el extracto de cloroformo de las hojas y tallos de *B. sclechtendalii* se encontró α-amirina [Bt7] (McDoniel y Cole, 1972); mientras que en los extractos con hexano de los exudados de *B. bipinnatum*, *B. sessiflorum* (sinónimo de *B. ariensis*), *B. jorullensis* (sinónimo de *B. copallifera*) y *B. galleottiana* se identificaron α-amirina [Bt7] y lupeol [Bt5] (Tursch y Tursch, 2010). Por último en el extracto metanólico de las raíces de *B. tonkinensis* (Vietnam) se reportó el esteroide daucosterol (3-O-β-D-glucopiranosil-β-sitosterol) [Bt8] (Jutiviboonsuk *et al.*, 2005).

Las estructuras de los triterpenoides y esteroides hasta ahora identificados en especies de *Bursera* están representadas en la figura 7.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual



	Δ	R
[Bt1]	8	=O
[Bt2]	8	α-OH
[Bt3]	7	α-OH

[Bt28]

[Bt31]

	Δ	R_1	R_2	R_3
[Bt5]	---	β-OH	CH_3	CH_3
[Bt6]	---	α-OH	CH_3	CH_3
[Bt9]	5	β-OH	CH_3	CH_3
[Bt10]	12	β-OH	CH_3	CH_3
[Bt11]	---	β-OH	CH_3	CH_2OH
[Bt17]	---	β-OH	CH_2OH	CH_3
[Bt27]	---	=O	CH_3	COOH

[Bt4]

	Δ	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
[Bt7]	12	β-OH	H	CH_3	CH_3	H
[Bt15]	12	β-OH	H	CH_3	H	CH_3
[Bt16]	5	α-OH	H	CH_3	H	CH_3
[Bt18]	12	β-OH	H	COOH	CH_3	H
[Bt19]	12	=O	H	COOH	CH_3	H
[Bt20]	12	β-OAc	H	COOH	CH_3	H
[Bt21]	12	β-OH	=O	COOH	CH_3	H
[Bt22]	12	β-Oac	=O	COOH	CH_3	H
[Bt26]	12	=O	H	COOH	H	CH_3

[Bt24]

	Δ	R
[Bt23]	11	H
[Bt25]	---	OH

[Bt32]

	R
[Bt29]	=O
[Bt30]	OH

[Bt33]

[Bt35]

	Δ	R_1	R_2
[Bt8]	---	Glc	CH_2CH_3
[Bt12]	---	H	CH_2CH_3
[Bt13]	---	H	CH_3
[Bt14]	22	H	CH_2CH_3

[Bt34]

[Bt36]

Figura 7. Triterpenoides y esteroides aislados de especies del género *Bursera*. (Rengifo *et al*.,2017)

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2.2.3. FLAVONOIDES.

Del extracto de MeOH de las hojas de *B. fagaroides* var. *elongata* se aisló 3'-O-α-L-ramnopiranosilluteolina [Bf1]; de las hojas de *B. heteresthes* se obtuvo el 7-O-β-D-glucopiranosilluteolina [Bf2], mientras que el 3-O-α-L-ramnopiranosilmiricetina [Bf3] se aisló de las hojas de *B. ariensis*, *B. biflora*, *B. bipinnata*, *B. excelsa*, *B. hintonii* y *B. sarukhanii* (Hernández *et al.*, 2002).

La corteza de *B. simaruba* colectada en Belice reporta la presencia de epicatequina [Bf4] y se observa evidencia de proantocianidinas (polímeros de epicatequina) y sus derivados glicosidados (Maldini *et al.*, 2009a).

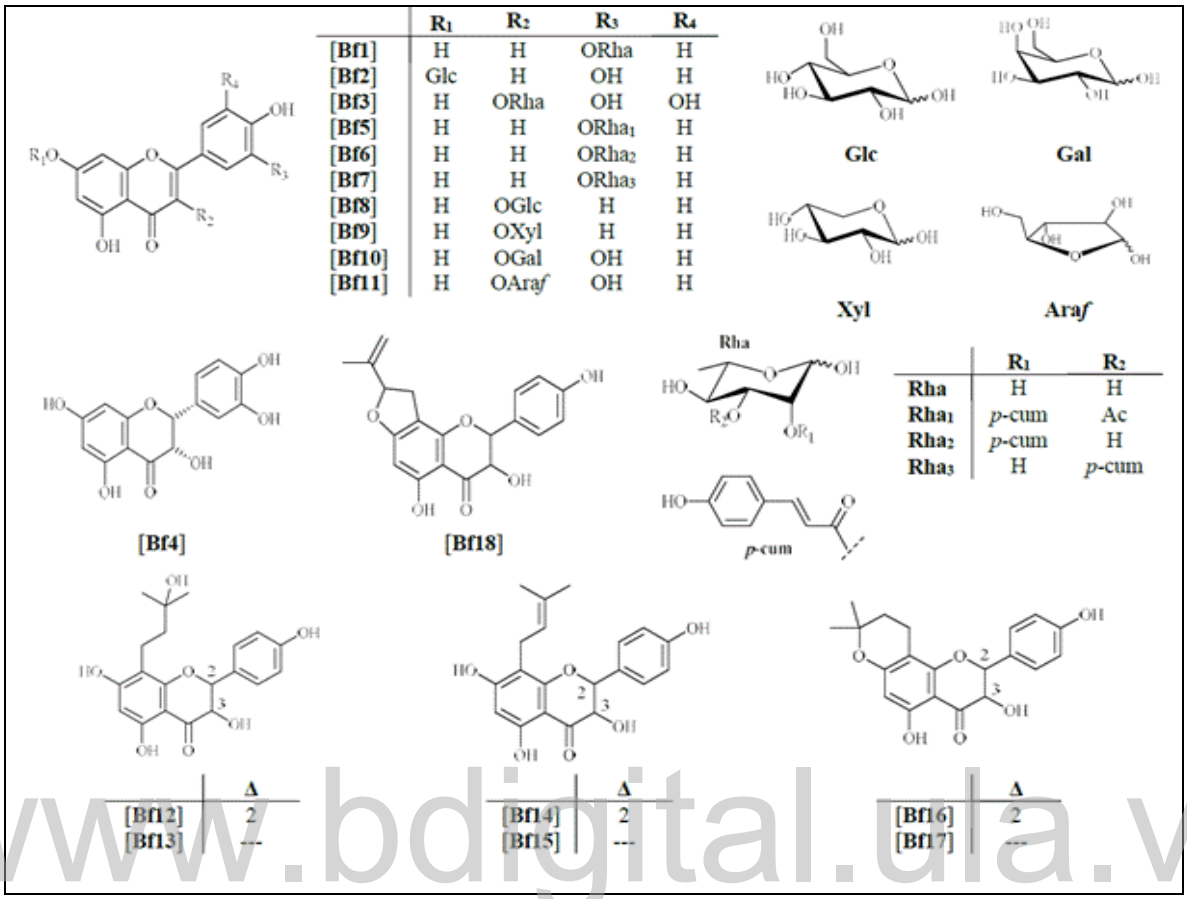
En las hojas de *B. graveolens* se encontraron 8 flavonoides glicosidados en el extracto de MeOH: 3'-O-α-L-ramnopiranosilluteolina [Bf1], 3'-O-α-L-(3"-acetil-2"*E*-*p*-cumaril)- ramnopiranosilluteolina [Bf5], 3'-O-α-L-(2"*E*-*p*-cumaril)-ramnopiranosilluteolina [Bf6], 3'-O-α-L-(3"*E*-*p*-cumaril)-ramnopiranosil-luteolina [Bf7], 3-O-β-D-glucopiranosil-kaempferol (astragalina) [Bf8], 3-O-β-D-xilopiranosilkaempferol [Bf9], 3-O-β-D-galactopiranosilquercetina [Bf10], 3-O-α-L-arabinofuranosilquercetina [Bf11] (Nakanishi *et al.*, 2003).

www.bdigital.ula.ve

Para *B. leptophloeos* colectada en Brasil, se aislaron 7 flavonoides en el extracto metanólico de las ramas: 8-(3"-hidroxi-3"-metilbutil)-5, 7,4'-trihidroxiflavonol [Bf12], 8-(3"-hidroxi-3"-metilbutil)-5,7,4'-trihidroxidihidroflavonol [Bf13], 8-(γ,γ-dimetilalil)-5,7,4'-trihidroxiflavonol [Bf14], 8-(γ,γ-dimetilalil)-5,7,4'-trihidroxidihidroflavonol [Bf15], 6",6"-dimetildihidropiran(2",3":7,8)-5,4'-dihidroxiflavonol [Bf16], 6",6"-dimetildihidro-piran(2",3":7,8)-5,4'-dihidroxidihidroflavonol [Bf17], 5"-isopropenildihidrofuran-(2",3":7,8)-5,4'-dihidroxidihidroflavonol [Bf18] (Souza *et al.*, 1989).

Las estructuras de los flavonoides hasta ahora identificados en especies de *Bursera* están representadas en la figura 8.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual



www.bdigital.ula.ve

Figura 8. Flavonoides aislados en especies del género *Bursera*. (Rengifo *et al*.,2017)

2.2.4. LIGNANOS.

Entre los lignanos aislados de *B. fagaroides* se encuentran, en el extracto de cloroformo: metil-β-peltatina A [Bl1], 5'-desmetoximetil-β-peltatina A [Bl2] (Bianchi *et al.*, 1969); así como los lignanos aislados del extracto de MeOH de los tallos (Rojas-Sepúlveda *et al.*, 2012): podofilotoxina [Bl3], 5'-desmetoximetil-β-peltatina A [Bl2], metil-β-peltatina A [Bl1], 5'-desmetoxiyateina [Bl4], deoxipodofilotoxina [Bl5], burseranina [Bl6], acetilpodofilotoxina [Bl7]. En el estudio realizado por Velázquez-Jiménez y colaboradores, en 2011, sobre el extracto metanólico del exudado, se encontraron los lignanos: oxipodofilotoxina [Bl5], 5'-desmetoxiyateina [Bl4], yateina [Bl8], morelensina [Bl9] (Velázquez-Jiménez *et al.*, 2011). Así mismo en el extracto de CH_2Cl_2 de la corteza también se han hallado compuestos de este tipo: 7',8'-dehidropodofilotoxina [Bl10], 7',8'-dehidroacetilpodofilotoxina [Bl11], acetilpicropodofilotoxina [Bl12], hinokinina [Bl13], 7',8'-dehidro-*trans*-*p*-cumarilpodofilotoxina [Bl14, junto con los ya mencionados [Bl2],

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

[Bl3], [Bl6] y [Bl7] (Mojica *et al.*, 2016). Por último, del extracto de cloroformo de la resina se obtuvieron 9-acetil-9'-pentadecanoildihidroclusina [Bl15], los mono- y di-acetato de 2,3-desmetoxi-*seco*-isolintetralina [Bl16 y Bl17] y de dihidroclusina [Bl18 y Bl19] (Morales-Serna *et al.*, 2013).

De *B. simaruba* se han aislado metil-β-peltatina A [Bl1] del extracto de hexano de las hojas (Noguera *et al.*, 2004 y 2006); picropoligamaina [Bl20] del extracto de $CHCl_3$ de la resina (Peraza-Sánchez y Peña-Rodríguez, 1992) y yateina [Bl8], O-β-D-glucopiranosil-β-peltatina A [Bl21], hinokinina [Bl13] y bursehernina (5'-desmetoxiyateina) [Bl4] en el extracto de MeOH de la corteza (Maldini *et al.*, 2009b).

En las raíces de *B. tonkinensis* se encontraron: burselignano [Bl22], burseneolignano [Bl23], (+)-isolariciresinol [Bl24], 5-metoxi-(+)-isolariciresinol [Bl25], 4'-desmetildesoxi-podofilotoxina [Bl26], 4-O-β-D-glucósido de 4'-desmetildesoxi-podofilotoxina [Bl27], 1-(4'-hidroxi-3'-metoxifenil)-2-[4"(3hidroxipropil)-2",6"-dimetoxi-fenoxi]-propano-1,3-diol [Bl28], dihidrodehidrodiconiferol [Bl29] y 5-metoxi-*trans*-dihidrodehidrodiconiferol [Bl30] (Jutiviboonsuk *et al.*, 2005).

www.bdigital.ula.ve

Para *B. microphylla* se obtuvo deoxipodofilotoxina [Bl9] (Bianchi *et al.*, 1968) y burserano [Bl31] (Cole *et al.*, 1969; Trumbull y Cole, 1969) del extracto de éter etílico de los tallos. En el extracto de MeOH de la resina se aislaron ariensina [Bl32], burseranina [Bl6], burserano [Bl31] y diacetato de dihidroclusina [Bl19] (Messina *et al.*, 2015).

Los tallos de *B. permollis* colectada en Guatemala presentan deoxipodofilotoxina [Bl5], metil-β-peltatina A [Bl1], picrometil-β-peltatina A [Bl33], dehidrometil-β-peltatina A [Bl34] y nemerosina [Bl35] en el extracto de MEOH (Wickramaratne *et al.*, 1995).

En el extracto de acetona del exudado de *B. ariensis* se halló ariensina [Bl32] (Hernández *et al.*, 1983); mientras que del extracto de MeOH del exudado de *B. morelensis* se aislaron deoxipodofilotoxina [Bl5] y 5'-desmetoxideoxipodofilotoxina (morelensina) [Bl9] (Jolad *et al.*, 1977b).

Para *B. graveolens* se obtuvieron burseranina [Bl6] y picropligamaina [Bl20] del extracto de MeOH de los tallos (Nakanishi *et al.*, 2005). Así mismo, en el extracto de cloroformo de las hojas y tallos de *B. sclechtendalii* se encontraron los lignanos yateina [Bl8] y 5'-desmetoxiyateina (bursehernina) [Bl4] (McDoniel y Cole, 1972).

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Las estructuras los lignanos hasta ahora identificados en especies de *Bursera* están representadas en la figura 9.

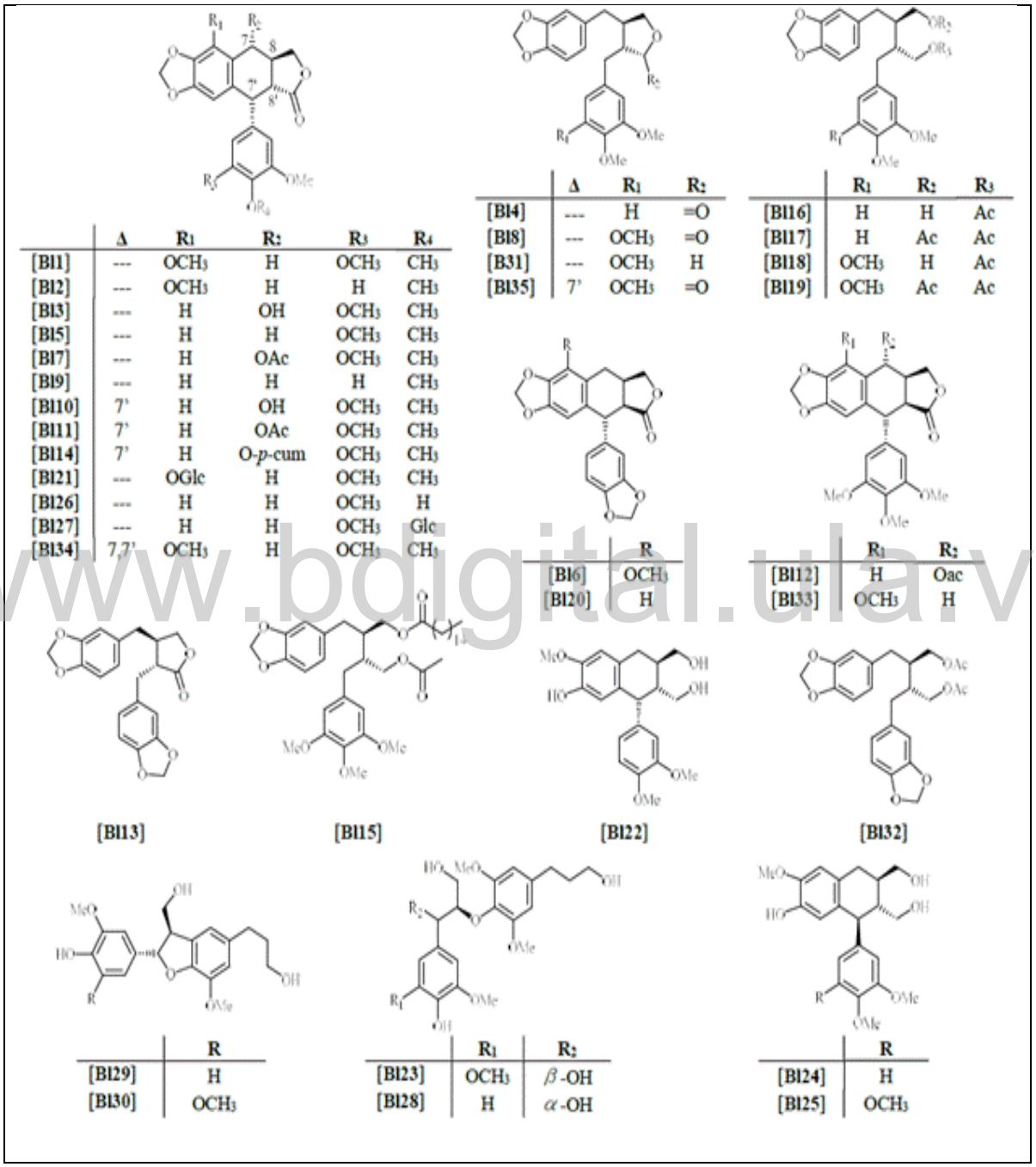


Figura 9. Lignanos aislados en especies de *Bursera*.(Rengifo *et al*.,2017)

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

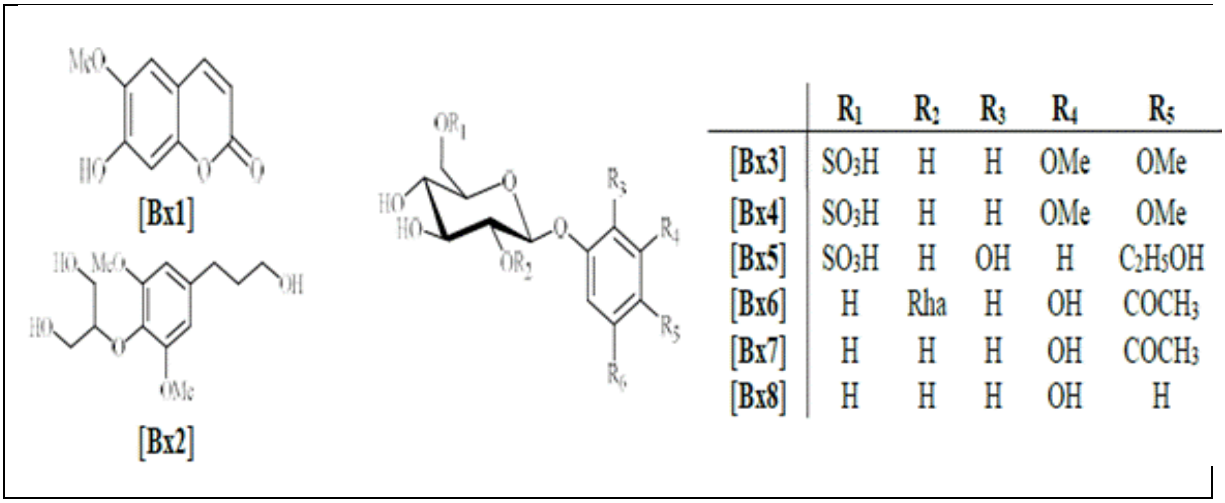
2.2.5. OTROS COMPUESTOS FENÓLICOS.

Adicional a los flavonoides y lignanos, se han encontrado otros tipos de compuestos fenólicos como por ejemplo, la cumarina: escopoletina [Bx1], que ha sido aislada en extractos de CH_2Cl_2 de la corteza de *B. fagaroides* (Mojica *et al.*, 2016), del extracto de MeOH de las raíces de *B. tonkinensis* (Jutiviboonsuk *et al.*, 2005) y del extracto hidroalcohólico de la corteza de *B. grandiflora* (Aguilar Santamaría *et al.*, 2012).

En el extracto de MeOH de la raíces de *B. tonkinensis* colectada en Vietnam se obtuvo el fenilpropanoide: bursefenilpropano [Bx2] (Jutiviboonsuk *et al.*, 2005). En cambio para *B. simaruba* además de la escopoletina, del extracto metanólico de la corteza se han aislado varios compuestos fenólicos, algunos de ellos azufrados: 1-O-β-(6-sulfo)-glucopiranosil-3,4-dimetoxifenilo [Bx3], 1-O-β-(6-sulfo)-glucopiranosil-3,4,5-trimetoxifenilo [Bx4], 1-O-β-(6-sulfo)-glucopiranosil-3,4-dihidroxyfeniletanol [Bx5], 4-neohesperidosilfloroacetofenona [Bx6], 1-O-β-D-glucopiranosil-4-acetil-3,5-dihidroxi-fenilo [Bx7], picraquassiósido D [Bx8] (Maldini *et al.*, 2009b).

Las estructuras de otros compuestos fenólicos hasta ahora identificados en especies de *Bursera* están representadas en la figura 10.

www.bdigital.ula.ve



	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
[Bx3]	SO_3H	H	H	OMe	OMe
[Bx4]	SO_3H	H	H	OMe	OMe
[Bx5]	SO_3H	H	OH	H	C_2H_5OH
[Bx6]	H	Rha	H	OH	$COCH_3$
[Bx7]	H	H	H	OH	$COCH_3$
[Bx8]	H	H	H	OH	H

Figura 10. Otros compuestos fenólicos aislados de especies del género *Bursera*.(Rengifo *et al*.,2017)

En la tabla 4 se ordenan cronológicamente los trabajos fitoquímicos realizados hasta ahora en especies del género *Bursera*.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Tabla 4. Resumen de los antecedentes fitoquímicos para el género *Bursera*.

Año	Especie	Análisis	Compuestos	Referencia
1951	*B. microphylla*	Hojas (aceite esencial)	Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Bradley y Haagen-Smit, 1951
1961	4 especies de *Bursera*	Exudado y látex. (Hx)	Triterpenoides	Tursch y Tursch, 2010
1964	*B. graveolens*	Virutas de duramen (aceite esencial y EtOH)	Terpenoides	Crowley, 1964
1968	*B. microphylla*	Tallos (EE)	Esteroides Lignanos	Bianchi *et al.*, 1968
		Resina	Monoterpenos	Mooney y Emboden Jr., 1968
1969	*B. fagaroides*	Hojas y tallos ($CHCl_3$)	Lignanos	Bianchi *et al.*, 1969
	B. microphylla	Tallos (EE)	Lignanos	Cole *et al.*, 1969
1972	*B. sclechtendalii*	Hojas y tallos ($CHCl_3$)	Lignanos Triterpenoides	McDoniel y Cole, 1972
1973	21 especies de *Bursera*	Partes aéreas (MeOH)	Carbohidratos Diterpenoides Esteroles Taninos Triterpenoides	Domínguez *et al.*, 1973
1977	*B. arida*	Tallos ($CHCl_3$)	Triterpenoides	Ionescu *et al.*, 1977
	B. klugii	Hojas (EtOH)	Triterpenoides	Jolad *et al.*, 1977a
	B. morelensis	Exudado (MeOH)	Lignanos	Jolad *et al.*, 1977b
1983	*B. ariensis*	Exudado (ace)	Lignano	Hernández *et al.*, 1983
1989	*B. leptophloeos*	Ramas (EtOH)	Flavonoides	Souza *et al.*, 1989
1991	*B. delpechiana (Sin. B. linanoe)*	Resina (MeOH)	Triterpenoides	Syamasundar *et al.*, 1991
1992	*B. simaruba*	Resina ($CHCl_3$)	Lignanos	Peraza-Sánchez y Peña-Rodríguez, 1992
1995	*B. delpechiana* (Sin. *B. linanoe*)	Resina (MeOH)	Triterpenoides	Syamasundar y Mallavarapu, 1995
	B. permollis	Tallos (MeOH)	Lignanos	Wickramaratne *et al.*, 1995
	B. simaruba	Resina ($CHCl_3$)	Triterpenoides	Peraza-Sánchez *et al.*, 1995
1996	*B. leptophloeos*	Corteza (MeOH)	Sesquiterpenoides	Barreira *et al.*, 1996
2002	8 especies de *Bursera*	Hojas (MeOH)	Flavonoides	Hernández *et al.*, 2002
	B. simaruba	Frutos (aceite esencial)	Monoterpenoides	Rosales y Ciccio, 2002
2003	*B. graveolens*	Hojas (MeOH)	Esteroides Flavonoides Triterpenoides	Nakanishi *et al.*, 2003
		Madera (EE)	Monoterpenoides	Yukawa e Iwabuchi, 2003
2004	*B. graveolens*	Madera (EE)	Sesquiterpenoides	Yukawa *et al.*, 2004a, 2004b
	B. simaruba	Hojas (Hx)	Lignano	Noguera *et al.*, 2004
	B. tonkinensis	Partes aéreas (aceite es.)	Monoterpenoides.	Hoi *et al.*, 2004

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2005	8 especies de *Bursera*	Corteza (EE)	Hidrocarburos de cadena larga Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Zúñiga *et al.*, 2005
	B. cuneata	Resina	Monoterpenoides Sesquiterpenoides Triterpenoides	De la Cruz-Cañizares *et al.*, 2005
	B. graveolens	Tallos (MeOH)	Lignanos Triterpenoides	Nakanishi *et al.*, 2005
		Corteza (EtOH)	Triterpenoides	Robles *et al.*, 2005
	B. suntui	Madera (EE)	Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Yukawa *et al.*, 2005
	B. kerberi	Tallos (Hx)	Diterpenoides	Hernández *et al.*, 2005
	B. tonkinensis	Raíces (MeOH)	Cumarinas Esteroides Lignanos	Jutiviboonsuk *et al.*,2005
2006	*B. chemapodicta*	Hojas (aceite esencial)	Alcanos cadena corta y derivados no terpenoides	Evans y Becerra, 2006
	B. cuneata	Resina	Triterpenoides	Doménech-Carbó *et al.*, 2006
	B. graveolens	Madera (EE)	Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Yukawa *et al.*, 2006
2007	*B. aloexylon* (Sin. *B. linanoe*)	Hojas (aceite esencial)	Monoterpenoides	Queiroga *et al.*, 2007
	B. graveolens	Tallos (aceite esencial)	Monoterpenoides	Young *et al.*, 2007
2008	*B. hollickii*	Hojas (aceite esencial)	Monoterpenoides	Junor *et al.*, 2008a
		Corteza (aceite esencial)		
	B. simaruba	Hojas (Hx)	Esteroides Terpenoides	Carretero *et al.*, 2008
		Hojas (aceite esencial)	Sesquiterpenoides	Junor *et al.*, 2008b
		Corteza (aceite esencial)	Monoterpenoides	
		Frutos (aceite esencial)		
	B. suntui	Tallos (Hx)	Sesquiterpenoides	García-Gutiérrez *et al.*, 2008
2009	5 especies de *Bursera*	Hojas (CH_2Cl_2)	Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Noge y Becerra, 2009
	B. graveolens	Hojas (aceite esencial)	Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Carmona *et al.*, 2009
		Ramas (aceite esencial)	Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Santana *et al.*, 2009
		Corteza (MeOH)	Triterpenoides	Robles *et al.*, 2005
	B. microphylla	Oleorresina (aceite esencial)	Sesquiterpenoides	Tucker *et al.*, 2009
	B. simaruba	Hojas (MeOH)	Proantocianidinas	Maldini *et al*, 2009b
			Lignanos Flavonoides	Maldini *et al.*, 2009a

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

	B. simaruba (continuación)	Hojas (MeOH)	Compuestos fenólicos	Maldini *et al.*, 2009a
		Hojas (aceite esencial)	Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Sylvestre *et al.*, 2007
2010	*B. aromática*	Hojas, corteza y frutos (aceite esencial)	Sesquiterpenoides	Junor *et al.*, 2010b
	B. delpechiana (Sin. *B. linanoe*)	Hojas y ramas (CH_2Cl_2)	Monoterpenoides	Becerra y Noge, 2010
	B. lunanii	Hojas, corteza y frutos (aceite esencial)	Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Junor *et al.*, 2010a
	B. simaruba	Exudado	Monosacáridos Taninos	Noriega-Ramos *et al.*,2010
	B. tomentosa	Frutos (aceite esencial)	Alcanos Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Moreno *et al.*, 2010a
		Corteza (aceite esencial)	Sesquiterpenoides	Moreno *et al.*, 2010b
2011	*B. fagaroides*	Exudado (MeOH)	Lignanos	Velázquez-Jiménez *et al.*, 2011
	B. velutina	Hojas (CH_2Cl_2)	Alcanos Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Noge *et al.*, 2011
2012	*B. fagaroides*	Tallos (MeOH)	Lignanos	Rojas-Sepúlveda *et al.*, 2012
	B. grandiflora	Corteza ($EtOH-H_2O$)	Cumarinas	Aguilar *et al.*, 2012
2013	*B. fagaroides*	Resina ($CHCl_3$)	Lignanos	Morales-Serna *et al.*, 2013
	B. graveolens	Corteza	Benzofuranoides	Muñoz-Acevedo *et al.*, 2013
		Frutos	Monoterpenoides	
		Hojas	Sesquiterpenoides	
		Ramas	Benzofuranoides	
		Resina	Benzofuranoides Monoterpenoides	
2014	*B. morelensis*	Partes aéreas (aceite esencial)	Monoterpenoides Sesquiterpenoides	Carrera-Martínez *et al.*, 2014
	B. multijuga	Tallos	Diterpenos	Hernández *et al.*, 2014
2015	*B. microphylla*	Resina (MeOH)	Terpenoides Lignanos	Messina *et al.*, 2015
	B. simaruba	Hojas (Hx)	Triterpenos	Álvarez *et al.*, 2015

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2016	*B. fagaroides*	Corteza (CH_2Cl_2)	Lignanos Cumarinas	Mojica *et al.*,2016
2017	*B. inversa*	Semillas (Hx)	Alcanos de cadena larga y derivados	Rengifo *et al.*, 2017
2018	*B. graveolens*	Hojas y corteza (EtOH)	Fenilpropanoides Fenoles Flavonoides	Álvarez *et al.*, 2018
2019	*B. simaruba* *B. tomentosa*	Resina (Hx)	Monoterpenos Sesquiterpenos	Hernández *et al*, 2019
	B. kerberi *B. suntui*	Tallos (Hx)	Monoterpenoides Diterpenoides	Abad del Rio *et al.*; 2019
2020	*B. simaruba*	Corteza (EtOH)	Alcaloides Esteroides Flavonoides Quinonas Triterpenos	Castro *et al.*, 2020

www.bdigital.ula.ve

2.3. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS REPORTADAS PARA ESPECIES DEL GÉNERO *BURSERA*.

La familia Burseraceae se reconoce por ser árboles o arbustos que poseen resinas que van de incoloras a blanco en su corteza, las cuales, en su interior cuentan con canales resiníferos y balsamíferos ricos en aceites esenciales tipo terpenos, lignanos y otros tipos de compuestos, confiriéndole esta mezcla compleja de compuestos, aromas característicos y propiedades medicinales a muchas especies de esta familia (Jaimes, 2009 y Siani *et al.*, 2012). Estas propiedades medicinales nos indican que esta familia de plantas posee actividad biológica específica en algunos casos para tratar enfermedades en el organismo a través de los extractos acuosos y etanólicos de las hojas, corteza, frutos y semillas de muchas especies que han sido mencionados por su capacidad anticancerosa, antioxidante, antimicrobiana, antiséptica, anti-tumoral, antiinflamatoria, anticolesterol, insecticida, analgésica, antialérgica y hepatoprotectora.

Así de esta manera, el estudio de las propiedades farmacológicas atribuidas a las especies del género *Bursera* y su composición química de las diversas estructuras

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

morfológicas (tallos, hojas, corteza), aceites esenciales y resinas confirman gran parte de las aplicaciones hechas por la medicina tradicional sobre las especies que conforma este género principalmente para probar su actividad antiinflamatoria, antibacteriana y anticancerosa. En la tabla 5 se presenta un resumen sobre las distintas propiedades biológicas obtenidas con especies de *Bursera* y/o de los compuestos obtenidos a partir de ellas.

Tabla 5. Actividades biológicas reportadas de especies del género *Bursera*.

Propiedad	Especie	Resultados	Referencia
Antibacteriana	*B. arida*	El extracto de hexano presenta actividad contra *Staphylococcus aureus*.	Canales *et al.*, 2005
	B. simaruba	Los extractos de MeOH de las hojas y tallos presentan una alta actividad contra *Staphylococcus aureus* con valores de MIC 8 y 64 µg/mL respectivamente.	Yasunaka *et al.*, 2005
		Los extractos acuosos y etanólicos presentan actividad contra *Streptococcus mutans* con valores de MIC de 100 y 62,5 µg/mL respectivamente.	Rosas-Piñón *et al.*, 2012
	B. tomentosa	El aceite esencial presenta actividad contra Staphylococcus aureus, *Enterococcus faecalis* y *Salmonella typhi*, con valores MIC de 80 µg/mL, 120 µg/mL y 100 µg/mL, respectivamente.	Moreno *et al.*,2010a
	B. aloexylon (Sin. B. linanoe)	El aceite esencial de las hojas es un inhibidor efectivo contra *Rhodococcus equi* (0,60 mg/mL) y *Staphylococcus epidermidis* (0,15 mg/mL).	Quiroga *et al.*,2007
	B. simaruba	El extracto alcohólico de la corteza presenta actividad inhibitoria contra *Bacilus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus* con valores de MIC de 25 mg/mL.	Rojas y Rodríguez, 2008

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Antibacteriana Antifúngica Antiinflamatoria	*B. odorata (sin. B. fagaroides)*	El extracto de EtOH presenta actividad inhibitoria contra *Mycobacterium tuberculosis* (responsable de la mayoría de los casos de tuberculosis) en un 67 % a 100 µg/mL.	Murillo-Álvarez *et al.*, 2001
	B. simaruba	El extracto de $CHCl_3$ del tronco muestra actividad antifúngica contra *Candida albicans* (100 µg) y *Cladosporium cucumerium* (50 µg). Por su parte el extracto de $CHCl_3$ de la corteza solo es activo frente a *C. albicans* (100 µg).	Rahalison *et al.*,1993
	B. aptera *B. fagaroides,* *B. schlechtendalii* *B. galeottiana* *B. morelensis*	La mayor actividad antibacteriana se observó contra *Staphylococcus epidermidis* y *Salmonella typhimurium* por los extractos de hojas de *B. aptera* (MIC 0.002 mg/mL) y los tallos de *B. fagaroides* (MIC 0.015 mg/mL). El extracto de tallos de *B. morelensis* contra *Fusarium bootii* presentó el mayor efecto antifúngico (menor a 50 µg/mL). La actividad antiinflamatoria de *B. fagaroides* fue de 51,24 % de inhibición del edema (1 mg/oreja) frente al 78,76 % de la indometacina (0,358 mg/oreja).	Sánchez-Monroy *et al*., 2020
	B. fagaroides	Los lignanos aislados [Bl10], [Bl11] y [Bl14] muestran diferentes grados de citotoxicidad contra las células humanas de cáncer nasofaríngeo (KB), de colon (HF-6), de seno (MCF-7) y de próstata (PC-3) con valores de IC50 de 1,49 a 1,0 x10-5 µM.	Mojica *et al.*, 2016
Anticancerosa	*B. graveolens*	Los lignanos aislados [Bl6] y [Bl20] y el lupeol [Bt5] presentan actividad inhibitoria contra las células cancerígenas HT1080 (fibrosarcoma humano) con valores de ED50 de 5,5; 1,9 y 16,7 µg/mL respectivamente.	Nakanishi *et al.*, 2005

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Anticancerosa (continuación)	*B. klugii*	La fracción en cloroformo del extracto etanólico de las hojas mostró actividad contra dos sistemas: leucemia linfática P-388 (3PS) y carcinoma humano epidermoide de nasofaringe (9KB). La actividad contra el sistema PS es debida a los triterpenos aislados ([Bt35] y [Bt36]).	Jolad *et al.*, 1977a
	B. microphylla	Los compuestos ariensina [Bl32], burserano [Bl31] y diacetato de dihidroclusina [Bl19] fueron efectivos contra la línea celular RAW264.7 (cáncer murino): IC50 micromolar.	Messina *et al.*, 2015
	B. morelensis	La deoxipodofilotoxina [Bl5] muestra actividad contra los sistemas PS (leucemia linfática P-388) y KB (carcinoma humano epidermoide de nasofaringe) mientras que morelensina [Bl9] solo presenta actividad contra el sistema PS.	Jolad et al., 1977b
	B. simaruba	El aceite esencial de las hojas es activo contra las células tumorales A-549 (cáncer de pulmón) y DLD-1(adenocarcinoma de colon) con valores de GI50 de 42 ± 2 y 48 ± 2 μg/mL respectivamente. La evaluación indica que el α-humuleno [Bs17] es el posible responsable de la actividad.	Sylvestre *et al.*, 2007
	B. fagaroides	Los resultados sugieren que no se combine la ingestión de algún tipo de té o brebaje preparado con dicha planta cuando se administre difluorometilornitina (DFMO), dado que este procedimiento podría favorecer el desarrollo neoplásico, en lugar de deprimirlo.	Reynoso-Orozco *et al.*, 2008a, 2008b

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

	B. tonkinensis	El extracto de CH_2Cl_2 de las raíces exhibe una citotoxicidad contra las células de KB con un valor de IC50 de 4,1 µg/mL. Además el compuesto aislado 4'-demetildesoxipodofilotoxina [Bl26] exhibe actividad significativa contra las líneas celulares KB, Col2 y LNCaP (IC50 17,7; 23,1 y 10,0 ng/mL respectivamente).	Jutiviboonsuk *et al.*, 2005
	B. fagaroides	El extracto de EtOH de la corteza posee citotoxicidad contra las células de linfoma en ratones murinos L-5178Y con un valor de ED50 de 20 µg/mL. El ensayo *in vivo* muestran que la actividad es dosis y vía de administración /dependiente.	Puebla-Pérez *et al.*, 1998 Puebla-Pérez, 1999
	B. odorata (Sin. *B. fagaroides*)	El extracto de EtOH es citotóxico para las células HCT-116 (cáncer colorrectal humano) con un IC50 < 0,076 µg/mL	Murillo-Álvarez *et al.*, 2001
Anticonceptiva	*B. sclechtendalii* *B. fagaroides*	Extractos acuosos de los tallos presenta un alto grado de aglutinamiento de los espermatozoides, los resultados indican que las proteínas presentes en los extractos son las responsables de la actividad.	Serrano y García-Suárez, 2001
Antiinflamatoria	*B. graveolens*	El extracto hidroalcohólico de las ramas inhibe en un 88.23 % la inflamación producida por aceite de crotón en la oreja de ratón.	Santana et al., 2009
	B. morelensis	El aceite esencial presenta un comportamiento antiinflamatorio positivo con el modelo de edema plantar inducido por carragenina.	Carrera-Martínez *et al.*, 2014
	B. simaruba	El extracto de $CHCl_3$ de la corteza demostró una actividad inflamatoria tópica sobre los edemas inducidos por aceite de crotón en las orejas de ratón con un valor de ID50 143 µg/cm^2 (Control: indometacina: 93 µg/cm^2).	Sosa *et al.*, 2002

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

	B. simaruba (continuación)	El extracto de hexano de las hojas y algunas fracciones inhiben la inflamación inducida por la carragenina en el test de edema plantar. Uno de los principales metabolitos involucrados en esta actividad es la metil-β-peltatina A [Bl1].	Noguera *et al.*, 2004, 2006
Antioxidante	*B. graveolens*	El extracto de las hojas y la corteza, por el contenido de flavonoides y fenoles, podrían ser usados como fuente de nuevos antioxidantes por su gran poder reductor de radicales libres y su baja toxicidad.	Álvarez, 2018
Antiparasitario	*B. simaruba*.	El ensayo de hemolisis realizado con el extracto de la corteza sugiere su uso como un método antimalárico *in vitro* seguro ya que no causan la lisis de los eritrocitos	Castro, 2020
Antiviral	*B. simaruba*	Los compuestos triterpénicos aislados [Bt9-Bt11] mostraron ser activos contra con los virus de herpes HSV-1 y HSV-2.	Álvarez *et al.*, 2015
Espasmolítico	*B. filicifolia*	El extracto etanólico presenta una moderada inhibición de la actividad de contracción de los músculos lisos.	Encarnación-Dimayuga *et al.*,1998b
	B. microphylla	El extracto etanólico muestra una inhibición débil de la actividad de contracción de los músculos lisos	
Tratamiento de obesidad	*B. grandiflora*	Los animales (ratones) tratados con un extracto hidroalcohólico registraron una disminución de los triglicéridos. Las evaluaciones de toxicología revelaron que la administración del extracto no produjo muertes en los animales de experimentación, ni cambios orgánicos o de comportamiento.	Aguilar *et al.*, 2012
Toxicidad	*B. graveolens*	El ensayo de toxicidad aguda con camarones muestra que el extracto acuoso no es tóxico (LC50 > 10000 µg/mL) mientras que el extracto etanólico posee una elevada toxicidad (LC50 = 139 µg/mL).	Bussmann *et al.*, 2011a

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Insecticida	*B. hollicki*	El aceite exhibe actividad tóxica contra *Cylas formicarius elegantulus*, que es la mayor plaga que actúa sobre las batatas (*Ipomoea batatas*). No se observa actividad antioxidante en el aceite con el ensayo de DPPH.	Junor *et al.*, 2008a
Molusquicida	*B. simaruba*	El extracto metanólico de la corteza presenta actividad molusquicida contra *Biomphalaria glabrata* (uno de los huéspedes intermedios de la esquistosomiasis) con un valor de 400 ppm/24 h.	Marston *et al.*, 1996

2.4. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.

La cromatografía es un método muy utilizado en todas las ramas de la ciencia que permite la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas. Ningún otro método de separación es tan potente y de aplicación tan general. Las cromatografías son procesos que abarcan varias técnicas separativas, basadas en propiedades físicas de ciertos materiales, que en interacción con sustancias o mezclas de sustancias, las cuales guardan relación con las propiedades químicas de éstas, permite descomponer una mezcla y analizar sus constituyentes (Chicharro, 2005).

www.bdigital.ula.ve

Con el desarrollo de la tecnología, las técnicas cromatográficas se diversificaron y mejoraron sensiblemente su capacidad para resolver mezclas de distinta naturaleza con métodos sencillos y de mucha aplicabilidad en la separación de compuestos orgánicos.

A continuación se presenta una breve descripción de las principales técnicas cromatográficas disponibles y sus aplicaciones.

2.4.1. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (CCF O *TLC*).

La cromatografía en capa fina (en inglés, *thin layer chromatography* o *TLC*) es una técnica analítica rápida y sencilla que sirve para controlar el grado de separación y de purificación en una mezcla de compuestos. Entre otras cosas permite determinar el grado de pureza de un compuesto, comparar muestras (si dos muestras corren igual en placa podrían ser idénticas, si por el contrario, corren distinto entonces no son la misma sustancia) y

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

realizar el seguimiento de una reacción estudiando cómo desaparecen los reactivos y cómo aparecen los productos finales o, lo que es lo mismo, saber cuándo la reacción ha acabado. La muestra a analizar se deposita cerca de un extremo de una lámina de plástico o aluminio que previamente ha sido recubierta de una fina capa de adsorbente (fase estacionaria). Entonces, la lámina se coloca en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados (eluyente o fase móvil). A medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad a través del adsorbente, se produce un reparto diferencial de los productos presentes en la muestra en el adsorbente según las velocidades relativas de los equilibrios adsorción/desorción sobre la superficie del adsorbente, entre cada uno de los componentes de la muestra y el disolvente.

2.4.2. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA PREPARATIVA (CCFP O *PTLC*).

La cromatografía preparativa se diferencia de la técnica básica en muchos aspectos, desde la preparación de la papilla que debe hacerse con menos agua que lo común hasta la cantidad de muestra que se puede estudiar. Una papilla más espesa ayuda a estabilizar el grosor de las placas que se precisa para una carga de mayor magnitud. Las placas utilizadas en cromatografía preparativa son placas grandes, de aproximadamente 20 x 20 cm cuyo espesor óptimo oscila desde 1mm hasta un máximo de 2 mm.

www.bdigital.ula.ve

La siembra de la muestra se realiza a lo ancho de la placa mediante la ayuda de una jeringuilla o tubo capilar, que el frente sea lo más estrecho posible. Una vez localizados los compuestos, éstos se extraen de la fase estacionaria, uno a uno, con la ayuda de una espátula, sobre un papel de filtro u otro soporte. Posteriormente se coloca cada componente en un erlenmeyer, y se mezcla con un disolvente (metanol). Una vez disuelto el compuesto se filtra varias veces para separar el compuesto y la fase estacionaria. Una vez separado se elimina el disolvente (destilación), con lo cual se obtiene el componente separado.

2.4.3. CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN MOLECULAR.

Las columnas de cromatografía de exclusión molecular separan los componentes según su tamaño molecular en estado disuelto, pues las moléculas más grandes se eluyen primero, esta separación se consigue mediante la exclusión o inclusión diferencial de componentes en las partículas del material de empaquetado. Además de la separación de componentes discretos, esta técnica se utiliza para caracterizar la distribución del peso

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

molecular de compuestos de gran tamaño como los polímeros. Hay distintos tipos de columnas basadas en polímeros y en sílice (Braithwaite y Smith, 1999).

La capacidad de separación depende de las esferas porosas que conforman el gel (fase estacionaria), así cuanto mayor es una molécula menos capacidad tiene de acceder al interior de las esferas del gel y por consiguiente eluirán primero, mientras que las moléculas de menor tamaño molecular pueden penetrar dentro de las esferas porosas por lo que son retenidas durante mayor tiempo en la columna y no estarán presentes en el inicio del recorrido del eluyente. Nos permite separar moléculas grandes como las saponinas de otras más pequeñas como flavonoides, taninos, alcaloides, etc.; también puede ser utilizada para separar las clorofilas presentes de los compuestos de interés.

2.4.4. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA AL VACÍO (CLV O *VLC*).

La cromatografía líquida al vacío (*VLC*, por sus siglas en inglés) es una técnica preparativa que utiliza el vacío para agilizar el paso de solvente por la muestra, y se emplea para obtener un fraccionamiento preliminar de los extractos de las plantas (Hostettmann *et al*., 1998). Esta técnica se utiliza normalmente de forma inicial por su capacidad de arrastre de fases de separación y purificación más precisas como la cromatografía de capa fina. Para esta técnica se coloca la fase estacionaria en un embudo de placa porosa (de diámetro y altura de acuerdo a la cantidad de muestra) unido a un kitasato que está conectado a una línea de vacío y se hace pasar solvente en diferentes fracciones para luego ser concentradas por rotaevaporación.

www.bdigital.ula.ve

2.4.5. CROMATOGRAFÍA DE GASES/MASAS (CG/EM O *GC/MS*).

La CG/EM es la técnica de elección para el análisis de moléculas orgánicas más pequeñas y volátiles como bencenoides, alcoholes y aromáticas, y metabolitos secundarios simples como esteroides, ácidos grasos y hormonas. También se puede aplicar en el estudio de muestras líquidas, gaseosas y sólidas.

La técnica comienza con el cromatógrafo de gases, donde la muestra se volatiliza y separa sus diversos componentes utilizando una columna capilar llena con una fase estacionaria (sólida) y un gas portador inerte como argón, helio o nitrógeno. A medida que los componentes se separan, se eluyen de la columna en diferentes momentos, lo que se conoce como sus tiempos de retención. Los componentes salen de la columna de CG, y se

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

ionizan por el espectrómetro de masas, que utiliza fuentes de ionización química o electrónica. Las moléculas ionizadas se aceleran a través del analizador de masas del instrumento, que es un cuadrupolo o una trampa de iones que los separa en función de sus diferentes relaciones masa/carga (m/z).

Al final de este proceso se realiza la detección con un detector que tiene el equipo y el análisis de iones a través de los picos compuestos que aparecen en función de sus relaciones m/z. Las alturas de los picos, son proporcionales a la cantidad del compuesto correspondiente y se obtienen de forma matemática relacionados con el espectro de masas.

2.5. DETERMINACIÓN ESTRUCTURAL. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS.

Los métodos espectroscópicos son aquellos en los que existe intercambio de energía entre la radiación electromagnética y la materia que será de distinta naturaleza en función de la energía de la radiación utilizada (caracterizada por su longitud de onda). La determinación de estructuras en Química Orgánica se hace con técnicas espectroscópicas como son: Espectroscopia Ultravioleta-visible (UV); Espectroscopia Infrarroja (IR); Espectrometría de Masas (EM) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN); pueden ser bastante específicos a la hora de elucidar la estructura de los componentes de una mezcla y su proporción relativa. En vista de la importancia que representan los métodos espectroscópicos es necesario conocerlos, es por ello que presentamos un resumen de los métodos más utilizados:

www.bdigital.ula.ve

2.5.1. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV).

La espectroscopia UV-Vis es una técnica analítica que mide la cantidad de longitudes de onda discretas de luz UV o visible (radiación con longitud de onda comprendida entre los 160 y 780 nm) que son absorbidas o transmitidas a través de una muestra en comparación con una muestra de referencia o en blanco. Esta propiedad está influenciada por la composición de la muestra, potencialmente proporcionando información sobre lo que hay en la muestra y en qué concentración.

La absorción de esta radiación causa la promoción de un electrón a un estado excitado. Basados en el principio de que los electrones que se excitan al absorber radiación de esta frecuencia son los electrones de enlace de las moléculas, se pueden correlacionar los picos de absorción con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto esto

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

permite identificar los grupos funcionales presentes en una molécula. Las bandas que aparecen en un espectro UV-Vis son anchas debido a la superposición de transiciones electrónicas con diferentes niveles vibracionales tanto de partida como de llegada.

2.5.2. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR).

La espectroscopia infrarroja es una técnica espectroscópica que trata de la interacción entre una molécula y la región infrarroja (4.000-400 cm^{-1}) del espectro electromagnético basada en las vibraciones de los enlaces químicos que esta molécula posee (vibraciones de tensión y deformación). Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando dicha energía incidente sea igual a la necesaria para que se dé una transición vibracional de la molécula. Es decir, la molécula comienza a vibrar de una determinada manera gracias a la energía que se le suministra mediante luz infrarroja. El espectro IR puede dividirse en dos regiones: la región de grupos funcionales (4.000-1.000 cm^{-1}) y la región de la huella dactilar (1.000-400 cm^{-1}); esta última es única para cada compuesto, excepto que se trate de enantiómeros (Stuart, 2004). Por lo tanto, la utilidad de un espectro de infrarrojo reside principalmente a que indica la presencia o ausencia de grupos funcionales en la molécula y además permite confirmar la identidad de un compuesto si se compara con el espectro de una muestra patrón conocida.

www.bdigital.ula.ve

2.5.3. ESPECTROMETRÍA DE MASAS (EM).

La Espectrometría de Masas, EM (MS por sus siglas en inglés), es una técnica usada para identificar compuestos desconocidos, cuantificar compuestos conocidos, y para elucidar la estructura y propiedades químicas de las moléculas; con la espectrometría de masas de alta resolución (EMAR o HRMS) se puede obtener la fórmula molecular real de un compuesto utilizando una pequeña cantidad del mismo. La muestra es ionizada (y por tanto destruida) usando diversos procedimientos de los cuales el más usual y/o utilizado es la técnica denominada de Impacto Electrónico que consiste en el bombardeo de la muestra con una corriente de electrones a alta velocidad. Mediante este proceso, la sustancia pierde algunos electrones y se fragmenta dando diferentes iones, radicales y moléculas neutras. Los iones (moléculas o fragmentos cargados) son entonces conducidos mediante un acelerador de iones a un tubo analizador curvado sobre el que existe un fuerte campo magnético y conducido a un detector sobre el que se recogen los impactos de dichos iones

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

en función de la relación carga/masa de los mismos. Los fragmentos con carga se registran en el espectro de masas según la relación unidad de masa/número de cargas (m/z, donde z=1 generalmente) (Gross, 2004).

2.5.4. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es una espectroscopía de absorción, cuyo fundamento radica en la propiedad que poseen algunos núcleos de absorber energía cuando son sometidos a la acción de radiofrecuencias. Este tipo de radiación provoca un tránsito entre niveles de energía resultante de la interacción de un campo magnético externo con las distintas orientaciones del espín nuclear que arrojan señales particulares de acuerdo a la distribución espacial que posee la molécula.

En la actualidad, no se conoce una técnica más potente que la espectroscopía de RMN en la dilucidación de estructuras moleculares en fase líquida, por lo que esta técnica constituye el pilar básico para la identificación y caracterización de compuestos. La RMN permite resolver la estructura de compuestos orgánicos y organometálicos, posibilita la determinación de la estereoquímica del esqueleto carbonado y proporciona una información valiosa de otros núcleos magnéticamente activos.

www.bdigital.ula.ve

La espectroscopia de RMN se basa en la medición de la energía que absorben los núcleos sometidos a un campo magnético y pueden analizarse una amplia variedad de núcleos, sin embargo los más estudiados en Química Orgánica son ^{1}H y ^{13}C. Los desplazamientos químicos de las señales de RMN de ^{1}H (0-20 ppm) y de ^{13}C (0-220 ppm) dan información acerca del entorno de los hidrógenos (alifáticos, aromáticos, olefínicos, gemínales, vecinales y/o unidos a heteroátomos, entre otros) y de los carbonos (en dobles enlaces, aromáticos, carbonílicos, oxigenados, entre otros). Existen diversos experimentos de RMN, los cuales pueden ser en una o dos dimensiones (1D o 2D), con estos últimos pueden observarse correlaciones homonucleares (entre dos núcleos iguales) o heteronucleares (entre dos núcleos diferentes).

2.5.4.1. <u>Espectros RMN unidimensionales (1D)</u>.

Aunque se expresan en un plano (bidimensional), representan la observación de un solo tipo de núcleo por supresión de los desdoblamientos (interacciones) con otros tipos de núcleos.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2.5.4.1.1. RMN ^{1}H.

Los hidrógenos de una molécula resuenan a desplazamientos químicos distintos en función de la densidad electrónica que les circunda, dado que los electrones en las moléculas modifican el campo magnético percibido por los núcleos, cada núcleo de hidrógeno tendrá una frecuencia de resonancia ligeramente diferente. En términos generales, una mayor densidad electrónica circundante a un hidrógeno hace que este aparezca en un espectro de RMN a desplazamientos químicos pequeños (apantallamiento) en caso contrario una densidad electrónica pequeña alrededor de un hidrógeno hace que este aparezca a desplazamientos químicos más altos (desapantallamiento). Este tipo de espectro da información sobre el número (integral) y los tipos de hidrógenos presentes en la molécula (desplazamiento químico o posición en el espectro, multiplicidad y constantes de acoplamiento) lo que indica el entorno químico del núcleo y permite obtener información sobre los grupos funcionales a los que pertenecen o que están cerca y provee información de su posible distribución espacial.

www.bdigital.ula.ve

2.5.4.1.2. RMN ^{13}C.

El núcleo ^{13}C también muestra resonancia magnética nuclear a pesar de ser unas 400 veces menos sensible que los protones en la RMN. Su abundancia es de sólo el 1,1 % y por ello, no es normal ver el acoplamiento entre núcleos de carbono. Los desplazamientos químicos, también medidos con respecto al tetrametilsilano (TMS), se encuentran en el rango de 0-220 ppm y son afectados por los mismos factores que en el caso de los protones. El número de picos en el espectro indica el número de tipos de carbono magnéticamente diferentes presentes en la sustancia analizada.

Este espectro tan sencillo se obtiene suprimiendo los acoplamientos que se producen entre los átomos de carbono y los de hidrógeno, en caso contrario el espectro obtenido puede ser muy complejo, por lo general, los picos del carbono aparecen como señales múltiples según el número de átomos de hidrógeno unidos al carbono: si hay dos da lugar a un triplete, si hay tres a un cuartete (regla de n+1) de la misma forma que los protones el desplazamiento químico da información de los grupos funcionales (espectro de banda ancha, *BB* por sus siglas en inglés “broad band”). Dependiendo del tipo de experimento realizado se puede obtener información del número de hidrógenos unidos a cada carbono.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Uno de estos experimentos es el DEPT, que es un técnica que permite aumentar la sensibilidad con núcleos poco sensibles que estén acoplados con otro núcleo activo de mayor sensibilidad (^{1}H generalmente). Así, para ^{13}C se hace posible discriminar entre CH, CH_2 y CH_3 y los C cuaternarios (no aparecen en el DEPT) se deducen por diferenciación con el espectro de banda ancha.

2.5.4.2. <u>Espectros RMN bidimensionales (2D)</u>.

Por lo general, las moléculas orgánicas que se estudian son estructuras complejas y difíciles de elucidar, poseen una gran variedad de hidrógenos y carbonos, así como otros elementos enlazados en la cadena, para estas moléculas los experimentos de RMN unidimensionales no son suficientes para determinar su estructura de forma específica y precisa, es por esto que se recurre a los experimentos bidimensionales (2D). Los experimentos 2D más utilizados son aquellos que dan información sobre los acoplamientos entre los hidrógenos de la molécula ($^{1}H,^{1}H$ COSY y $^{1}H,^{1}H$ TOCSY) y sobre los acoplamientos entre los carbonos e hidrógenos de la misma ($^{1}H,^{13}C$ HSQC, $^{1}H,^{13}C$ HMQC y $^{1}H,^{13}C$ HMBC).

www.bdigital.ula.ve

Cada experimento consta de una secuencia de frecuencia de radio (RF) pulsos con períodos de retardo entre ellos. El tiempo, las frecuencias y las intensidades de estos pulsos distinguen los diferentes experimentos de RMN entre sí. Casi todos los experimentos bidimensionales tienen cuatro etapas: el período de preparación, donde se crea una coherencia de magnetización a través de un conjunto de pulsos de RF; el período de evolución, un período de tiempo determinado durante el cual no se entregan pulsos y se permite que los espines nucleares roten libremente; el período de mezcla, donde la coherencia es manipulada por otra serie de pulsos en un estado que dará una señal observable; y el período de detección, en el que la señal de la muestra se observa en función del tiempo, de manera idéntica a la FT-NMR unidimensional.

Las dos dimensiones de un experimento de RMN bidimensional son dos ejes de frecuencia que representan un desplazamiento químico. Cada eje de frecuencia está asociado con una de las dos variables de tiempo, que son la duración del período de evolución (el tiempo de evolución) y el tiempo transcurrido durante el período de detección

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

(el tiempo de detección). Cada uno de ellos se convierte de una serie de tiempo a una serie de frecuencia a través de una bidimensional. Se genera un único experimento bidimensional como una serie de experimentos unidimensionales, con un tiempo de evolución específico diferente en experimentos sucesivos, registrándose la duración total del período de detección en cada experimento. El resultado final es un gráfico que muestra un valor de intensidad para cada par de variables de frecuencia. Las intensidades de los picos en el espectro se pueden representar usando una tercera dimensión. Entre las técnicas espectroscópicas bidimensionales tenemos:

2.5.4.2.1. **COSY (COrrelated SpectroscopY)**.

El primer y más popular experimento de RMN bidimensional es la secuencia de espectroscopia de correlación homonuclear (COSY), que se utiliza para identificar espines que están acoplados entre sí. Consiste en un solo pulso de RF (p1) seguido del tiempo de evolución específico (t1) seguido de un segundo pulso (p2) seguido de un período de medición (t2). Con los experimentos ^{1}H-^{1}H COSY se pueden observar los acoplamientos entre hidrógenos vecinales (2JH-H) y gemínales (3JH-H).

www.bdigital.ula.ve

2.5.4.2.2. TOCSY (TOtal Correlation SpectroscopY).

El experimento TOCSY es similar al experimento COSY, en que se observan picos cruzados de protones acoplados. Sin embargo, se observan picos cruzados no solo para núcleos que están directamente acoplados, sino también entre núcleos que están conectados por una cadena de acoplamientos. Esto lo hace útil para identificar las redes interconectadas más grandes de acoplamientos de espín. Esta capacidad se logra insertando una serie repetitiva de pulsos que provocan una mezcla isotrópica durante el período de mezcla. Los tiempos de mezcla isotrópica más largos hacen que la polarización se extienda a través de un número creciente de enlaces. Permite conectar todos los protones mutuamente apareados con el mismo sistema de spin, además verifica las correlaciones de los protones establecidos mediante el experimento ^{1}H-^{1}H COSY.

2.5.4.2.3. HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence).

HSQC detecta correlaciones entre núcleos de dos tipos diferentes que están separados por un enlace. Este método da un pico por par de núcleos acoplados, cuyas dos coordenadas son los cambios químicos de los dos átomos acoplados. Funciona transfiriendo

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

magnetización desde el núcleo I (generalmente el protón) al núcleo S (generalmente el heteroátomo) usando la secuencia de pulsos; este primer paso se realiza porque el protón tiene una mayor magnetización de equilibrio y, por lo tanto, este paso crea una señal más fuerte. La magnetización luego evoluciona y luego se transfiere de nuevo al núcleo I para su observación. Opcionalmente, se puede usar un paso adicional para desacoplar la señal, simplificando el espectro colapsando multipletes en un solo pico. Las señales desacopladas no deseadas se eliminan ejecutando el experimento dos veces con la fase de un pulso específico invertida; esto invierte los signos de los picos deseados pero no los no deseados, por lo que restar los dos espectros dará solo los picos deseados. En este experimento se observan las correlaciones entre los carbonos y sus respectivos hidrógenos, es decir los acoplamientos H-C directos (1JH-C).

2.5.4.2.4. HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation).

Este experimento 2D permite tener información sobre las correlaciones H-C a través de dos o tres enlaces (2JH-C y 3JH-C). En ocasiones se puede llegar a observar correlaciones hasta cuatro enlaces. Los carbonos cuaternarios pueden ser difíciles de observar en el espectro 1D por su baja sensibilidad; para estos casos, el HMBC es una alternativa mucho más sensible que permite observar y asignar correlaciones de carbonos cuaternarios que tengan 1 protón a dos o tres enlaces. La dificultad de detectar correlaciones de enlaces múltiples es que las secuencias HSQC y HMQC contienen un tiempo de retardo específico entre pulsos que permite la detección solo de un rango alrededor de una constante de acoplamiento específica. Esto no es un problema para los métodos de enlace simple, ya que las constantes de acoplamiento tienden a estar en un rango estrecho, pero las constantes de acoplamiento de enlaces múltiples cubren un rango mucho más amplio y no se pueden capturar todas en un solo experimento HSQC o HMQC.

En HMBC, esta dificultad se supera omitiendo uno de estos retrasos de una secuencia HMQC. Esto aumenta el rango de constantes de acoplamiento que se pueden detectar y también reduce la pérdida de señal por relajación. El costo es que esto elimina la posibilidad de desacoplar el espectro e introduce distorsiones de fase en la señal. Existe una modificación del método HMBC que suprime las señales de un enlace, dejando solo las señales de enlaces múltiples.

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

2.5.4.2.5. NOESY (Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY).

Fundamentalmente, el espectro en dos dimensiones de NOESY muestra todas las combinaciones posibles de protones en la molécula. Un cruce de picos indica que la pareja de protones está separada por menos de 5Å, mientras que la ausencia de pico indica una distancia mayor. En NOESY, la relajación cruzada nuclear Overhauser entre espines nucleares durante el período de mezcla se utiliza para establecer las correlaciones. El espectro obtenido es similar a COSY, con picos diagonales y picos cruzados, sin embargo, los picos cruzados conectan resonancias de núcleos que están espacialmente cercanos en lugar de aquellos que están acoplados entre sí. Los espectros NOESY también contienen picos axiales adicionales que no proporcionan información adicional y pueden eliminarse mediante un experimento diferente invirtiendo la fase del primer pulso.

2.5.4.2.6. ROESY (Rotatory Overhauser Effect SpectroscopY).

Es similar a NOESY, excepto que el estado inicial es diferente. En lugar de observar la relajación cruzada desde un estado inicial de magnetización z, la magnetización de equilibrio se gira sobre el eje x y luego se bloquea el giro mediante un campo magnético externo para que no pueda precesar. Este método es útil para ciertas moléculas cuyo tiempo de correlación rotacional cae en un rango donde el efecto nuclear Overhauser es demasiado débil para ser detectado, generalmente moléculas con un peso molecular alrededor de 1000 Daltons, porque ROESY tiene una dependencia diferente entre el tiempo de correlación y el cruce con la constante de tasa de relajación. En NOESY, la constante de tasa de relajación cruzada va de positiva a negativa a medida que aumenta el tiempo de correlación, dando un rango en el que está cerca de cero, mientras que en ROESY la constante de tasa de relajación cruzada es siempre positiva.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

3. JUSTIFICACIÓN

El género *Bursera* está ampliamente distribuido en las zonas tropicales y presenta un gran potencial farmacológico, usado de forma empírica por sus propiedades curativas. La importancia del presente estudio químico de la especie *Bursera inversa* radica en que esta especie es exclusiva de América y no existen reportes de estudios fitoquímicos acerca de ella. En Venezuela se encuentra *Bursera inversa* y se ha generado el interés de su estudio como consecuencia del uso etnobotánico de esta especie.

4. HIPÓTESIS.

Considerando que las especies del género *Bursera*, biosintetizan metabolitos secundarios como terpenoides, flavonoides, saponinas, entre otros, se puede esperar que:

- Se aíslen compuestos similares en el extracto obtenido a partir de las hojas de la especie *Bursera inversa*, trabajada en metanol como solvente.
- Algunas de las sustancias responsables de las actividades farmacológicas atribuidas al género *Bursera* pueden estar presentes en las hojas de la especie a estudiar.

www.bdigital.ula.ve

Siguiendo estas hipótesis se establecieron los siguientes objetivos:

5. OBJETIVOS.

5.1. Objetivo general.

Aislar, purificar y caracterizar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el extracto metanólico de las hojas de *Bursera inversa*.

5.2. Objetivos específicos.

- Separar y purificar mediante métodos cromatográficos los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en el extracto metanólico de las hojas de *Bursera inversa*.
- Caracterizar las sustancias aisladas mediante las diferentes técnicas de espectroscopia [espectroscopia infrarroja (IR), espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) unidimensional (RMN H^1, RMN $C^{13)}$ y bidimensional (HSQC, HMBC, COSY)], espectrometría de masas (EM) y cualquier otra técnica disponible que sea requerida.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6. EXPERIMENTAL.

El procedimiento experimental seguido para el estudio fitoquímico de *Bursera inversa,* fue el siguiente:

6.1. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL BOTÁNICO.

La recolección del voucher espécimen y de las hojas de *Bursera inversa* se realizó en la zona de La Bancada entre El Coralí y Puerto Concha, en la Hacienda Bella Vista, municipio Colón, estado Zulia (Venezuela).

6.2. DETERMINACIÓN BOTÁNICA.

Para la clasificación de la especie se prepararon muestras testigo (voucher) siguiendo el método de prensado y secado, las cuales se depositaron en el Herbario MER de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (Mérida) y en el herbario "Víctor Manuel Badillo" de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (Maracay). La identificación fue hecha por los profesores José Guevara de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes y Mercedes Castro de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela.

www.bdigital.ula.ve

6.3. TRATAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL.

Las hojas de *Bursera inversa,* fueron separadas de las ramas, separadas del resto de otros materiales vegetales (hongos, líquenes, entre otros), y secada a la sombra al aire libre. Posteriormente se molió y al aserrín obtenido se le realizó una extracción continua (en soxhlet) usando metanol como solvente. La temperatura a usar para la concentración al vacío del extracto, empleando un rotavapor, fue ≤ 40 ^{o}C. El extracto metanólico seco (sin solvente) se suspendió en agua y fue extraído (líquido-líquido) sucesivamente con hexano, diclorometano y *n*-butanol, cada uno de los extractos, una vez concentrados, se trabajaron por separado. Para fines de este estudio se usó el extracto residuo, una vez realizada las extracciones sucesivas con los solventes de menor polaridad. Masa: 34,5 g.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6.4. SEPARACIÓN DE LOS PRODUCTOS.

Para la separación de los productos se decidió: llevarla a cabo mediante métodos cromatográficos. Para ello se utilizó adsorbente recuperado según el método desarrollado en nuestro Laboratorio que consiste en: Lavado de la sílice con agua (12 h x 3), NaOH (2 h x 5), HCl concentrado (hasta pH neutro) y nuevamente con agua (1/2 h x 3). Decantado del adsorbente, secado en estufa durante 72 horas a 100 °C y tamizado.

6.4.1. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 1.

6.4.1.1. Montaje del sistema cromatográfico 1.

El montaje del equipo de percolado para el tratamiento cromatográfico del extracto se realizó en un embudo Buchner instalado sobre un kitasato con una relación de masas adsorbente/extracto de 30:1.

6.4.1.2. Separación cromatográfica 1.

www.bdigital.ula.ve

Se realizaron 128 extracciones (250 mL c/u) con metanol, en el equipo de percolado al vacío. Seguidamente se destilaron en el rotavapor hasta tener una concentración apropiada para capa fina. A las 128 fracciones obtenidas se les realizó cromatografía de capa fina (Si gel/MeOH) para reunir muestras similares por su composición y recorrido. Los resultados obtenidos se condensan en la tabla 6. IMPORTANTE: Hubo muestras que no se analizaron mediante CCF por contaminación fúngica. Adicionalmente, se observaron dos anillos coloridos que quedaron en el sistema de percolado incrustados de forma particular; uno superior y otro inferior, los cuales (adsorbentes + sustancias) fueron removidos con una espátula para su análisis.

Tabla 6. Resultados del sistema cromatográfico 1 (percolado).

Fracciones	1-19	20-36	37-38	39	40-46	47	48-68	69-92	93-128
Reuniones	1-A	-	1-B	1-C	-	1-D	-	1-E	1-F
Características		*	*	Sólido	*	Sólido	*		

*Contaminadas por hongos.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Se realizó CCF de estas series usando metanol como solvente, sin embargo no existió separación del punto de aplicación, lo que indicó una mayor polaridad de las muestras; por lo tanto se realizaron pruebas con mezcla de metanol-agua usando placas de sílice, celulosa y poliamida para disminuir la retención de las muestras y se aumentó el número de recorridos, sin resultados favorables.

Se decidió continuar el trabajo experimental con la reunión SC1-C (fracción 39) por su aspecto físico (sólido marrón intenso) y su comportamiento en CCF usando agua como eluyente.

6.4.2. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 2.

6.4.2.1. Montaje del sistema cromatográfico 2.

Se procedió a preparar una columna de plástico (Θ: 5,0 cm; h: 50 cm) para trabajar la reunión SC1-C con una relación adsorbente/muestra ≈ 100:1 (500 g: 4,994 g).

www.bdigital.ula.ve

6.4.2.2. Separación cromatográfica 2.

Una vez eluida la columna con $MeOH/H_2O$ 1:1, se cortó en 8 trozos iguales (≈ 6 cm c/u), se les retiró mecánicamente la cobertura plástica, se lavó el adsorbente con agua para separarlo de los productos contenidos; se concentraron las fracciones para pasarlas a tubos de ensayo identificados. Se analizan por CCF usando una mezcla de agua-metanol 1:1. Los resultados obtenidos se condensan en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados del sistema cromatográfico 2 (columna plástica).

Fracciones	A	B	C	D	E	F	G	H
Características	✓	X	✓	X	X	X	X	X
Peso (g)	0,102		0,094					

Considerando la apariencia física y la simplicidad observada en CCF se decidió analizar las fracciones SC2-A y SC2-C mediante cromatografía de columna.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6.4.3. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 3.

6.4.3.1. <u>Montaje del sistema cromatográfico 3</u>.

Se procedió a preparar una columna vidrio (Θ: 1,0 cm; h: 50 cm) para trabajar la reunión SC2-A con una relación adsorbente/muestra ≈ 100:1 (10,0 g: 102 mg).

6.4.3.2. <u>Separación cromatográfica 3</u>.

Una vez eluida la columna, primeramente con 50 mL de una mezcla de MeOH/H_2O 1:1, y luego con 50 mL de agua; se concentraron las fracciones para pasarlas a tubos de ensayos identificados. Se analizaron por CCF utilizando como solvente el usado en cada caso para la elución (tabla 8).

Tabla 8. Resultados del sistema cromatográfico 3 (columna vidrio SC2-A).

Fracciones	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reuniones	A					B				
Solvente	MeOH/H_2O 1:1					H_2O				
Características	1 compuesto impuro (54 mg)					1 compuesto impuro (65 mg)				

www.bdigital.ula.ve

6.4.4. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 4.

6.4.4.1. <u>Montaje del sistema cromatográfico 4</u>.

Se procedió a preparar 6 placas de vidrio (20 x 20 cm; espesor: 0,50 cm) para cromatografía de capa fina preparativa para trabajar la reunión SC3-A con una relación muestra/placa ≈ 15 mg).

6.4.4.2. <u>Separación cromatográfica 4</u>.

Se realizó el desarrollo usando una mezcla de MeOH/H_2O (1:1) x 3 recorridos; se marcó la banda del compuesto, se extrajo con metanol y se concentró a sequedad obteniéndose 10 mg de **CROS-01**.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6.4.5. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 5.

6.4.5.1. Montaje del sistema cromatográfico 5.

Se procedió a preparar 6 placas de vidrio (20 x 20 cm; espesor: 0,50 cm) para cromatografía de capa fina preparativa para trabajar la reunión SC3-B con una relación muestra/placa ≈ 15 mg).

6.4.5.2. Separación cromatográfica 5.

Se realizó el desarrollo usando una mezcla de MeOH/H_2O (1:1) x 3 recorridos; se marcó la banda del compuesto, se extrajo con metanol y se concentró a sequedad obteniéndose 12 mg de **CROS-02**.

6.4.6. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 6.

www.bdigital.ula.ve

6.4.6.1. **Montaje del sistema cromatográfico 6.**

Se procedió a preparar una columna vidrio (Ɵ: 1,0 cm; h: 50 cm) para trabajar la reunión SC2-C con una relación adsorbente/muestra ≈ 100:1 (10 g: 94 mg).

6.4.6.2. **Separación cromatográfica 6.**

Una vez eluida la columna, primeramente con 50 mL de una mezcla de MeOH/H_2O 1:1, y luego con 50 mL de agua; se concentraron las fracciones para pasarlas a tubos de ensayos identificados. Se analizaron por CCF utilizando como solvente el usado en cada caso para la elución (tabla 9).

Tabla 9. Resultados del sistema cromatográfico 4 (columna vidrio SC2-C).

Fracciones	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Reuniones	A					B				
Solvente	MeOH/H_2O 1:1					H_2O				
Características	1 compuesto impuro					1 compuesto impuro				

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6.4.7. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 7.

6.4.7.1. Montaje del sistema cromatográfico 7.

Se procedió a preparar 10 placas de vidrio (20 x 20 cm; espesor: 0,50 cm) para cromatografía de capa fina preparativa para trabajar la reunión SC6-A con una relación muestra/placa ≈ 20 mg).

6.4.7.2. Separación cromatográfica 7.

Se realizó el desarrollo usando una mezcla de MeOH/H_2O (1:1) x 3 recorridos; se marcó la banda del compuesto, se extrajo con metanol y se concentró a sequedad obteniéndose 23,5 mg de **CROS-03**.

6.4.8. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 8.

6.4.8.1. Montaje del sistema cromatográfico 8.

www.bdigital.ula.ve

Se procedió a preparar 18 placas de vidrio (20 x 20 cm; espesor: 0,50 cm) para cromatografía de capa fina preparativa para trabajar la reunión SC6-B con una relación muestra/placa ≈ 20 mg).

6.4.8.2. Separación cromatográfica 8.

Se realizó el desarrollo usando una mezcla de MeOH/H_2O (1:1) x 3 recorridos; se marcó la banda del compuesto, se extrajo con metanol y se concentró a sequedad obteniéndose 35,6 mg de **CROS-04**.

En vista de las cantidades de compuestos obtenidas, se decidió enviar los compuestos: CROS-3 y CROS-4, para realizarle los estudios espectroscópicos en la Universidad de Cádiz-España. Por razones de solubilidades, "argumentadas por los analistas", los compuestos no fueron analizados.

Luego de no recibir los resultados del trabajo anterior se decidió: primeramente analizar, por separado, los 2 anillos de sustancias retenidos en el embudo durante el proceso del percolado inicial (SC-1); luego, la reunión SC1-A.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6.4.9. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES DEL ANILLO INFERIOR RESIDUAL (MENOS POLAR) DEL SC-1.

Se realizó el montaje de un extractor sólido-líquido (soxhlet); se introdujo en el dedal de teflón la sílice contentiva del anillo residual inferior del SC-1 y se extrajo primeramente con MeOH (5 horas) y posteriormente con agua (5 horas), se concentraron ambos extractos al vacío, se analizaron por CCF y se determinó que ambos extractos eran idénticos y mostraron un compuesto mayoritario (CROS-5) ligeramente contaminado por impurezas coloridas, por lo que se decidió purificarlo mediante CCFP.

6.4.10. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 9.

6.4.10.1. <u>Montaje del sistema cromatográfico 9</u>.

Se procedió a preparar una columna vidrio (carbón activado; Θ: 0,5 cm; h: 8 cm) para purificar el compuesto CROS-5, con una relación adsorbente/muestra ≈ 10:1 (10 g: 102 mg).

www.bdigital.ula.ve

6.4.10.2. <u>Separación cromatográfica 9</u>.

Una vez eluida la columna con 50 mL de agua; se concentraron las fracciones para pasarlas a tubos de ensayos identificados. Se analizaron por CCF utilizando agua como solvente, y se comprobó la pureza del compuesto CROS-5 (68 mg).

6.4.11. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES DEL ANILLO SUPERIOR RESIDUAL (MÁS POLAR) DEL SC-1.

Se realizó el montaje de un extractor sólido-líquido (soxhlet); se introdujo en el dedal de teflón la sílice contentiva del anillo residual superior del SC-1 y se extrajo primeramente con MeOH (5 horas) y posteriormente con agua (5 horas), se concentraron ambos extractos al vacío, se analizaron por CCF y se determinó que ambos extractos eran idénticos y mostraron un compuesto mayoritario (CROS-6) ligeramente contaminado por impurezas coloridas, por lo que se decidió purificarlo mediante CCFP.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6.4.12. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 10.

6.4.12.1. <u>Montaje del sistema cromatográfico 10</u>.

Se procedió a preparar una columna vidrio (carbón activado; Ɵ: 0,5 cm; h: 8 cm) para purificar el compuesto CROS-6, con una relación adsorbente/muestra ≈ 10:1 (11 g: 128 mg).

6.4.12.2. <u>Separación cromatográfica 10</u>.

Una vez eluida la columna con 50 mL de agua; se concentraron las fracciones para pasarlas a tubos de ensayos identificados. Se analizaron por CCF utilizando agua como solvente, y se comprobó la pureza del compuesto CROS-6 (98 mg).

6.4.13. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 11.

6.4.13.1. <u>Montaje del sistema cromatográfico 11</u>.

www.bdigital.ula.ve

Se procedió a preparar una columna vidrio (Ɵ: 2,5 cm; h: 50 cm) para trabajar la reunión SC1-A con una relación adsorbente/muestra ≈ 100:1 (10,0 g: 102 mg).

6.4.13.2. <u>Separación cromatográfica 11</u>.

Una vez eluida la columna, primeramente con 500 mL de MeOH, después con 500 mL de mezclas de MeOH/H_2O 3:1, 1:1 y 1:3; finalmente con 500 mL de agua; se concentraron las fracciones para pasarlas a tubos de ensayos identificados, se analizaron por CCF utilizando como eluyente una mezcla 1:1 de 1,4-dioxano/agua (tabla 10).

Tabla 10. Resultados del sistema cromatográfico 11 (columna vidrio SC1-A).

Fracciones	1	2-3	4-5	6-9	10	11-13	14-15	16-17	18	19	20	21	22
Reuniones	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
Solvente	MeOH			MeOH/H_2O 3:1		MeOH/H_2O 1:1		MeOH/H_2O 1:3				H_2O	
CCF													

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Características	2 componentes	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario	1 componente mayoritario
		SC-12 [CC; adsorbente: C (activado); Solvente: MeOH/H_2O (1:1)]										
Características	2 componentes	1 componente puro	1 componente puro			1 componente puro				1 componente puro	1 componente puro	1 componente puro

www.bdigital.ula.ve

Debido a la presencia de impurezas coloridas en las reuniones B-M se decidió cromatografiarlas por separado en columnas (carbón activado; Θ: 0,5 cm; h: 8 cm) para purificar los compuestos, SC-12.

6.4.14. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 12.

6.4.14.1. <u>Montaje del sistema cromatográfico 12</u>.

Se procedió a preparar 12 columnas de vidrio (carbón activado; Θ: 0,5 cm; h: 8 cm) para purificar los compuestos SC11-D a M, con una relación adsorbente/muestra ≈ 10:1.

6.4.14.2. <u>Separación cromatográfica 12</u>.

Una vez eluida la columna con 50 mL de MeOH/H_2O; se concentraron las fracciones para pasarlas a tubos de ensayos identificados. Se analizaron por CCF utilizando 1,4-dioxano/agua como eluyente, se comprobó la pureza de los compuestos y se reunieron los compuestos idénticos (tabla 8).

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

6.4.15. SISTEMA CROMATOGRÁFICO 13.

6.4.15.1. <u>Montaje del sistema cromatográfico 13</u>.

Se procedió a preparar 4 placas de vidrio (20 x 20 cm; espesor: 0,50 cm) para cromatografía de capa fina preparativa para trabajar la reunión SC11-A con una relación muestra/placa ≈ 20 mg).

6.4.15.2. <u>Separación cromatográfica 13</u>.

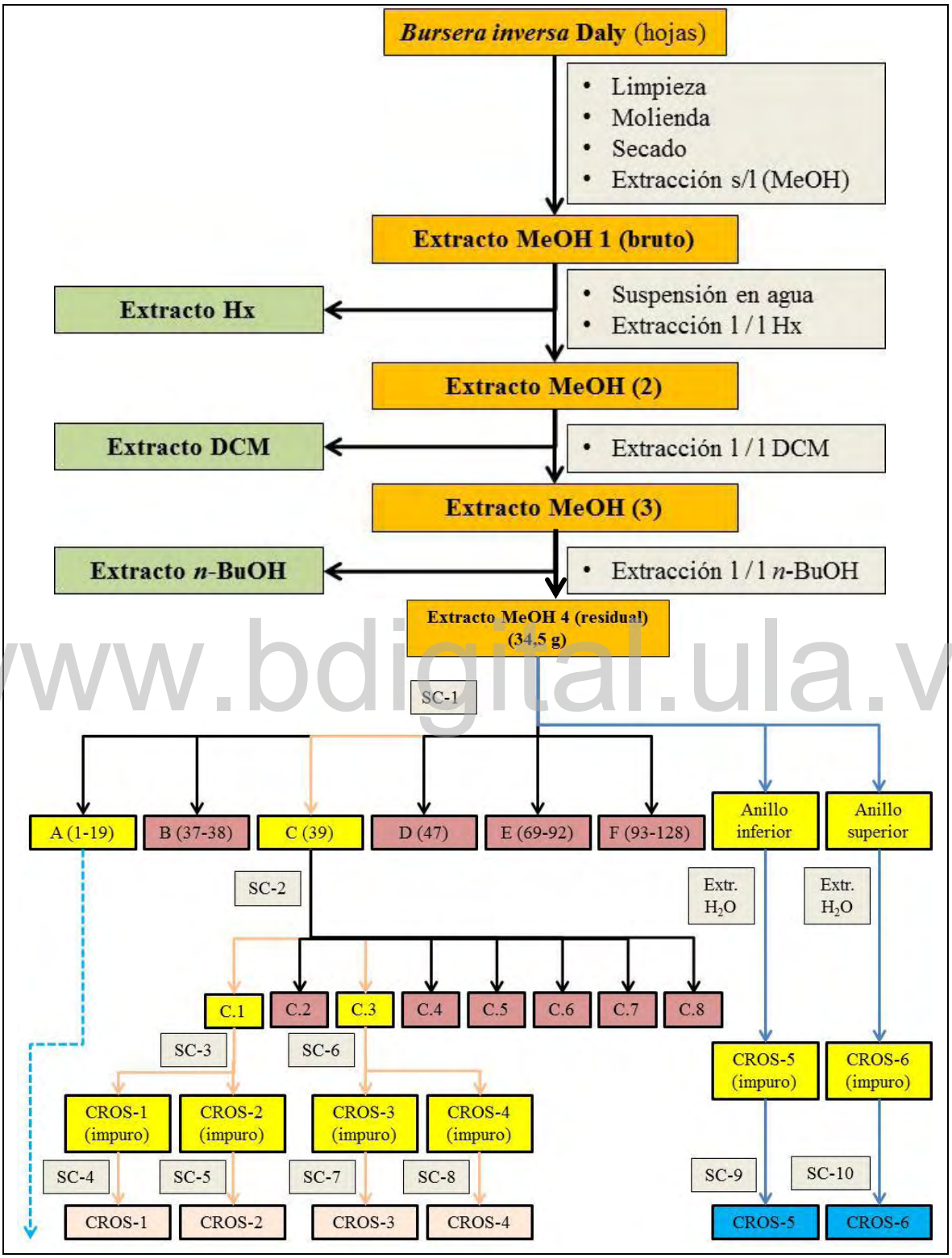
Se realizó el desarrollo usando una mezcla de MeOH/H_2O (1:1); se marcaron las bandas de los compuestos, se extrajeron con metanol y se concentraron. Accidentalmente, se rompió el envase contentivo de uno de los 2 compuestos purificados.

Luego de las reuniones realizadas, los compuestos separados fueron etiquetados como CROS-7; CROS-8; CROS-9; CROS-10; CROS-11; CROS-12 y CROS-13, se pesaron y se enviaron para su análisis espectroscópico.

www.bdigital.ula.ve

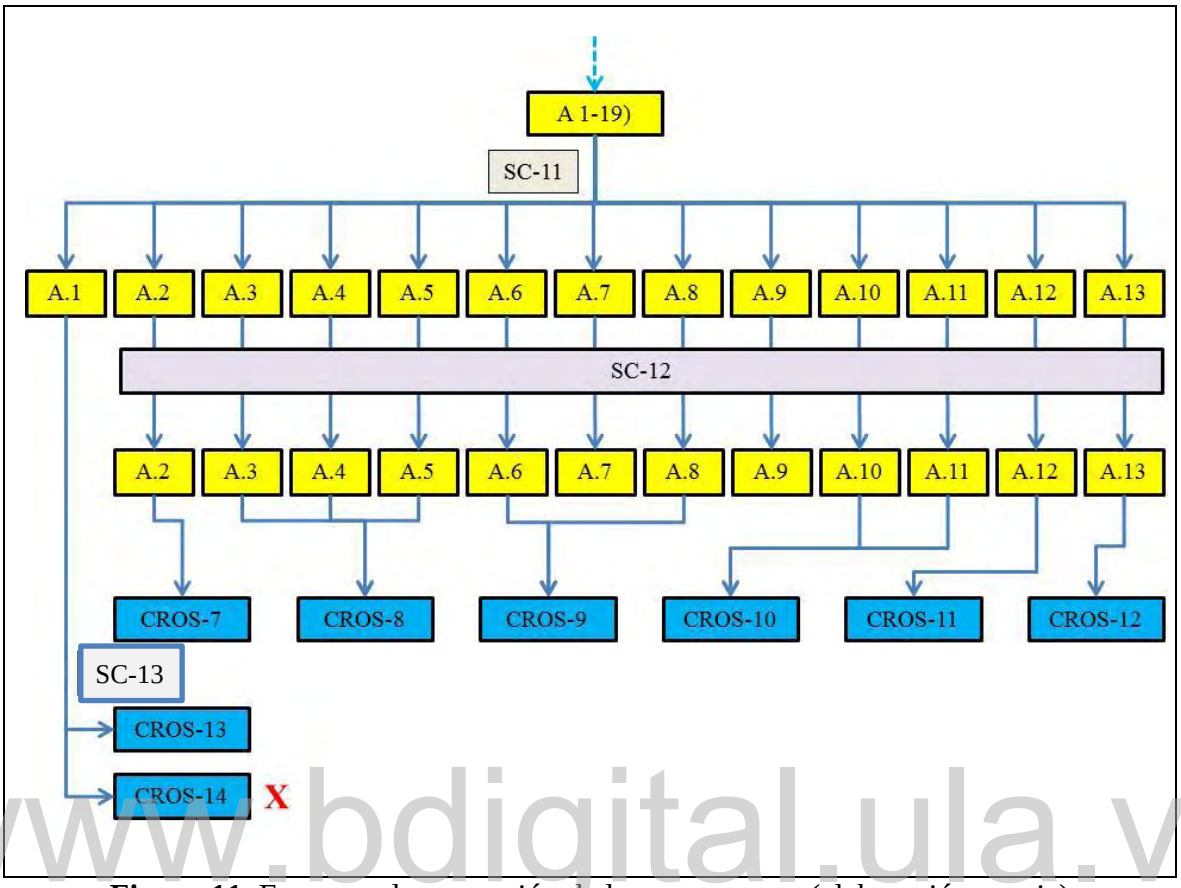
La separación de los productos se esquematiza en la figura 11.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual



www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual



www.bdigital.ula.ve

Figura 11. Esquema de separación de los compuestos.(elaboración propia)

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1. COMPUESTO CROS-1.

El compuesto CROS-1 (10 mg) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-4.

7.2. COMPUESTO CROS-2.

El compuesto CROS-2 (12 mg) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-5.

7.3. COMPUESTO CROS-3.

El compuesto CROS-3 (23,5 mg) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-7.

7.4. COMPUESTO CROS-4.

El compuesto CROS-4 (35,6 mg) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-8.

Los compuestos CROS-1, CROS-2, CROS-3 y CROS-4, fueron enviados a la Universidad de Cádiz (España) en el año 2019 para su análisis espectroscópico (favor realizado por el profesor Alberto Oliveros mediante contacto realizado por el profesor Carlos Ayala). Se recibieron resultados luego de año y medio debido al inicio de la pandemia COVID-19, sin embargo estos resultados no presentaron datos confiables para el estudio e incluso los espectros presentaban mucho ruido y poca información.

www.bdigital.ula.ve

7.5. COMPUESTO CROS-5.

El compuesto CROS-5 (3.2 mg; IR figura 12) fue obtenido del SC-9.

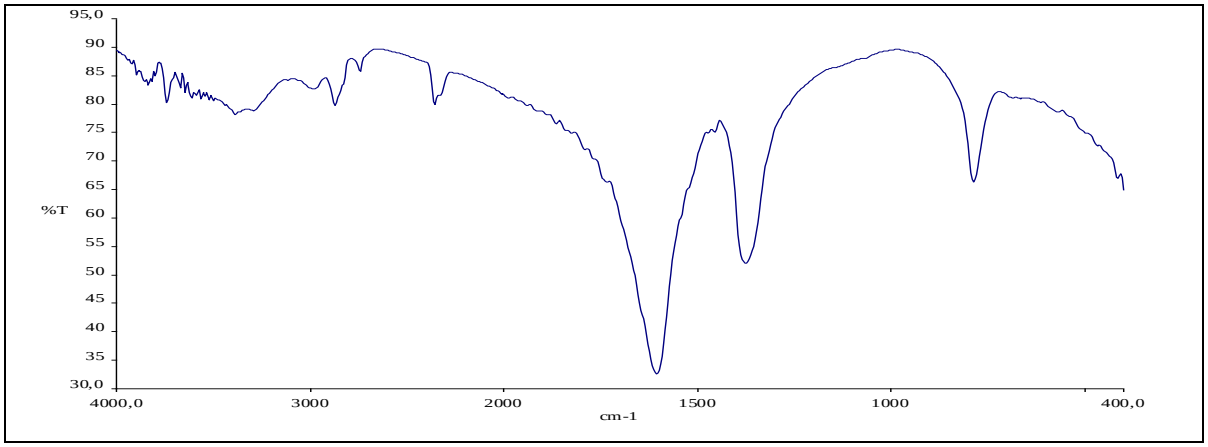


Figura 12. Espectro IR de CROS-5.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.6. COMPUESTO CROS-6.

El compuesto CROS-6 (2.7 mg; IR figura 13) fue obtenido del SC-10.

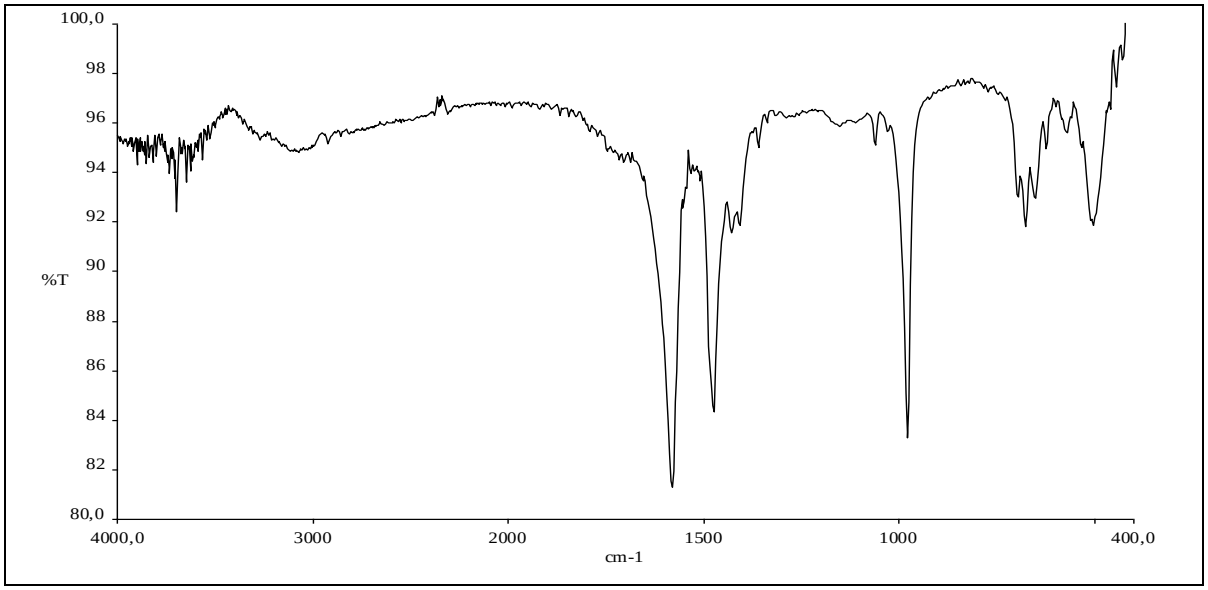


Figura 13. Espectro IR de CROS-6.

www.bdigital.ula.ve

7.7. COMPUESTO CROS-7.

El compuesto CROS-7 (12.5 mg; IR figura 14) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-12 aplicado a la fracción A-2 del SC-11.

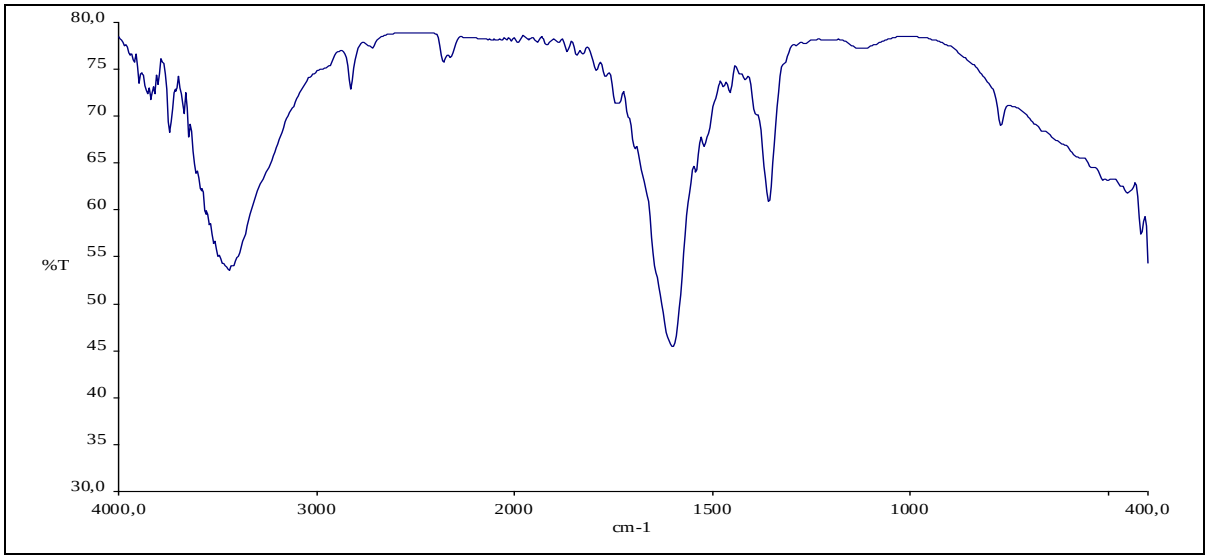


Figura 14. Espectro IR de CROS-7.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.8. COMPUESTO CROS-8.

El compuesto CROS-8 (58.6 mg; IR figura 15) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-12 aplicado a las fracciones A-3 – A-5 del SC-11.

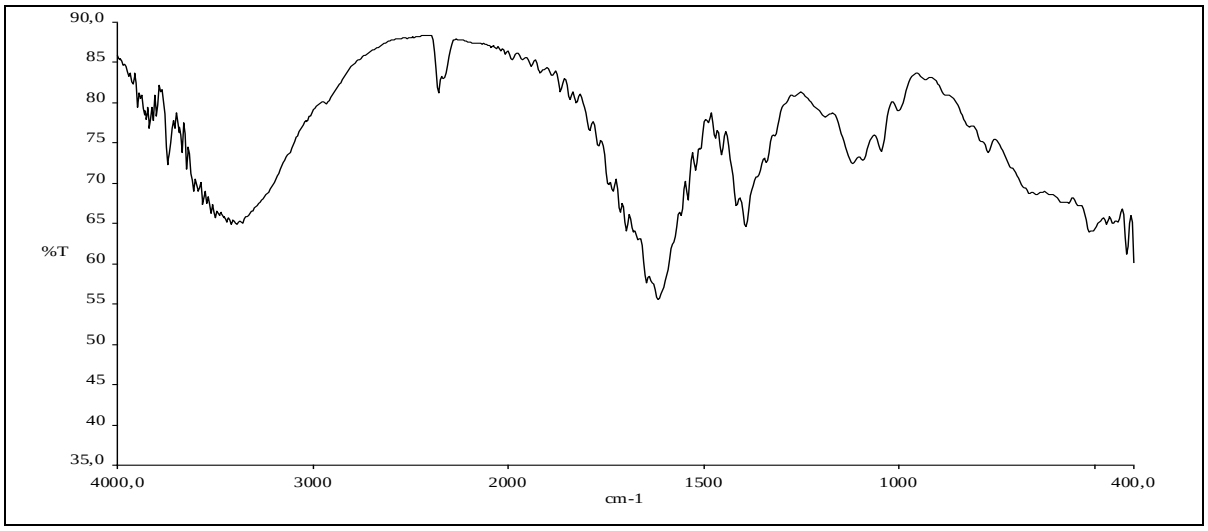


Figura 15. Espectro IR de CROS-8.

www.bdigital.ula.ve

7.9. COMPUESTO CROS-9.

El compuesto CROS-9 (23.7 mg; IR figura 16) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-12 aplicado a las fracciones A-6 – A-8 del SC-11.

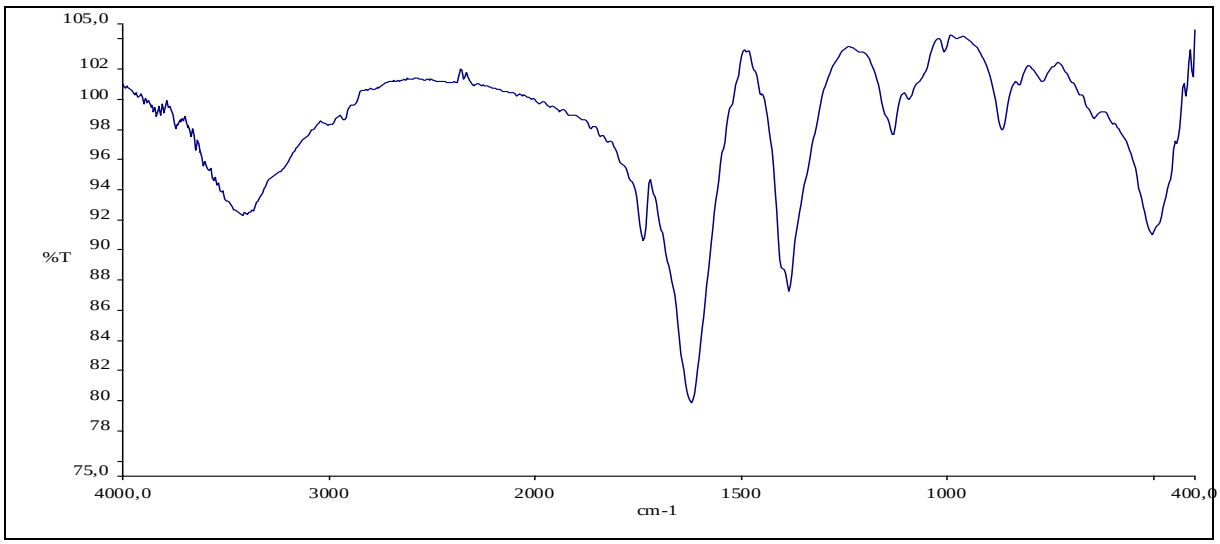


Figura 16. Espectro IR de CROS-9.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.10. COMPUESTO CROS-10.

El compuesto CROS-10 (6.5 mg; IR figura 17) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-12 aplicado a las fracciones A-10 – A-11 del SC-11.

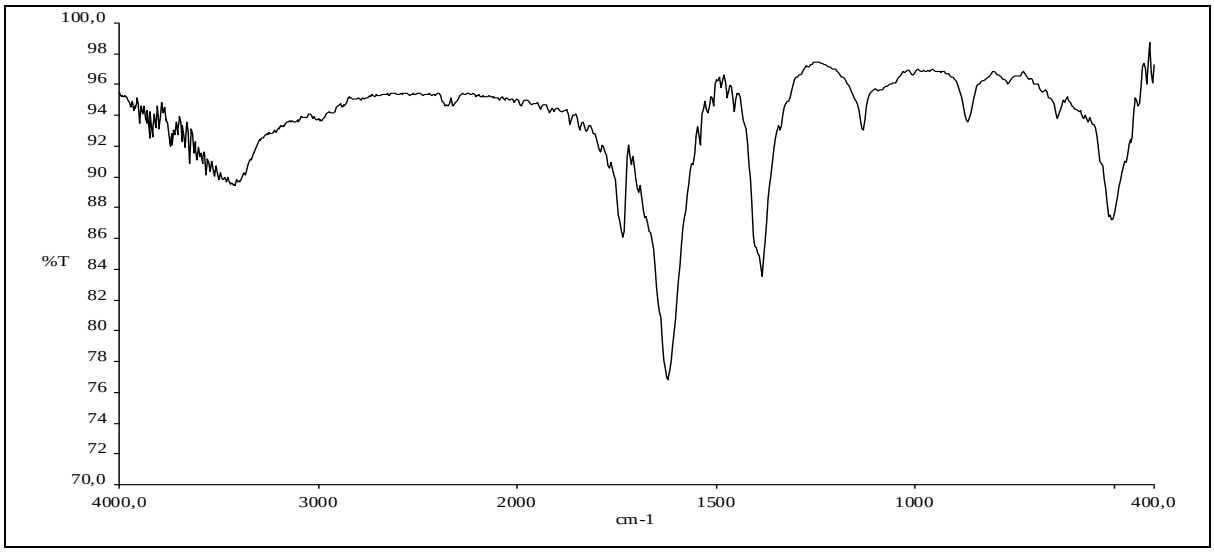


Figura 17. Espectro IR de CROS-10.

www.bdigital.ula.ve

7.11. COMPUESTO CROS-11.

El compuesto CROS-11 (5.1 mg; IR figura 18) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-12 aplicado a la fracción A-12 del SC-11.

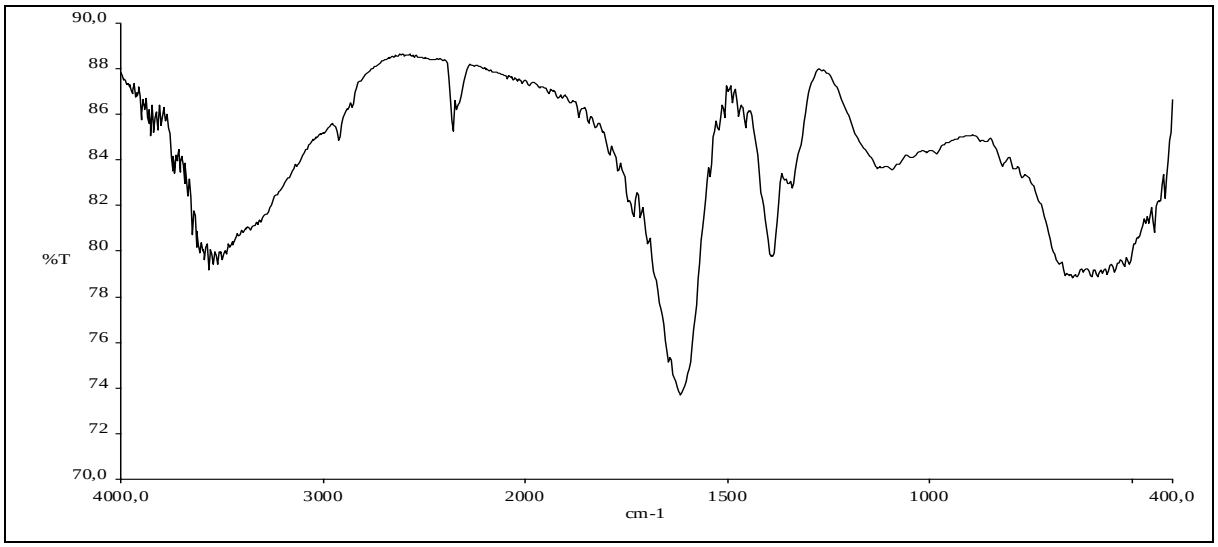


Figura 18. Espectro IR de CROS-11.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.12. COMPUESTO CROS-12.

El compuesto CROS-12 (10.5 mg; IR figura 19) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-12 aplicado a la fracción A-13 del SC-11.

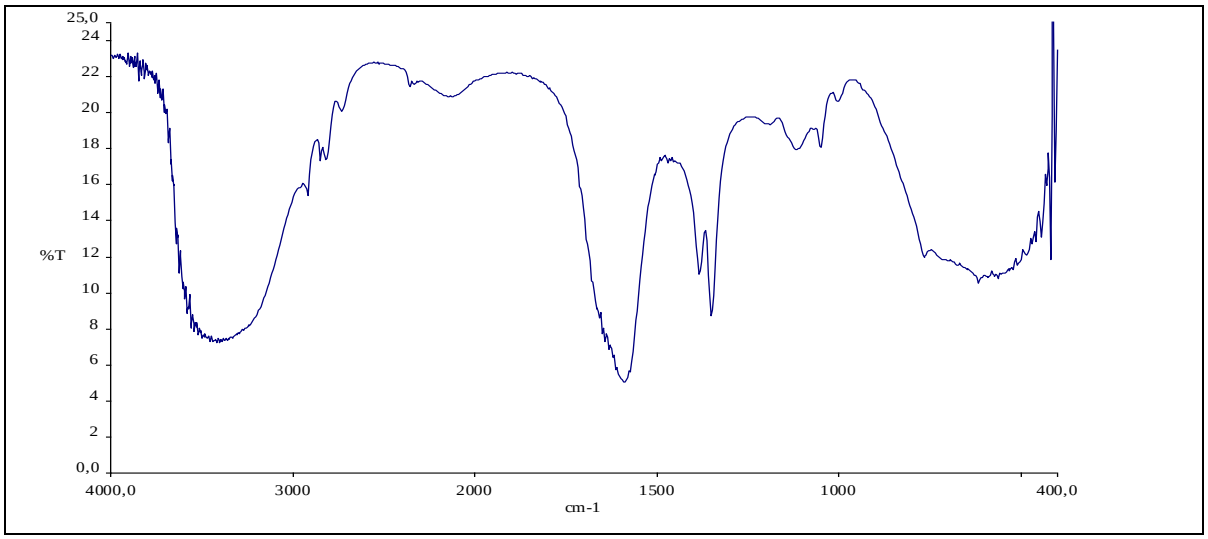


Figura 19. Espectro IR de CROS-12.

www.bdigital.ula.ve

Los espectros IR de los compuestos CROS-5 al CROS-12 se determinan en el Espectrofotómetro de absorción de radiación infrarroja (IR), Perkin Elmer, modelo Spectrum 2000 del Laboratorio de Espectroscopia Molecular (LEM) de la Facultad de Ciencias ULA-Mérida por el Dr. Carlos Ayala. De modo general, podemos inferir que los compuestos 5 y 7-12 corresponden probablemente a azúcares, mientras que el compuesto 6 tiene una estructura atípica (ausencia de estiramiento C-H, y ausencia de grupos O-H). Posteriormente fueron enviados a la Universidad de Buenos Aires (Argentina) para su análisis espectroscópico (favor realizado por la profesora Mayra Rengifo). Estamos a la espera del envío de los resultados.

7.13. COMPUESTO CROS-13.

El compuesto CROS-13 (14.8 mg) fue obtenido del sistema cromatográfico SC-13 aplicado a la fracción A-1 del sistema cromatográfico SC-11, fue enviado para la Universidad de Buenos Aires (Argentina) para su análisis espectroscópico (favor realizado por la profesora Mayra Rengifo) presenta los siguientes resultados espectroscópicos:

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.13.1. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA DEL COMPUESTO CROS-13.

El espectro IR del compuesto es mostrado en la figura 20, y las bandas características de alcanos, alquenos y alcoholes observadas en el espectro se presentan en la tabla 11.

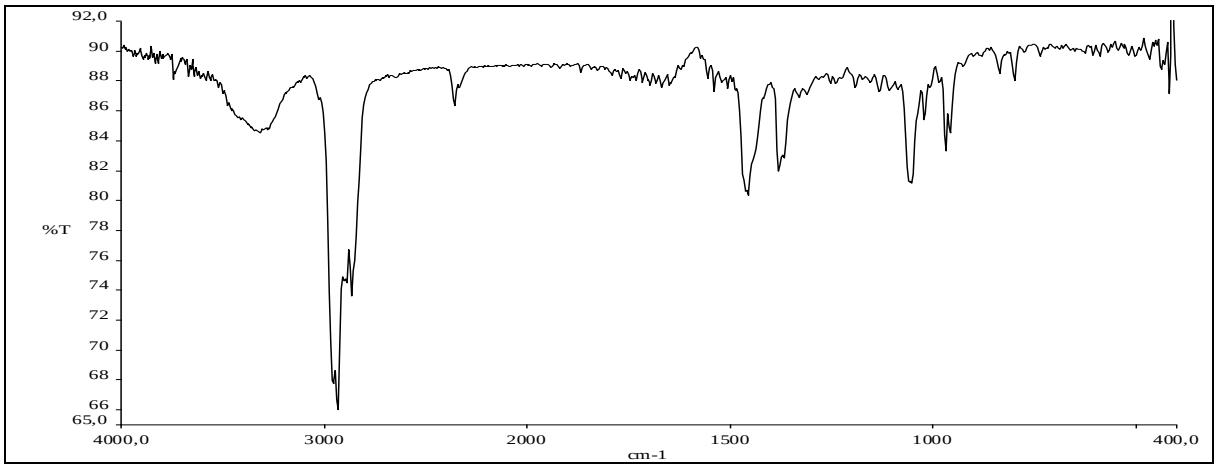


Figura 20. Espectro IR de CROS-13.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 11. Absorciones relevantes en el espectro IR de CROS-13.

Grupo funcional	Alcohol (-OH)			Alquenos					Alcanos	
				Disustituido trans			*Trisustituido*		$-CH_3$	$-CH_2-$
ν (cm^{-1})	3.200	1.090	1.350	973	1.671	3.012	790	1.685	(a) 2.973 (s) 2.885	(a) 2.940 (s) 2.870
Tipo de vibración	*t* O-H	*t* C-O	*dep* O-H	*dfp* =C-H	*t* C=C	*t* =C-H	*dfp* =C-H	*t* C=C	*t* -C-H	*t* -C-H

7.13.2. ESPECTROSCOPIA RMN ^{1}H DEL COMPUESTO CROS-13.

En su espectro de RMN ^{1}H (figura 21), resaltan las señales correspondientes a tres protones vinílicos en la región comprendida entre 5,0 y 5,5 ppm; la señal correspondiente a un hidrógeno geminal a un átomo de oxígeno a aproximadamente 3,5 ppm; protones alílicos entre 1,9 y 2,4 ppm; la presencia de varios grupos metilos a campo alto entre 0,6 y 1,1 ppm, y una gran cantidad de hidrógenos unidos a carbonos hibridizados sp^3 entre 0,5 y 1,8 ppm. El análisis preliminar sugiere la presencia de un triterpenoide o un esteroide.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

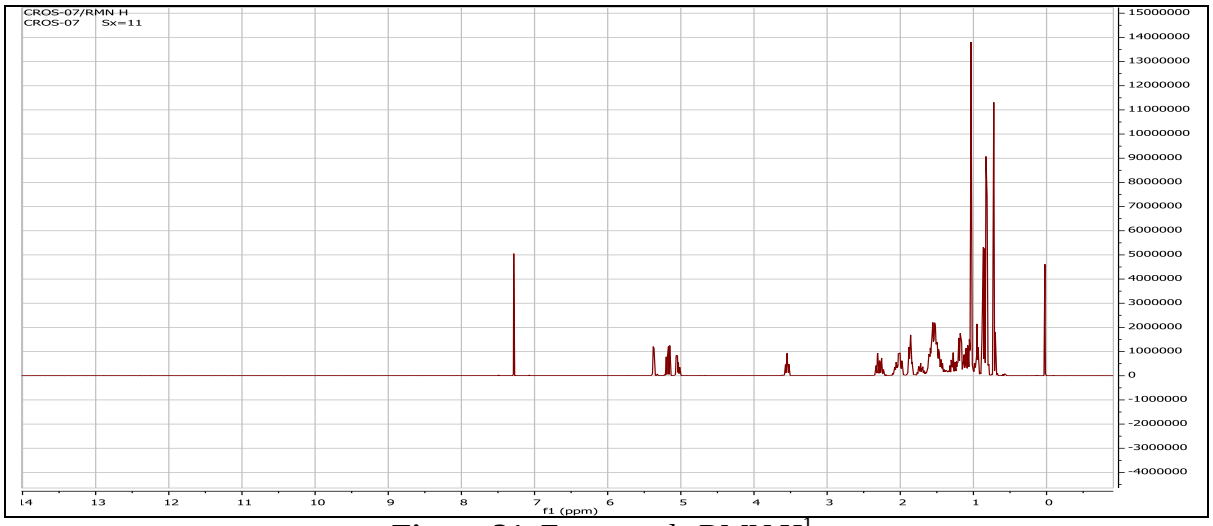


Figura 21. Espectro de RMN H^1.

El análisis detallado de la zona de los protones olefínicos (figura 22) muestra un doblete de tripletes (*ddd*; $J_{6,7ax}$: 5.4 Hz; $J_{6,4ec}$=$J_{6,7ec}$: 2.2 Hz) a δ_H: 5.37 correspondiente a un doble enlace endocíclico, y otros dos protones olefínicos (relacionados entre sí) a δ_H: 5.18 y 5.04 que presentan una multiplicidad de doblete de doblete cada uno ($J_{22,23}$: 15,2 Hz; $J_{22,20}$: 8,6 Hz y $J_{23,22}$: 15,2 Hz; $J_{23,24}$: 8,6 Hz), correspondiente a un doble enlace con configuración *trans*, con un solo átomo de hidrógeno sobre cada uno de los carbonos alílicos, determinada por la constante de acoplamiento cuyo valor es 15,78 Hz.

www.bdigital.ula.ve

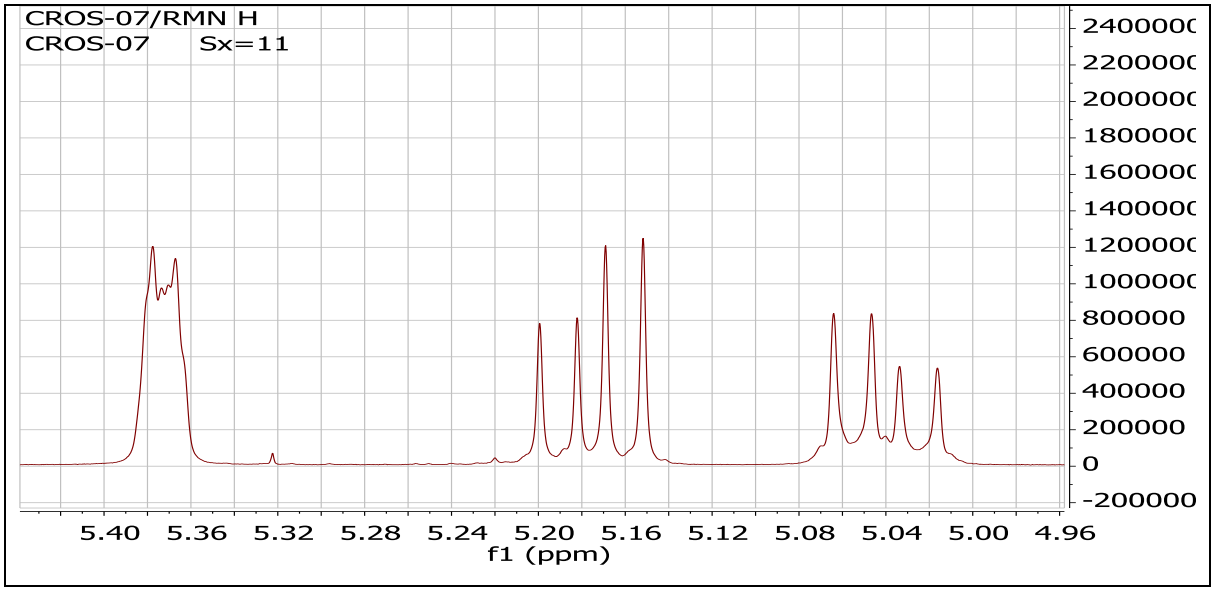


Figura 22. Desdoblamiento del protón vinílico y los protones olefínicos.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

En la región alrededor de 3.5 ppm (figura 23) se observa la señal de un protón de multiplicidad triplete de triplete (*dddd*; $J_{2ax,\ 3=}\ J_{4ax,\ 3}$: 15,7 Hz; $J_{2ec,\ 3=}\ J_{4ec,\ 3}$: 4,6 Hz) correspondiente a un protón geminal a un grupo oxidrilo, el cual está vecino a dos grupos –CH_2-. Este acoplamiento descarta la posibilidad de CROS-13 sea un triterpenoide ya que, por biogénesis, la función oxigenada debe estar sobre C3 y sobre C4 debe haber al menos 1 grupo metilo y en consecuencia CROS-13 debe ser un esteroide. Los valores de las constantes de acoplamiento de H3 indican que este está en posición α-axial y por tanto el grupo OH en disposición β-ecuatorial.

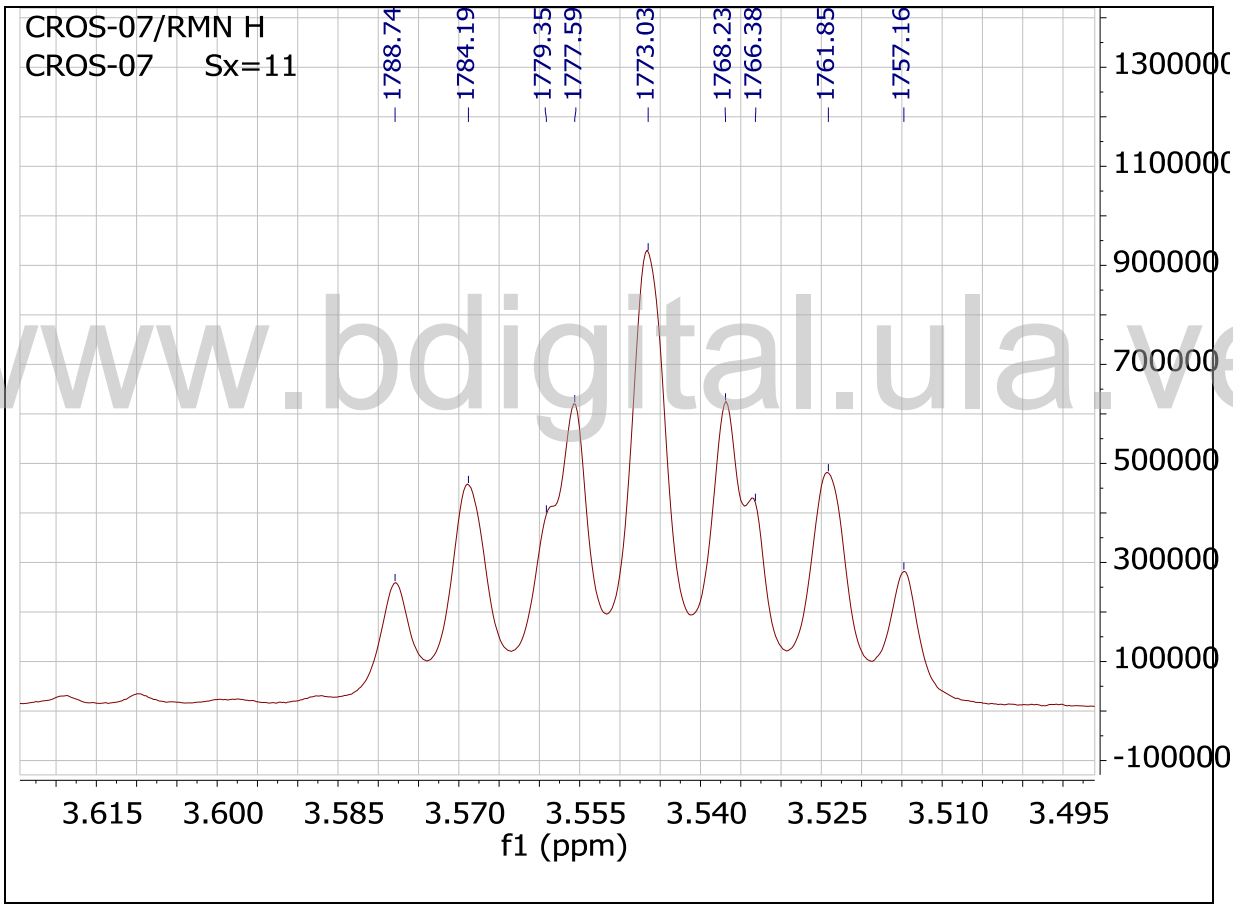


Figura 23. Protón geminal al grupo oxidrilo.

Además, se observa en la región de los metilos (figura 24) cuatro dobletes (δ_H; 1.04; 0.87; 0.84; 0,82) correspondientes a –CH_3 sobre metinos (acoplados con un protón), y dos singuletes metilos (δ_H; 1.03; 0.72) sobre carbonos cuaternarios (sin acoplamientos).

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

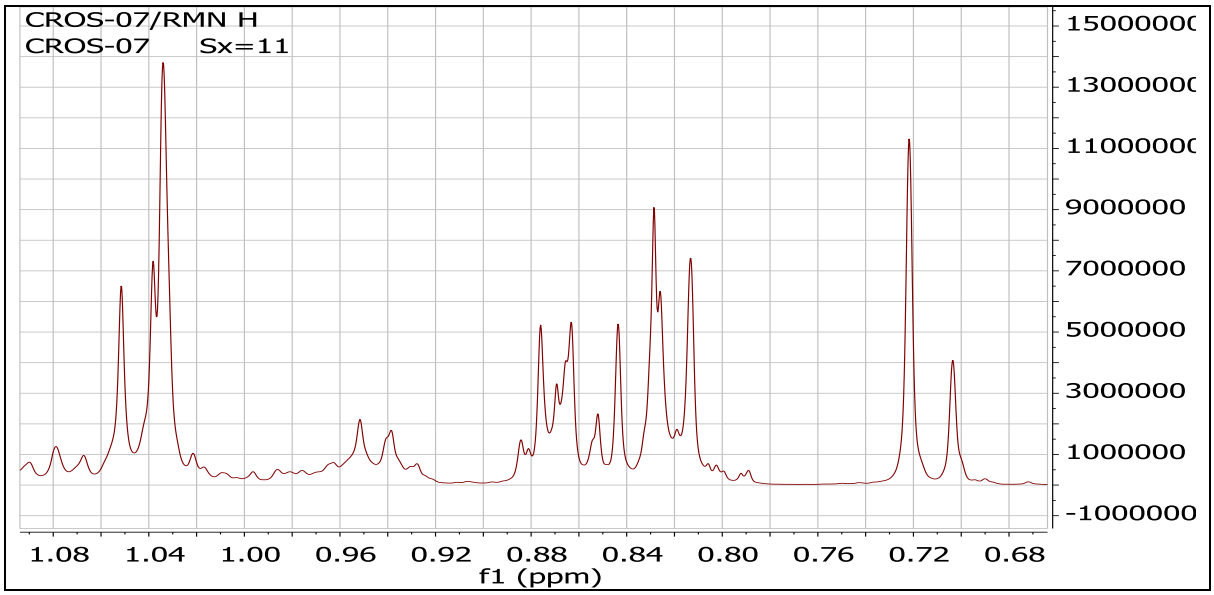


Figura 24. Desdoblamiento de los metilos en el compuesto CROS-13.

7.13.3. ESPECTROSCOPIA RMN ^{13}C DEL COMPUESTO CROS-13.

En el espectro de RMN ^{13}C (figuras 25 y 26), por la disparidad en las intensidades de las señales observadas, se evidencia la presencia de una impureza en la muestra; esto obligó a realizar el análisis detallado para poder descartar las señales correspondientes a ella.

www.bdigital.ula.ve

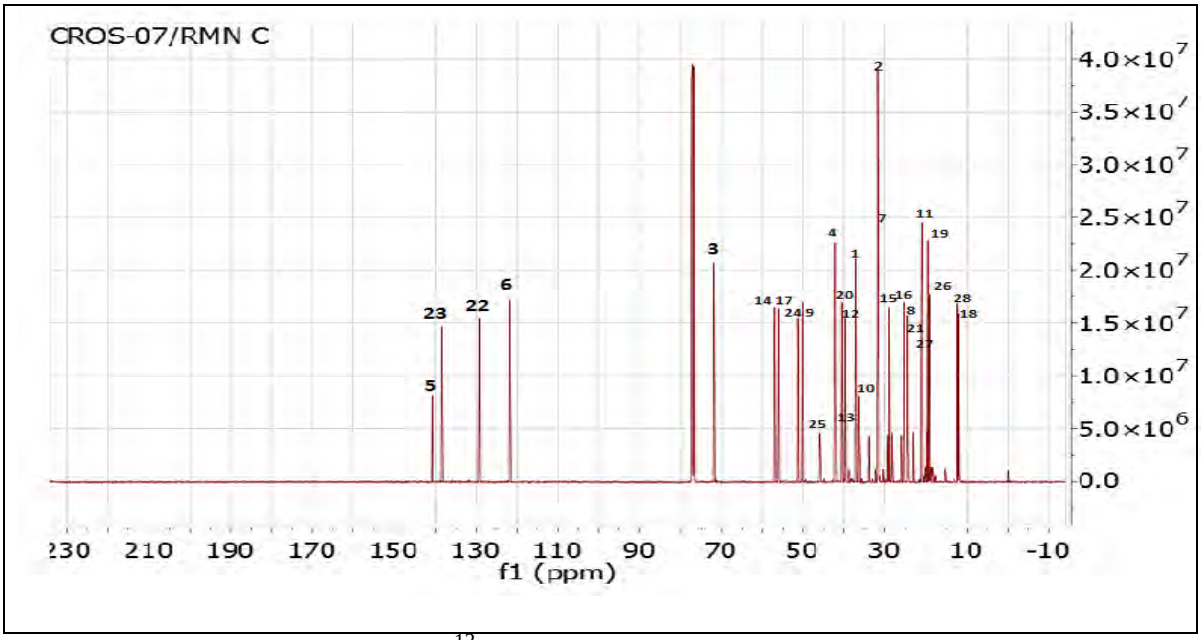


Figura 25. Espectro RMN C^{13} con la asignación de las bandas correspondientes.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

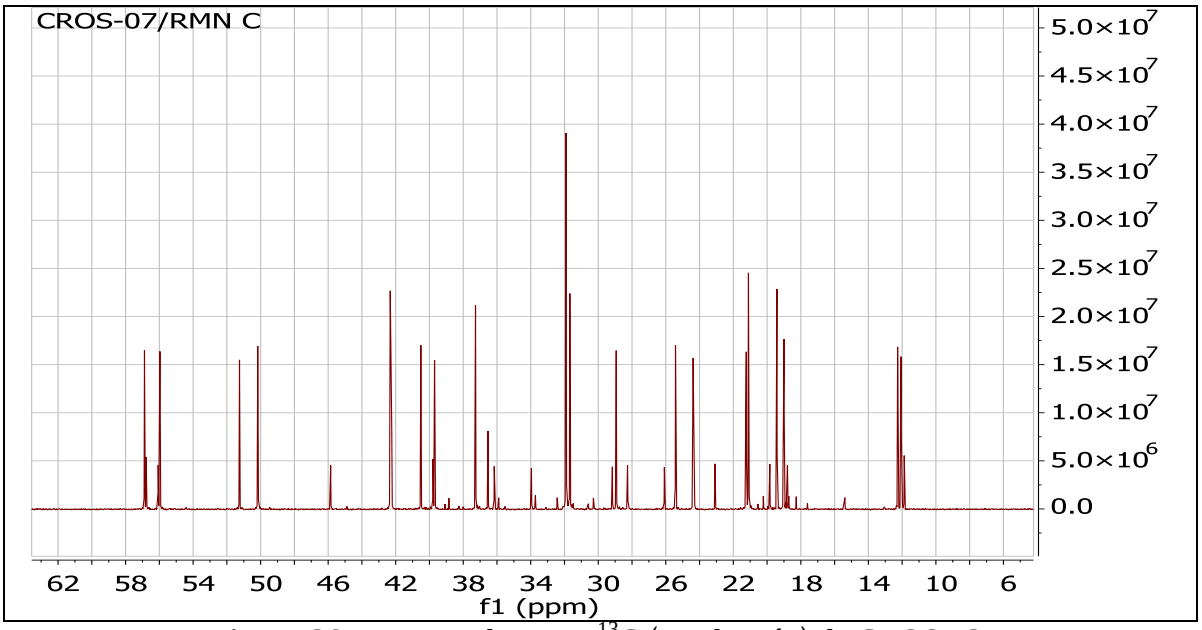


Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C (ampliación) de CROS-13.

El único esqueleto de esteroides que cumple con la presencia de dos metilos singuletes y cuatro metilos dobletes en su estructura es el del ergostano. De esta manera se simplificó el inconveniente de las impurezas en el RMN ^{13}C y se realizaron las asignaciones correspondientes a cada banda.

www.bdigital.ula.ve

En la zona entre 120-150 ppm observamos cuatro señales (δ_C: 140.77, 138.33, 129.29 y 121.72) correspondiente a carbonos con doble enlace >C=C<, por lo tanto la estructura tiene cuatro carbonos sp^2 o lo que es lo mismo 2 dobles enlaces. En δ_C: 71.82 está una banda característica de carbonos sp^2 enlazados a un oxígeno >CH-O-, confirmando de esta manera la presencia de un grupo –OH observado en el IR y el RMN ^1H. En la zona de los carbonos cuaternarios se observa dos bandas en δ_C: 45.85 y 39.70.

7.13.4. ESPECTROSCOPIA RMN 2D (HSQC) DEL COMPUESTO CROS-13.

Una vez analizado los espectros 1D, es necesario certificar esta información y para ello usamos los espectros 2D. El experimento HSQC (figura 27) es un espectro cuyas correlaciones permiten conocer la asignación de los grupos $–CH_3$; $-CH_2-$ y >CH- a través de los desplazamientos químicos de los protones y carbonos que están unidos directamente por un enlace. Así de esta manera tenemos una correlación en δ_H: 5.38, δ_C: 121.72;

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

δ_H: 5.04, δ_C: 129.29 y δ_H: 5.38, δ_C: 138.53. Se hace evidente que la última señal de carbono en δ_C: 140.77 corresponde a un carbono sp^2 no hidrogenado (figura 28). El hidrógeno geminal al átomo de oxígeno, δ_H: 3.55 está sobre el carbono a δ_C: 71.82 (figura 29). De manera similar, este experimento permitió asignar los desplazamientos químicos de los hidrógenos sobre los seis carbonos primarios, $-CH_3$, ocho carbonos secundarios, $-CH_2-$, siete carbonos terciarios, >CH- y dos carbonos cuaternarios, >C<, para un total de 28 carbonos.

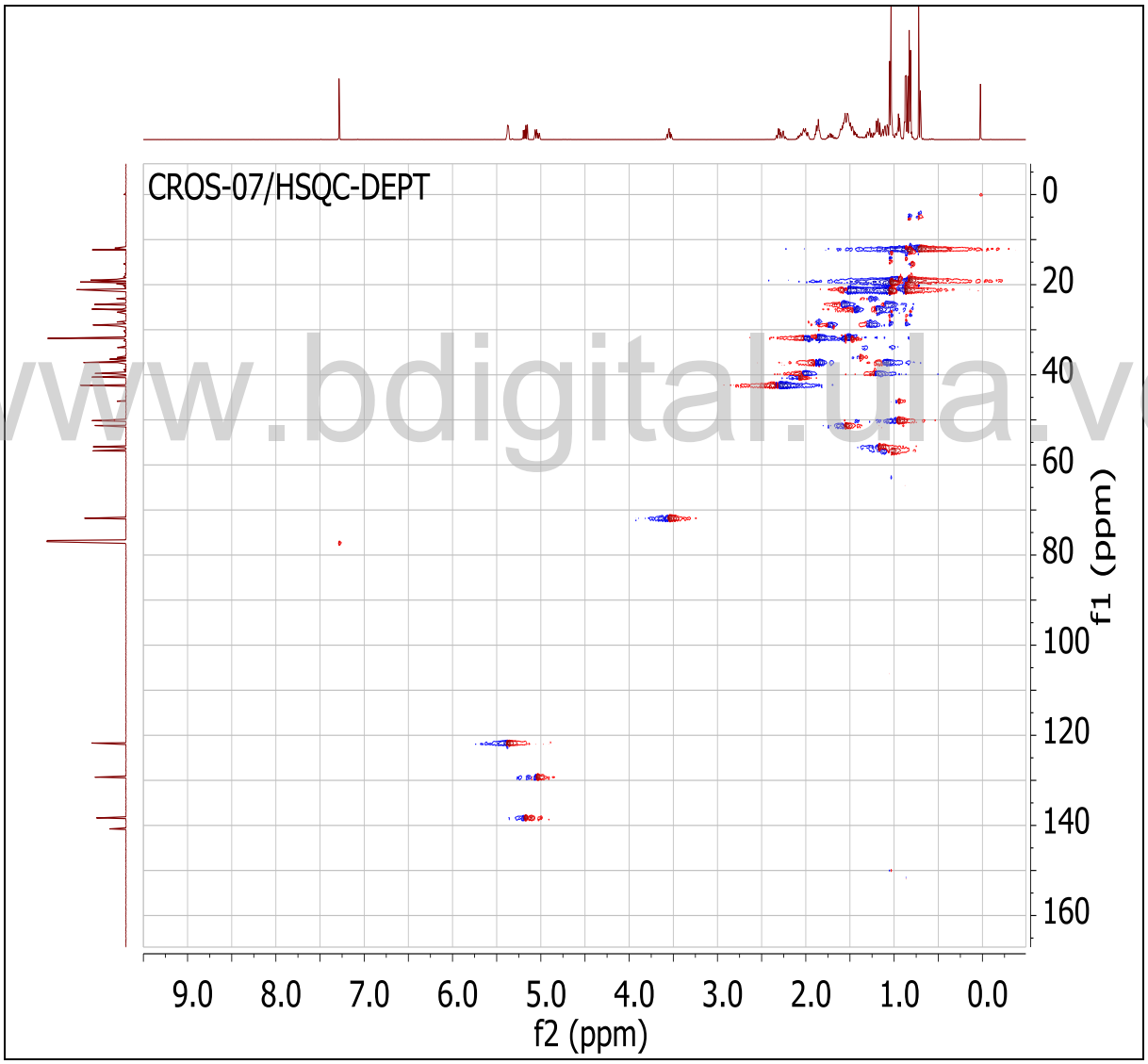


Figura 27. Espectro HSQC del compuesto.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

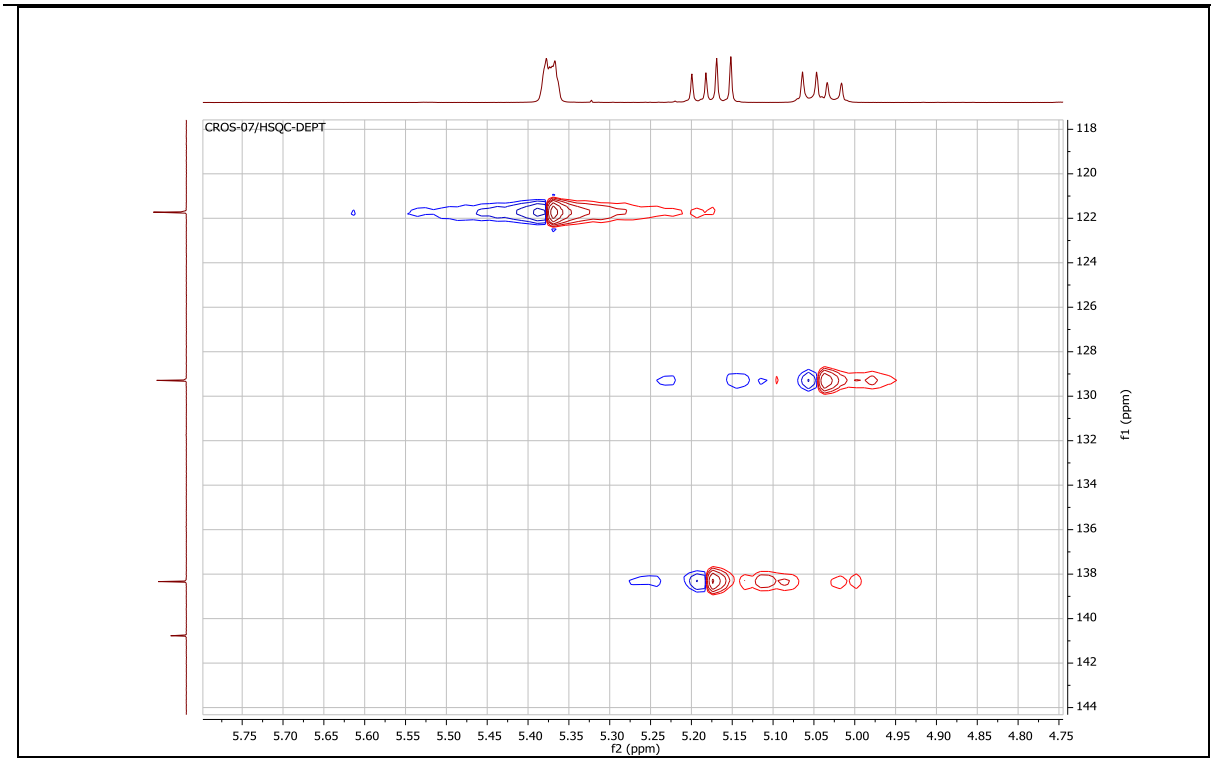


Figura 28. Correlaciones HSQC de los protones olefínicos.

www.bdigital.ula.ve

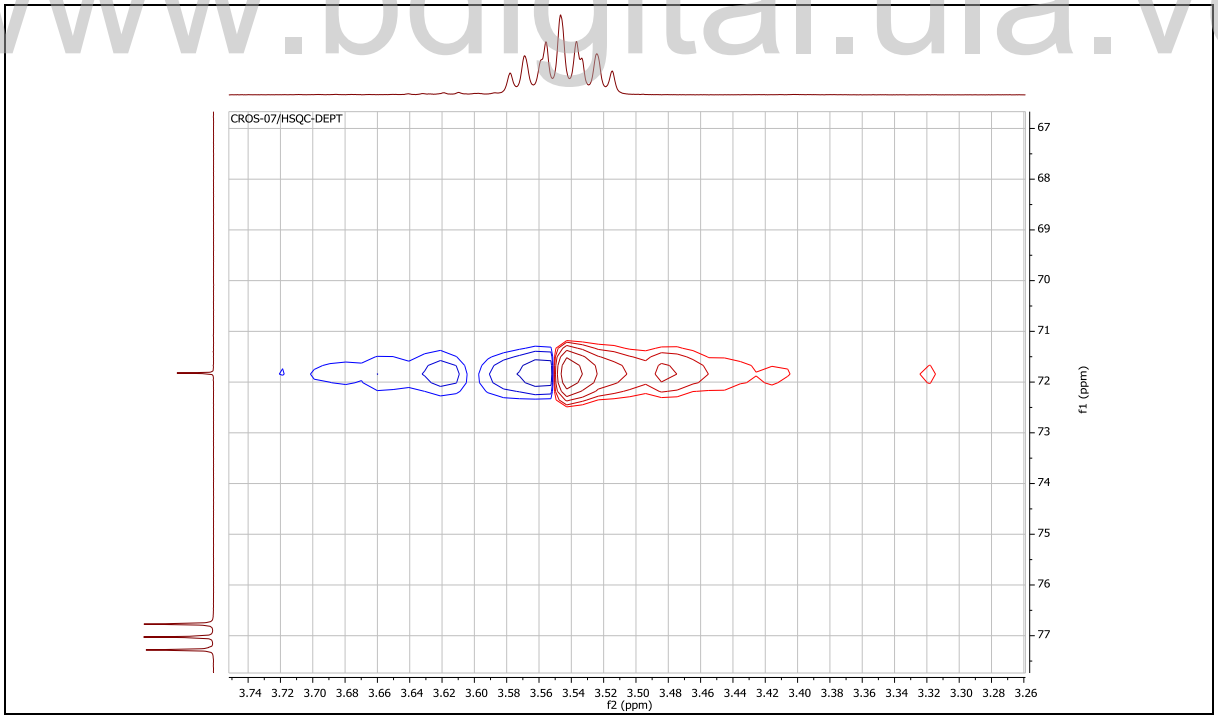


Figura 29. Correlación del protón geminal a la función oxigenada.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

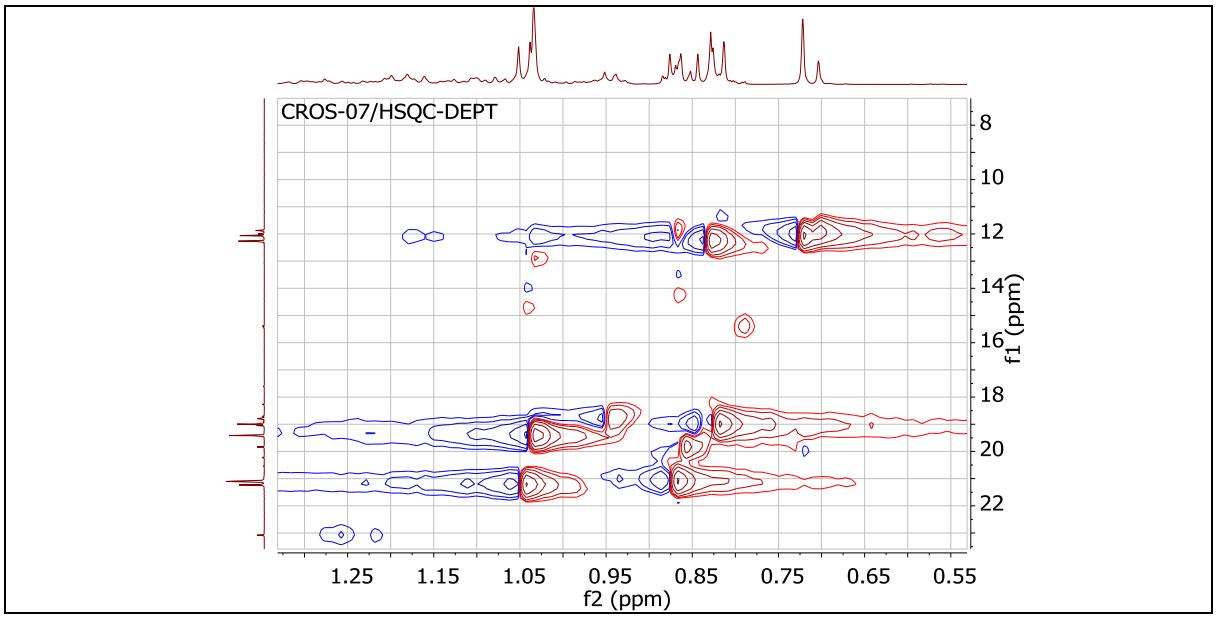


Figura 30. Correlación de los protones metílicos con los carbonos correspondientes.

La forma de las interacciones en el espectro del HSQC nos permite corroborar los carbonos correspondientes a los metilos, donde se observan correctamente los dos singuletes, centro circuloide, por lo tanto se trata de los metilos enlazados a un carbono cuaternario y los dobletes, centro bilobulado, de los metilos que deben estar geminales a un protón para poder tener este desdoblamiento (figura 30).

www.bdigital.ula.ve

7.13.5. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO PRELIMINAR DEL COMPUESTO CROS-13.

Luego de la asignación inequívoca del esqueleto del ergostano y por razones biogenéticas ubicada la función oxigenada sobre C3 con orientación β-ecuatorial, determinada mediante los valores de las constantes de acoplamiento de H3, falta ubicar las posiciones de los dos dobles enlaces.

El espectro de RMN H^1 nos muestra un doble enlace *trans* confirmado por el cálculo realizado para la constante de acoplamiento; este debe estar ubicado fuera de los anillos para poder cumplir con esa estereoquímica. En la cadena lateral solo existe una posibilidad de ubicar el doble enlace para que los hidrógenos estén en disposición *trans* y además para que la señal de cada hidrógeno olefínico sea un doblete de dobletes, debe estar entre los carbonos 22 y 23 del compuesto, ya que al ubicarlo en otra posición, no tendríamos la posibilidad de que los protones vinílicos estén sobre carbonos diferentes.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Para la ubicación dentro de la estructura del doble enlace trisustituido existen 7 posibilidades: Δ^4, Δ^5, Δ^7, $\Delta^{9, 11}$, Δ^{14} y Δ^{16}. La ubicación real será determinada mediante el análisis del espectro HMBC.

7.13.6. ESPECTROSCOPIA RMN 2D (HMBC) DEL COMPUESTO CROS-13.

El espectro HMBC de CROS-13 (figuras 31-34) muestra las interacciones C – H a 2 y 3 enlaces. Mediante el empleo de esta técnica, y aplicación del razonamiento lógico, se debe poder discernir cual es la posición real (de las 6 posibles) que ocupa el doble enlace trisustituido.

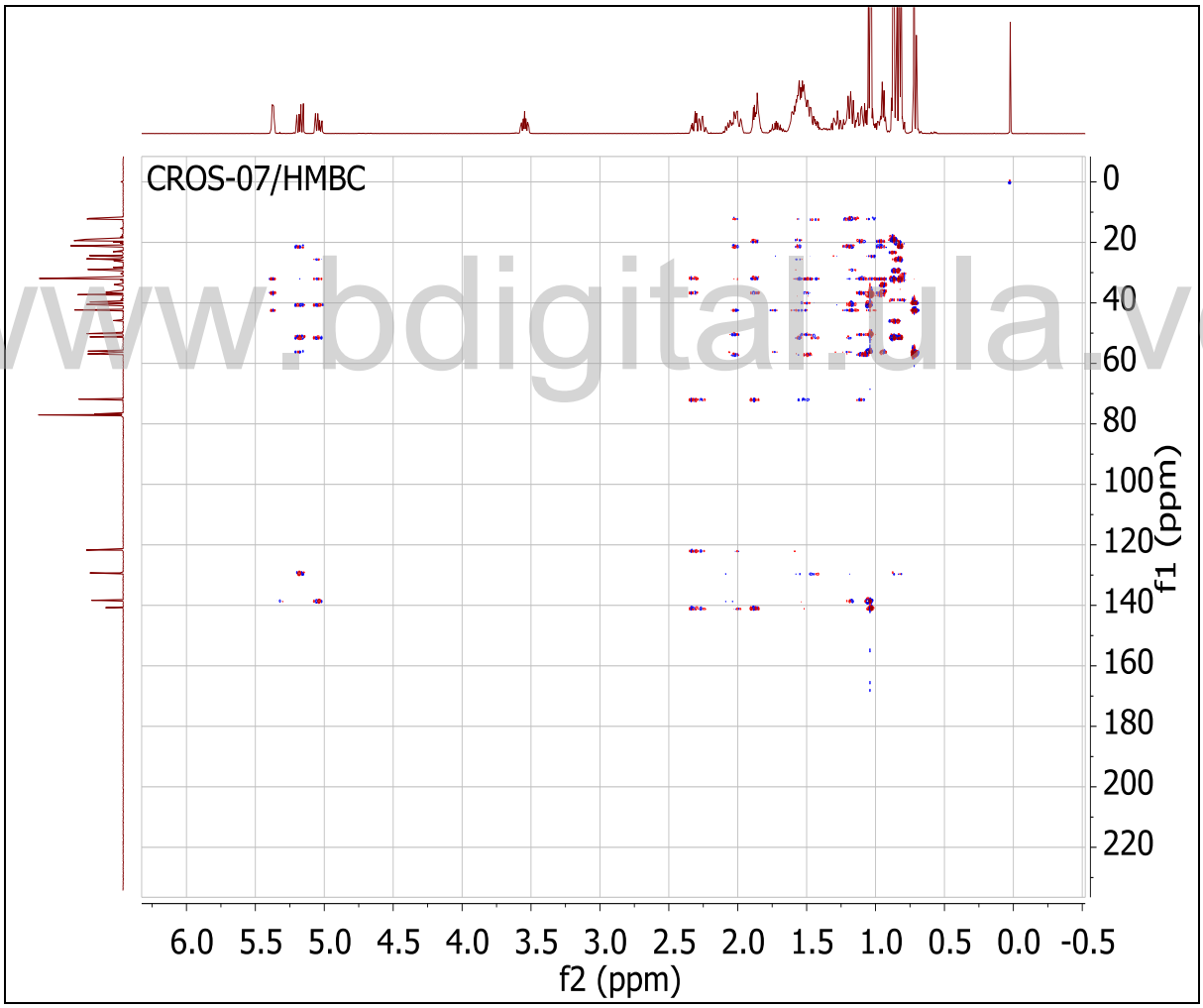


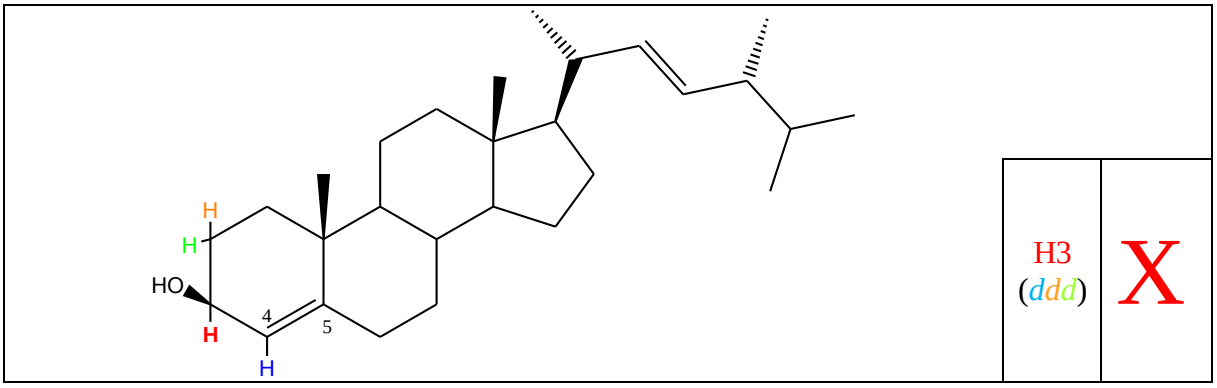
Figura 31. Espectro HMBC del compuesto CROS-13.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.13.6.1. Doble enlace trisustituido en Δ^4.

El desdoblamiento observado en el espectro de RMN H^1 para el protón geminal al oxidrilo (figura 23), en el cual se observa un triplete de triplete nos indica que este protón tiene acoplamiento con dos protones axiales y dos ecuatoriales por lo tanto este carbono posee en las posiciones alfa a dos carbonos $–CH_2-$, por consiguiente esto hace que descartemos la posibilidad del doble enlace entre los carbonos 4 y 5.



H3 (*ddd*)	X

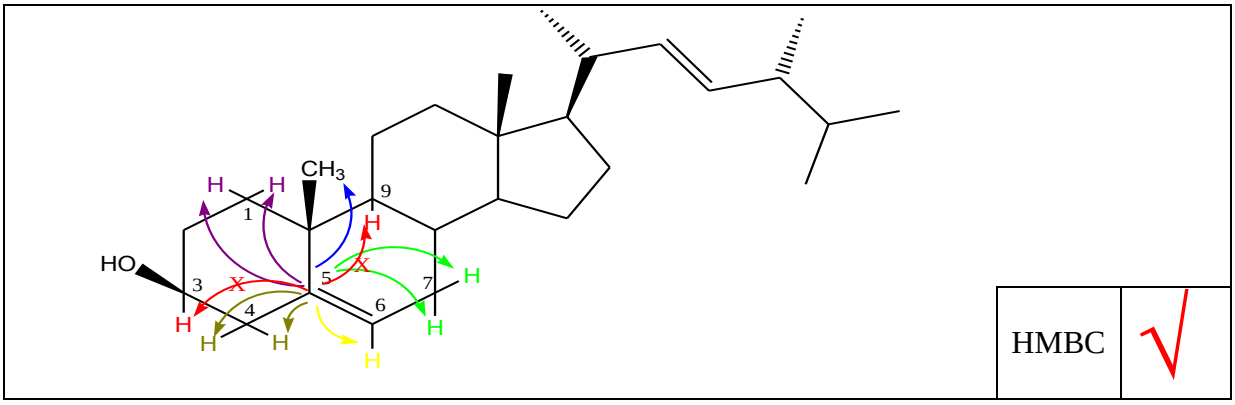
www.bdigital.ula.ve

7.13.6.2. Doble enlace trisustituido en Δ^5.

Si el doble enlace estuviera ubicado entre C5 y C6 se deberían observar en el espectro HMBC las siguientes correlaciones:

C5↔H1; C5↔H4; C5↔H7; C5↔H9

Estas cuatro correlaciones se pueden observar en el HMBC (figura 15), por lo tanto, la ubicación del doble enlace en el anillo parece ser en Δ^5.



HMBC	√

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

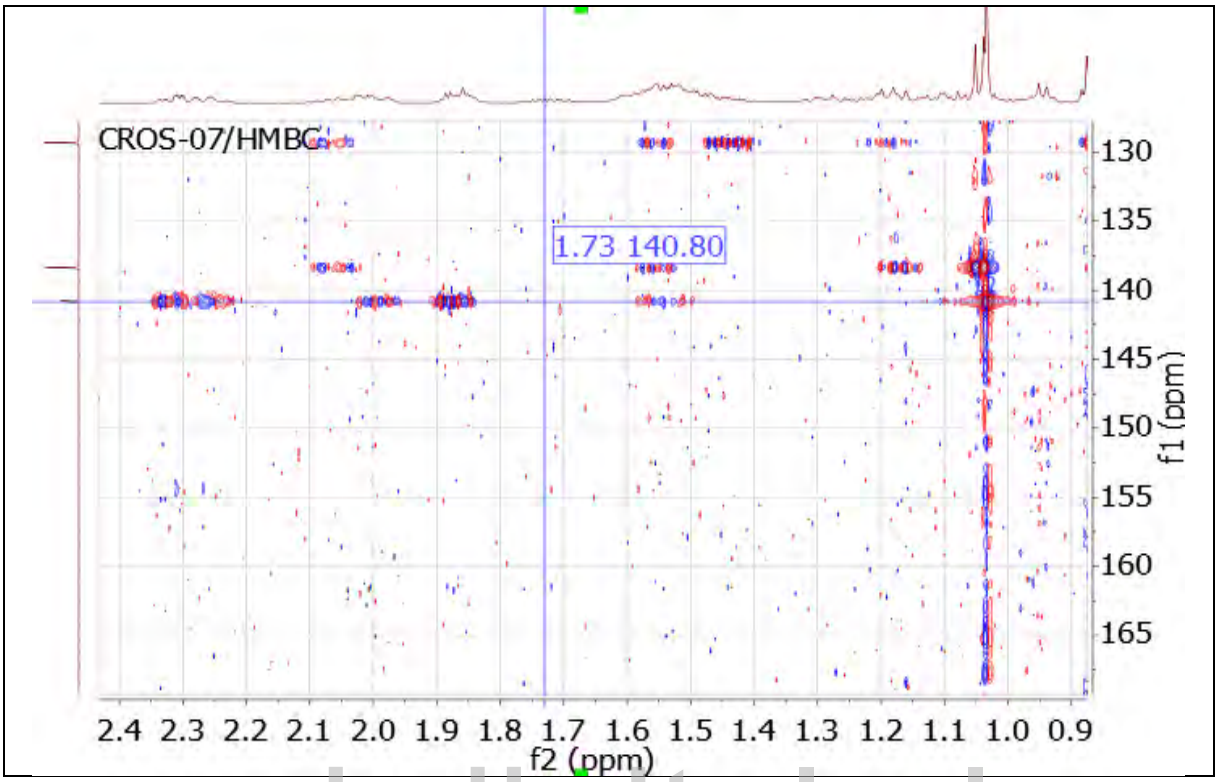
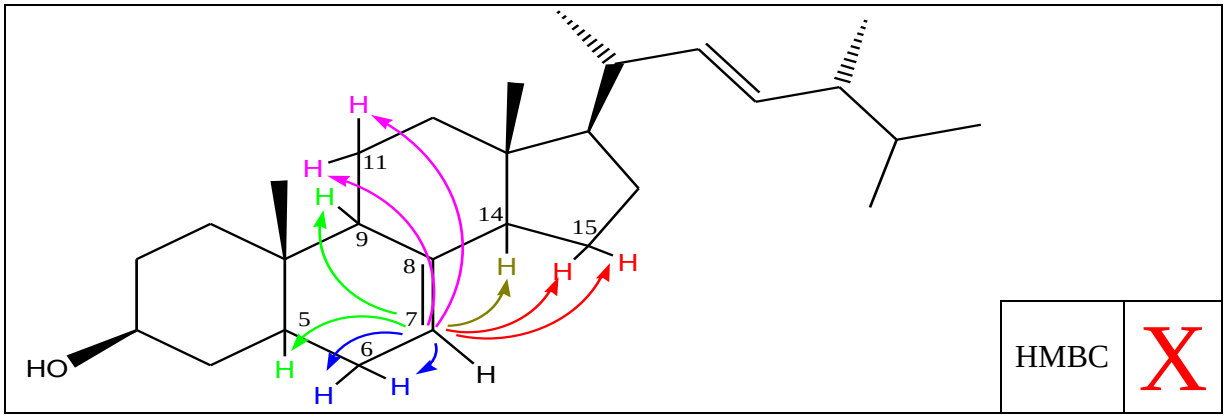


Figura 32. Espectro HMBC (ampliación) del compuesto CROS-13 donde se muestran las interacciones de C5.

www.bdigital.ula.ve

7.13.6.3. <u>Doble enlace trisustituido en Δ^7</u>.

En la ampliación de la zona de la interacción del carbono no hidrogenado del doble enlace trisustituido del espectro HMBC (figura 33), se observa una fuerte correlación de ese carbono con los hidrógenos de un grupo metilo singlete. Esto descarta esa posición como posible debido a que el grupo metilo más próximo está a cuatro enlaces.



Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

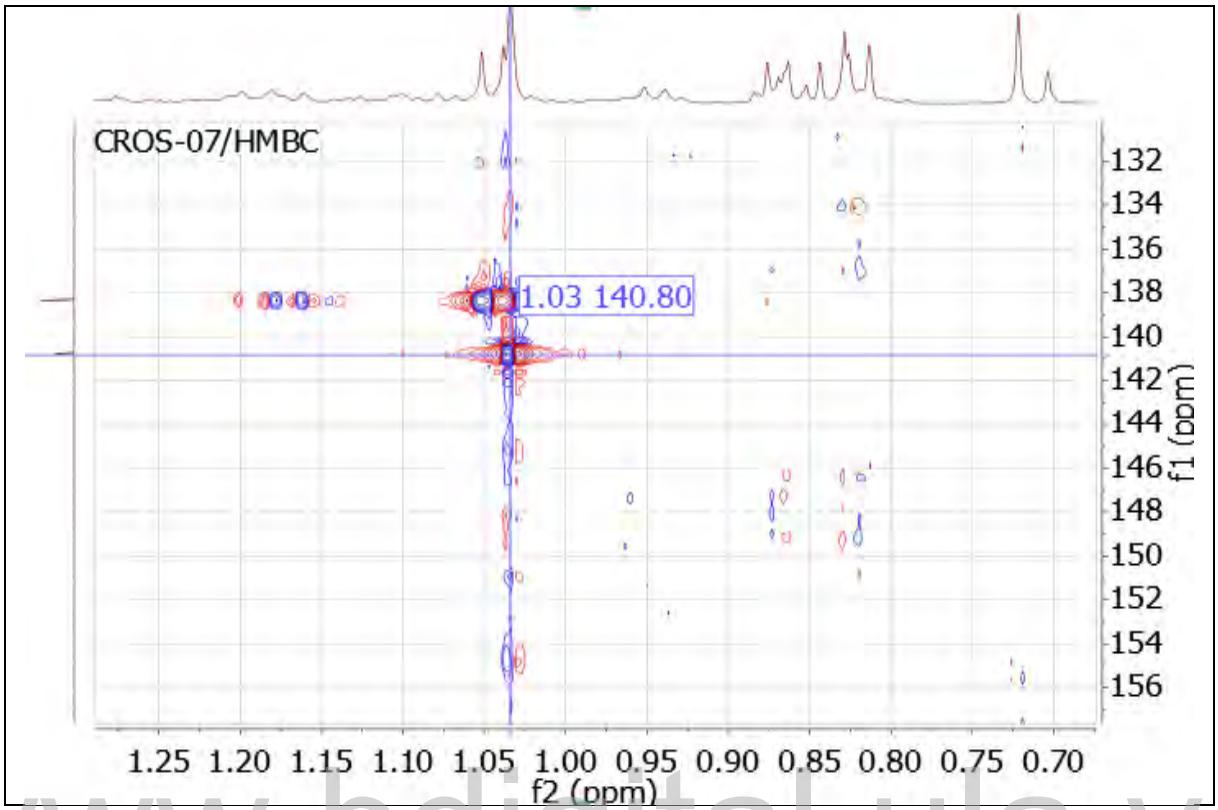
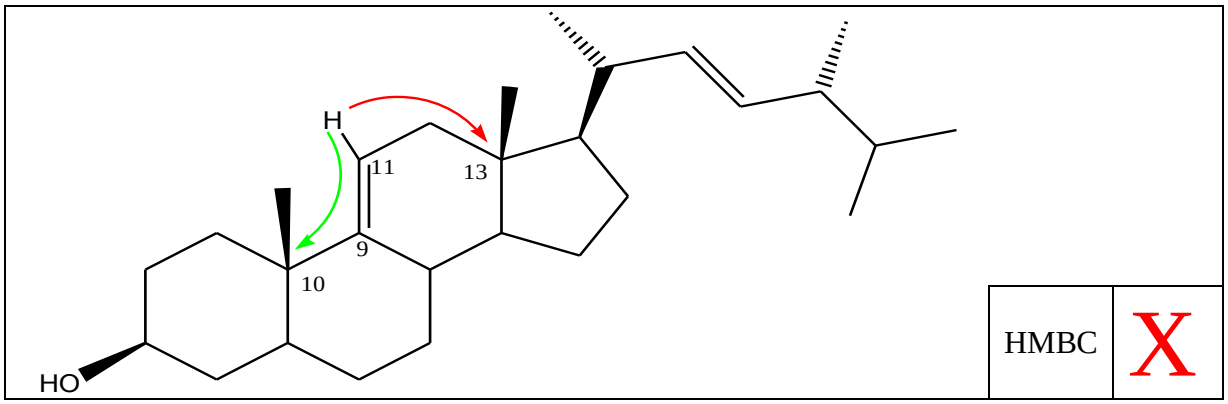


Figura 33. Correlación del carbono saturado con respecto al protón metilo singulete.

www.bdigital.ula.ve

7.13.6.4. <u>Doble enlace trisustituido en $\Delta^{9,11}$</u>.



El considerar la posibilidad del doble enlace en $\Delta^{9,11}$ implicaría que el protón vinílico estaría sobre C11y por lo tanto tendría correlación con los dos carbonos cuaternarios, C10 y C13, y en la ampliación del espectro de HMBC (figura 34) solo vemos correlación con un carbono cuaternario y dos -CH_2-, lo que descarta la propuesta.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

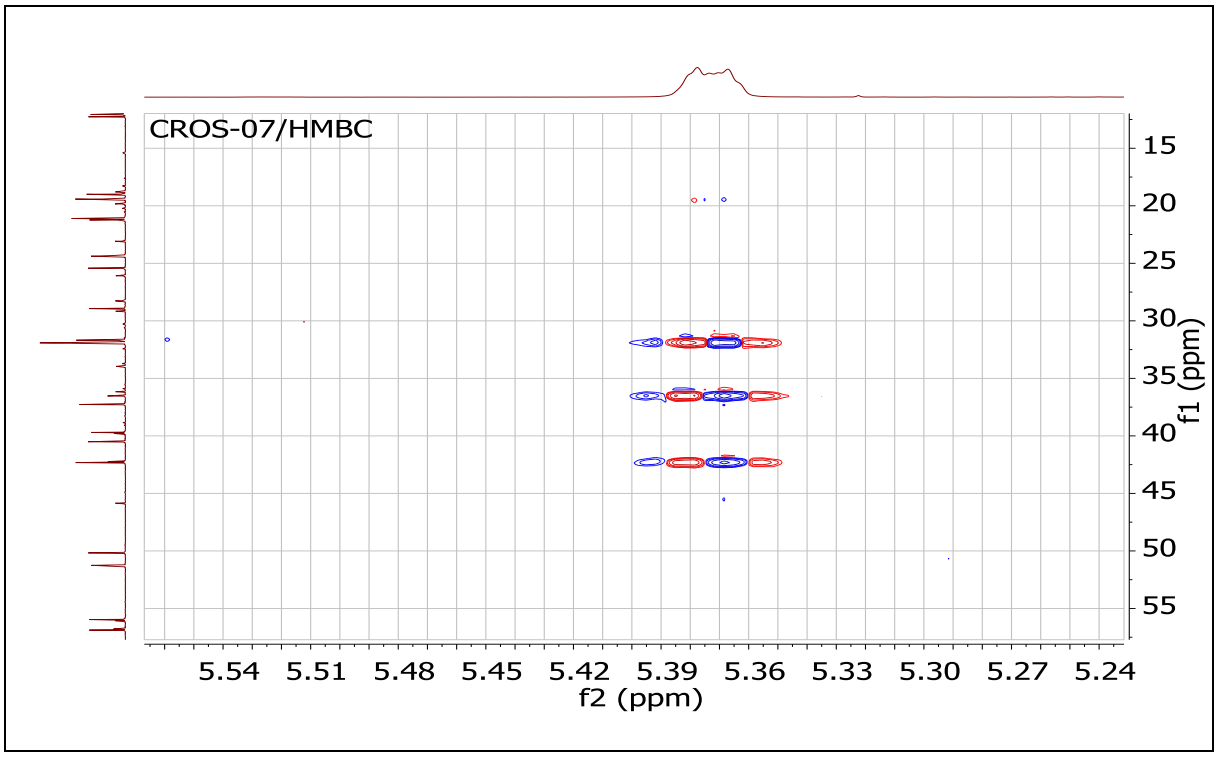
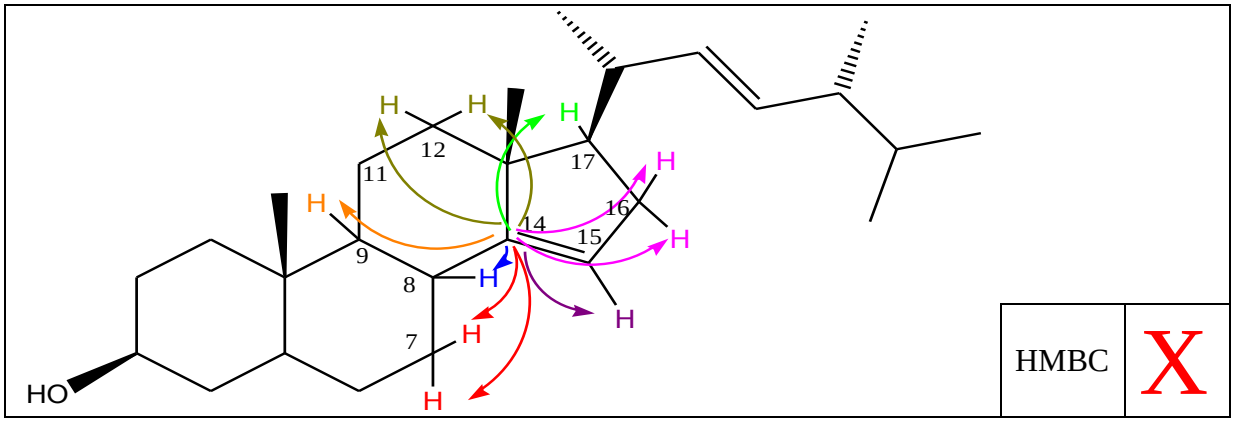


Figura 34. Correlaciones del protón vinílico del doble enlace trisustituido en el HMBC.

www.bdigital.ula.ve

7.13.6.5. Doble enlace trisustituido en Δ^{14}.

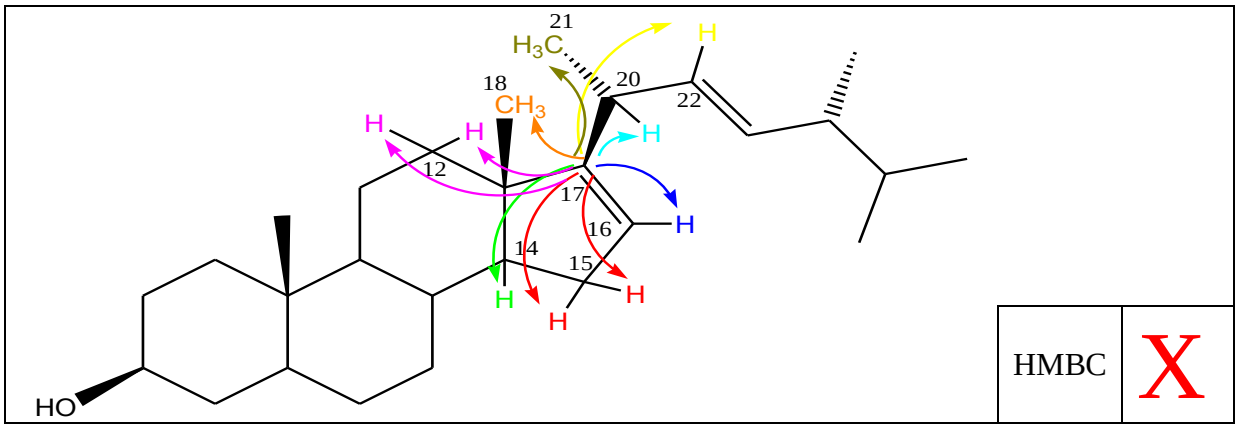
Si el doble enlace estuviera entre C14 y C15, implicaría que el carbono no hidrogenado estaría sobre C14 y por lo tanto tendría correlación con los hidrógenos de: 1 metilo singlete, 3 metilenos y 3 metinos, y en la ampliación del espectro de HMBC (figura 32) solo vemos correlación con un carbono cuaternario, dos -CH_2- y un metilo singlete lo que descarta la propuesta.



Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.13.6.6. <u>Doble enlace trisustituido en Δ^{16}</u>.

Si el doble enlace estuviera en Δ^{16}, implicaría que el carbono no hidrogenado estaría sobre C17 y por lo tanto tendría correlación fuertes con los hidrógenos de: 1 metilo singlete, 1 metilo doblete y 1 olefina *trans*, y en la ampliación del espectro de HMBC (figura 32) no se observan esas correlaciones.



www.bdigital.ula.ve

7.13.7. RESULTADO DEL ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO DEL COMPUESTO CROS-13.

El análisis espectroscópico realizado dio como resultado que la estructura del compuesto CROS-13 corresponde a la del ergostano-5,22*E*-dien-3β-ol, o brassicasterol IUPAC: (3*S*, 10*R*, 13*R*, 17*R*)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-10,13-dimethyl-17-((E,2*R*,5*R*)-5,6-dimethylhept-3-en-2-yl)-1*H*-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol) o en español: (3*S*, 10*R*, 13*R*, 17*R*)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahidro-10,13-dimetil-17-((E,2*R*,5*R*)-5,6-dimetilhept-3-en-2-il)-1*H*-ciclopenta[a]fenantren-3-ol.

Sustancia previamente reportada tanto en plantas superiores como en organismos marinos. La estructura del compuesto aparece representada en la figura 35.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

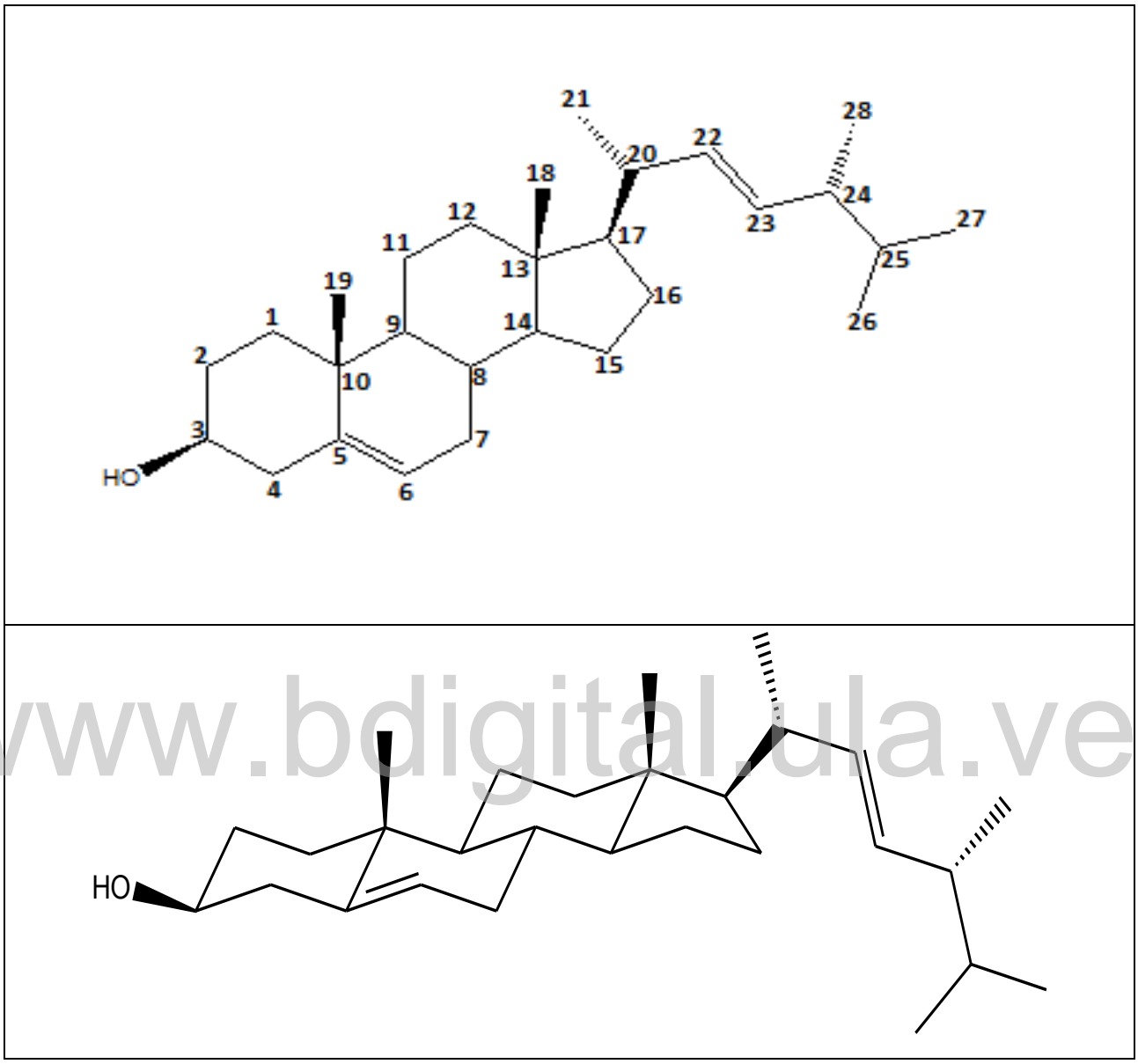


Figura 35. Representaciones estructurales del brassicasterol.(elaboración propia)

www.bdigital.ula.ve

Una vez propuesta la estructura para el compuesto CROS-13, se completaron los análisis de los espectros HMBC y COSY.

7.13.7.1. Análisis completo del RMN ^{1}H y ^{13}C realizado al compuesto CROS-13.

En la tabla 12 se muestran los desplazamientos químicos de todos los hidrógenos y carbonos de CROS-13.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Tabla 12. Desplazamientos químicos de los hidrógenos y carbonos de CROS-13.

Posición	δ_H (experimental)		δ_H (reportado)[a]	δ_C (experimental)	δ_C (reportado)[b]
1	1.10	1.88		37.26	31.8[c,d]
2	1.51	1.85		31.67	37.4[c,d]
3	3.55[e]		3,52 (1H, m)	71.82	72.0
4	2.25	2.34		42.34	42.4
5	-		-	140.78	140.9
6	5.38		5,35 (1H, m)	121.70	121.9
7	1.50	2.03		31.90	29.9
8	1.59			24.38	32.1[c]
9	0.97			50.15	50.3
10	-		-	36.55	36.7
11	0.87	1.54		21.10	21.2
12	1.17	2.04		39.70	39.8
13	-		-	42.23	42.5
14	1.06			56.90	56.2
15	1.23	1.76		28.93	28.7
16	1.17	1.46		25.41	24.4
17	1.18			55.97	57.0
18	0.72		0,69 (3H, s)	12.05	12.2
19	1.03		1,04 (3H, s)	19.42	21.1
20	2.02			40.52	40.3
21	1.05		1,01 (3H, d)	21.20	17.8
22	5.04		5,18 (1H, m)	129.29	131.9
23	5.18		5,18 (1H, m)	138.33	136.0
24	1.56			51.25	43.0[c]
25	0.95			45.85	33.3[c]
26	0.82		0,81 (3H, d)	18.96	19.8
27	0.87		0,83 (3H, d)	18.86	19.6
28	0.84			21.07	20.1

[a] **Datos incompletos en la bibliografía (Calla, 2018)**
[b] **Felisbino *et al.*, 2021.**
[c] **Asignada erróneamente por los autores.**
[d] **Valores intercambiados.**
[e] **La multiplicidad observada de H6 (*ddd* o *dt*) debería ser *dddd* o *dc* pero el análisis del modelo tridimensional mostró un ángulo diédrico entre H4ax y H6 muy próximo a 90° por lo que no ocurre el acoplamiento alílico entre ambos (figura 19).**

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

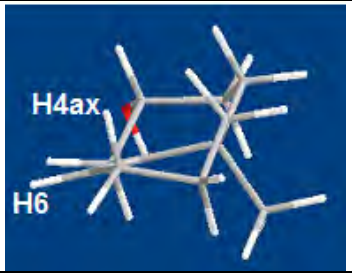


Figura 36. Modelo 3D parcial (anillos A y B) de brassicasterol donde se resalta la geometría de Δ^6.(elaboración propia)

7.13.7.2. Análisis completo del HMBC realizado al compuesto CROS-13.

En la tabla 13 se plasman las interacciones esperadas y encontradas en el experimento HMBC de CROS-13.

Tabla 13. Interacciones HMBC (esperadas y observadas) de CROS-13.

# C	δ_c (t)	#H
1	37.26	**2a, 2b**, *3, 9, 19*
2	31.67	**1a, 1b**, 3, *4a, 4b*
3	71.82	*1a, 1b,* **2a, 2b, 4a, 4b**
4	42.34	3, *2a, 2b, 6*
5	140.78	*1a, 1b, 3,* **4a, 4b**, 6, *7a, 7b, 9*
6	121.70	*4a, 4b,* **7a,** 7b, *8*
7	31.90	*5,* **6, 8,** *9*
8	24.38	*6,* 7a, **7b**, **9**, *11a, 11b,* **14**, *15a, 15b*
9	50.15	*1a, 1b, 7a, 7b,* **8, 11a, 11b**, *12a, 12b, 14,* 19
10	36.55	**1a, 1b**, *2a, 2b, 4a, 4b, 6, 8,* **9,** *11a, 11b*
11	21.10	*8,* **9, 12a, 12b**
12	39.70	**9, 11a**, 11b, **14,** *17,* 18
13	42.23	*8, 11a, 11b,* **12a, 12b, 14,** *15a, 15b, 16a, 16b,* **17,** 19, *20*
14	56.90	*7a, 7b,* **8,** *9, 12a, 12b,* **15a, 15b,** *16a, 16b, 17, 18*
15	28.93	*8,* **14,** *16a, 16b, 17*
16	25.41	*14*, **15a, 15b**, **17**, *20*
17	55.97	*12a, 12b, 14, 15a, 15b,* **16a, 16b,** *18,* **20,** *21, 22*
18	12.05	*12a, 12b, 14, 17*
19	19.42	*1a, 1b, 9*
20	40.52	*16a, 16b,* **17,** 21, **22,** *23*
21	21.20	*17,* **20,** *22*
22	129.29	*17,* **20,** *21,* **23,** *24*
23	138.33	*20,* **22, 24**, *25, 28*
24	51.25	**23,** *22,* 28, 25, *27, 26*
25	45.85	*23,* **24,** 26, 27, 28
26	18.96	*24,* **25,** *27*
27	21.07	*23,* **24,** *25*
28	12.26	**24, 25,** *26*

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

En esta tabla se representa las correlaciones a dos enlaces en color negro (letra normal), rojas a tres enlaces o más (letra cursiva); azul los metilos y están en negrita (sin importar el color de la letra) las correlaciones que se observan en el espectro. Es de suma importancia destacar la gran cantidad de correlaciones comprobadas por el espectro HMBC lo que nos indica una precisión en la elucidación de la estructura.

7.13.7.3. Análisis completo del COSY realizado al compuesto CROS-13.

En la figura 37 se muestra el espectro COSY de CROS-13, en la tabla 14 se plasman las interacciones esperadas (ver figura 38) y encontradas en el experimento COSY de CROS-13.

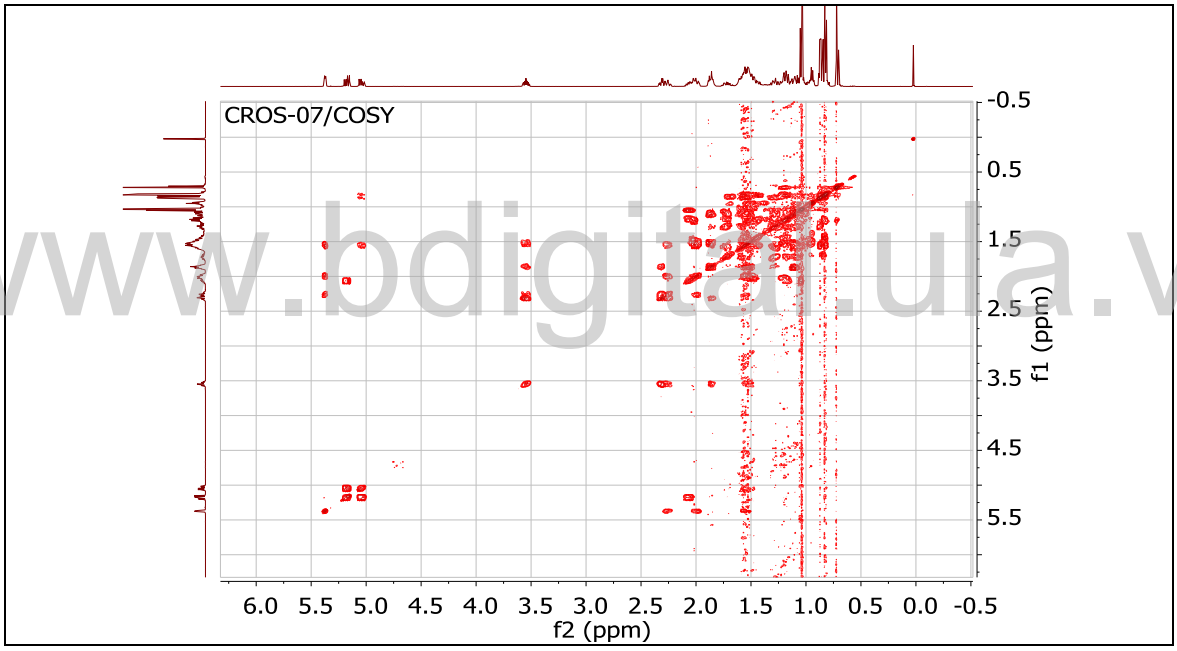


Figura 37. Espectro COSY del compuesto.

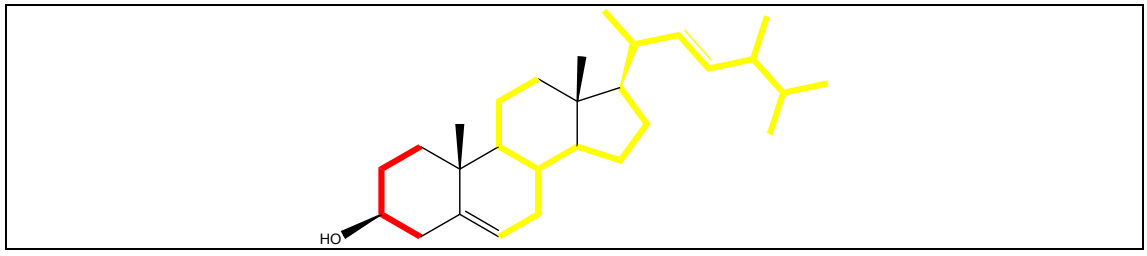


Figura 38. Diagrama molecular de las interacciones en el COSY de CROS-13.(elaboración propia)

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Tabla 14. Interacciones COSY (esperadas y **observadas**) de CROS-13.

# H	δ_H (e)	#H	# H	δ_H (e)	#H
1a	1.88	**1b**, **2a**, **2b**	13	-	-
1b	1.10	**1a**, **2a**, **2b**	14	1.06	**8**, **15a**, **15b**
2a	1.85	**1a**, **1b**, **2b**, **3**	15a	1.76	**14**, 16a, **16b**
2b	1.51	**1a**, **1b**, **2a**, **3**	15b	1.23	**14**,16a,**16b**
3	3.55	**2a**, **2b**, **4a**, **4b**	16a	1.46	15a, **15b**, **16b**, **17**
4a	2.34	**3**, **4b**	16b	1.17	**15a**, **15b**,**17**
4b	2.25	**3**, **4a**	17	1.18	**16a**, **16b**, **20**
5	-	-	18	0.72	-m
6	121.70	**7a**, **7b**	19	1.03	-m
7a	2.03	**6**, **7b**, **8**	20	2.02	**17**, **21**(m), **22**
7b	1.50	**6**, **7a**, **8**	21	1.05	**20**
8	1.59	**7a**, **7b**, **9**, **14**	22	5.04	**20**, **23**
9	0.97	**8**, **11a**, **11b**	23	5.18	**22**, 24
10	-	-	24	1.56	23, **28**(m)
11a	1.54	**9**, **11b**, **12a**, **12b**	25	0.95	**24**, **26**(m), **27**(m)
11b	0.87	**9**, **11a**, **12a**, **12b**	26	0.82	**25**
12a	2.04	**11a**, **11b**, **12b**	27	0.84	**25**
12b	1.17	**11a**, **11b**, **12a**	28	0.87	**24**

www.bdigital.ula.ve

Es de resaltar como ejemplo, las interacciones observadas para H3, tal como se ven en la figura 39.

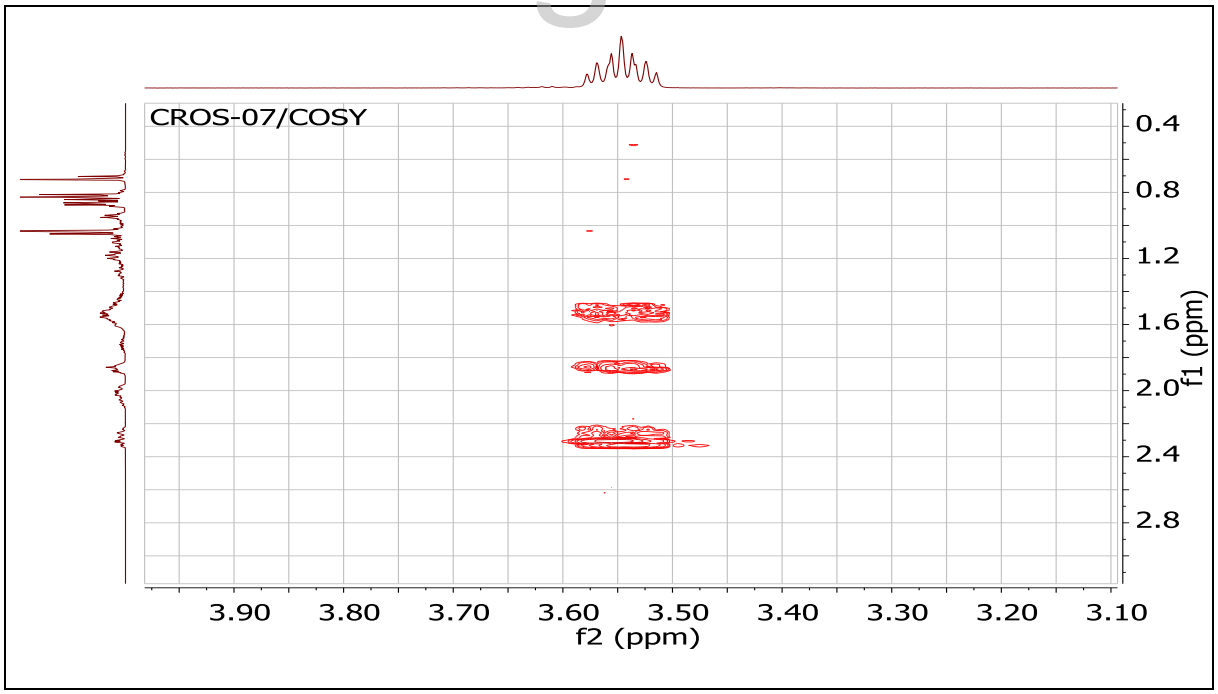


Figura 39. Correlaciones del protón geminal al oxidrilo en el COSY.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

7.13.8. DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE FUSIÓN DEL COMPUESTO BRASICASSTEROL.

La determinación del punto de fusión del compuesto se realiza en el Laboratorio de Docencia de Química Orgánica usando el fusiómetro Engineering LTD, modelo Electrothermal 9100. Para tal fin se tomó un cristal de tamaño adecuado y se colocó en un capilar de vidrio, se comienza el proceso de calentamiento hasta que el sólido pase a la fase líquida y en ese instante se determina el punto de fusión. Este rango del punto de fusión fue de 146-148 °C. El valor reportado en la bibliografía es de 150-151°C . Esta diferencia en el valor se debe a las impurezas presentes en el compuesto, las cuales se pudieron observar en el espectro de RMN ^{13}C (ver figura 26).

8. DISTRIBUCIÓN DEL BRASSICASTEROL EN LA NATURALEZA.

El brassicasterol es un esteroide de amplia distribución en La Naturaleza habiéndose encontrado en organismos marinos como la esponja marina *Tethya californiana* Laubenfels (López y Quijano, 2013) y el gorgonáceo *Eunicea laciniata* (Cuadrado *et al*., 2010), líquenes como *Stereocaulon glareosum* (Sav.) H. Magn. (Calla y Robles, 2018) y *Everniopsis trulla* (Castro y Santiago 2020), plantas superiores como *Gustavia nana* Pittier, (Molina *et al.*, 2006) y *Moringa oleífera* Lam. (Álvarez *et al*., 2019), hongos como *Cercospora brachiata* (Felisbino *et al*., 2021) entre otros.

www.bdigital.ula.ve

9. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DEL BRASSICASTEROL.

Entre las actividades biológicas reportadas para el Brassicasterol tenemos: antibiótica (Mora et al., 2008), antiinflamatoria (Fernández *et al*., 1993), antioxidante y antiinflamatoria (Molina *et al*., 2017), anticancerosa (Yinzhu Xu et al., 2020), antibacteriana (Felisbino *et al*., 2021), antibacteriana, antiviral y protector cardiovascular (Hassan, 2020), antifúngica (Suleimen *et al*., 2021), antibacteriana y antifúngica (Iglesias *et al*., 2019).

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

10. CONCLUSIONES.

La revisión bibliográfica de la fitoquímica de *Bursera* realizada permitió demostrar que ese género está mayoritariamente constituido por terpenoides (monoterpenoides, sesquiterpenoides, diterpenoides, esteroides y triterpenos), flavonoides, lignanos y otros compuestos fenólicos, y compuestos de cadena larga (alquenos, alcoholes, ácidos grasos y sus ésteres).

De los 14 compuestos aislados hasta ahora de las hojas de *Bursera inversa* se ha podido completar el estudio estructural de solo uno de ellos, CROS-13, determinándose que corresponde al brassicasterol.

Se demostró mediante el estudio bidimensional, principalmente por el experimento de HMBC, que las asignaciones de los desplazamientos químicos en RMN ^{13}C de C1 y C2 de los carbonos reportados para el brassicasterol estaban intercambiados. Adicionalmente, se corrigieron los datos de otros carbonos (C8, C24 y C25).

www.bdigital.ula.ve

Aunque el brassicasterol es un esteroide de amplia distribución en La Naturaleza, habiéndose encontrado en organismos marinos como esponja y gorgonáceos, líquenes, plantas superiores y hongos, entre otros, no ha sido reportado previamente a esta investigación en la especie (*Bursera inversa*), ni en otra especie del género (*Bursera*) ni en especies de la familia Burseraceae.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

11. RECOMENDACIONES.

Los resultados obtenidos en los trabajos realizados con *Bursera inversa* sugieren que se debería continuar el estudio fitoquímico y así determinar la composición química de la resina, así como de las otras estructuras morfológicas de la planta: hojas, ramas, frutos, entre otros.

Hasta el presente, el principal uso de *Bursera inversa* es por sus propiedades curativas en tratamientos antiinflamatorios mediante infusiones. Debido a que entre las actividades biológicas reportadas para el brassicasterol tenemos: antibacteriana, antibiótica, anticancerosa, antifúngica, antiinflamatoria, antioxidante, antiviral y protector cardiovascular; se debería realizar un screening farmacológico más extenso con esta especie.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Abad del Río, A.; Hernández, J.D.; García.Gutiérrez, H.A. (2019). **Estudio de la reactividad de metabolitos verticilénicos obtenidos de Burseraceae y derivados con esqueleto de formactano.** Tesis Doctoral en Ciencias Químicas. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia-Michoacán. México. 106 p.

Abad, M.J.; Bermejo, P.; Carretero, E.; Martínez-Acitores, C.; Noguera, B.; Villar, A. (1996). Antiinflammatory activity of some medicinal plant extracts from Venezuela. **Journal of Ethnopharmacology**, **55**: 63-68.

Abbas, F.A.; Al-Massarany, S.M.; Khan, S.; Al-Howiriny, T.A.; Mossa, J.S.; Abourashed, E.A. (2007). Phytochemical and biological studies on Saudi *Commiphora opobalsamum* L. **Natural Product Research**, **21**: 383-391.

Aguilar, L.; Romero, O.; González, M.; Tortoriello, J. (2012). Efecto de *Bursera grandiflora* sobre el peso corporal y lipemia en ratones obesos. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, **11**: 138-146.

Álvarez, A.D.; Márquez, R.L.; Castillo, O.J. (2018). Evaluación de la actividad antioxidante y cuantificación de fenoles y flavonoides de los extractos etanólicos de hojas y corteza fresca de *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch (Burseraceae). Tesis de Licenciatura en Biología. Departamento de Biología y Química. Facultad de educación y Ciencias. Universidad de Sucre. Sincelejo‑Sucre. Colombia. 120 p.

Álvarez, A.L.; Habtemariam, S.; Parra, F. (2015). Inhibitory effects of lupene-derived pentacyclic triterpenoids from *Bursera simaruba* on HSV-1 and HSV-2 *in vitro* replication. **Natural Product Research**, **29**: 2322-2327.

Álvarez, C.; Sánchez, M; Rosillo, A. 2019. **Propiedades Farmacológicas de *Moringa oleífera.*** Tesis de Pregrado en Farmacia. Universidad de Sevilla. España. 38 p.

Barreira, E.S.; Queiroz Monte, F.J.; Braz-Filho, R. (1996). A new furanosesquiterpene from *Bursera leptophloeos* Marth. **Natural Product Letters**, **8**: 285-289.

Barthlott, E. 1981. Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects**. Nordish Journal of Botanic**, **1**: 345-355.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Barthlott, E. 1981. Microstructural features of seed surfaces. *In*: Heywood, V.H. & Moore, D. (Eds.). **Current concepts in plant taxonomy.** Academic Press. London, 95-105 pp.

Becerra, A.V. (1993). Medicinal Flora of Mexico. **Journal of Herbs, Spices y Medicinal Plants**, **2**: 55-91.

Becerra, J.; Venable, L. (1999). Nuclear ribosomal DNA phylogeny and its implications for evolutionary trends in Mexican *Bursera* (Burseraceae). **American Journal of Botanic**, **86**: 1047-1057.

Becerra, J.X.; Noge, K. (2010). The Mexican roots of the Indian lavender tree. **Acta Botánica Mexicana**, **91**: 27-36.

Becerra, J.X.; Venable, D.L.; Evans, P.H.; Bowers, W.S. (2001). Interactions between chemical and mechanical defenses in the plant genus *Bursera* and their implications for herbivores. **American Zoologist**, **41**: 865-876.

Bianchi, E.; Caldwell, M.E.; Cole, J.R. (1968). Antitumor agents from *Bursera microphylla* (Burseraceae) I. Isolation and characterization of deoxypodophyllotoxin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, **57**: 696-697.

Bianchi, E.; Sheth, K.; Cole, J.R. (1969). Antitumor agents from *Bursera fagaroides* (Burseraceae): (β-peltatin-Amethylether and 5′-desmethoxy-β-peltatin-A-methylether). **Tetrahedron Letters**, **10**: 2759-2762.

Bork, P.M.; Schmitz, M.L.; Weimann, C.; Kist, M.; Heinrich, M. (1996). Nahua Indian medicinal plants (Mexico): Inhibitory activity on NF-κB as an anti-inflammatory model and antibacterial effects. **Phytomedicine**, **3**: 263-269.

Bradley, C.E.; Haagen-Smit, A.J. (1951). The essential oil of *Bursera microphylla*. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, **40**: 591-592.

Bullock, A.A. (1936). Contributions to the flora of tropical America: XXVII. Notes on the Mexican species of the genus *Bursera*. **Bulletin of Miscellaneous Information (Royal Gardens, Kew)**, **1936**: 346-387.

Bussmann, R.W.; Malca, G.; Glenn, A.; Sharon, D.; Nilsen, B.; Parris, B.; Dubose, D.; Ruiz, D.; Saleda, J.; Martinez, M.; Carrillo, L.; Walker, K.; Kuhlman, A.; Townesmith, A. (2011a). Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. **Journal of Ethnopharmacology**, **137**: 121-140.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Caceres, A.; Cano, O.; Samayoa, B.; Aguilar, L. (1990). Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against *Enterobacteria*. **Journal of Ethnopharmacology**, **30**: 55-73.

Calla, E.L.M.; Robles, J.R.M. 2018. **Estudio químico del extracto metanólico del liquen *Stereocaulon glareosum* (Sav.) H. Magn.** Tesis de Maestría en Química. Pontificia Universidad Católica del Perú. 159 p.

Camporese, A.; Balick, M.J.; Arvigo, R.; Esposito, R.G.; Morsellino, N.; De Simone, F.; Tubaro, A. (2003). Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). **Journal of Ethnopharmacology**, **87**: 103-107.

Canales, M.; Hernández, T.; Caballero, J.; Romo de Vivar, A.; Avila, G.; Duran, A.; Lira, R. (2005). Informant consensus factor and antibacterial activity of the medicinal plants used by the people of San Rafael Coxcatlán, Puebla, México. **Journal of Ethnopharmacology**, **97**: 429-439.

Carmona, R.; Quijano-Celís, C.E.; Pino, J.A. (2009). Leaf oil composition of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana *et* Planch. **Journal of Essential Oil Rese**arch, **21**: 387-389.

www.bdigital.ula.ve

Carrera-Martínez, C.A.; Rosas-López, R.; Rodríguez-Monroy, M.A.; Canales-Martínez, M.M.; Román-Guerrero, A.; Jiménez-Alvarado, R. (2014). Chemical composition and in vivo anti-inflammatory activity of *Bursera morelensis* Ramírez essential oil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, **17**: 758-768.

Carretero, M.E.; López-Pérez, J.L.; Abad, M.J.; Bermejo, P.; Tillet, S.; Israel, A.; Noguera-P, B. (2008). Preliminary study of the anti-inflammatory activity of hexane extract and fractions from *Bursera simaruba* (Linneo) Sarg. (Burseraceae) leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, **116**: 11-15.

Case, R.J.; Tucker, A.O.; MacIarello, M.J.; Wheeler, K.A. (2003). Chemistry and ethnobotany of commercial incense copals, copal blanco, Copal Oro, and Copal Negro, of North America. **Economic Botany**, **57**: 189-202.

Castro, A.B.; Díaz, F.; Moneriz, C.E. (2020). **Fraccionamiento cromatográfico biodirigido del extracto etanólico de la corteza de *Bursera simaruba*, a través de la actividad antiplasmoidal *in vitro* en cultivos de *Plasmodium falciparum* cepa Dd2.**

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Tesis de Grado de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Cartagena. Cartagena de Indias. Colombia. 54 p.

Castro, O.N.; Santiago, J.C. 2020. **Estudio fitoquímico del líquen *Everniopsis trulla* y preparación de una crema protectora solar a base de quitosano con el extracto del liquen.** Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Universidad del Perú. Lima, Perú. 205 p.

Castro-Laportte, M. (2013). Estudio taxonómico del género *Bursera* Jacq. Ex L. (Burseraceae) en Venezuela. **Ernstia**, **23**: 125-169.

Chicharro, M. (2005). **Cromatografía, principios y aplicaciones. Análisis Químico.** http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/mo nchi/alim/traba3.pdf.

Clarkson, J.J.; Chase, M.W.; Herley, M.M. (2002). Phylogenetic relationships in Burseraceae based on plastid rps16 Intron Sequences. **Kew Bulletin**, **57**: 183-193.

Cole, J.R.; Bianchi, E.; Trumbull, E.R. (1969). Antitumor agents from *Bursera microphylla* (Burseraceae) II: Isolation of a new lignan-burseran. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, **58**: 175-176.

www.bdigital.ula.ve

CONABIO. (2013). **Copales, diversidad y cultura. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad**. Biodiversidad Mexicana. Ciudad de México: 74-89.

Consultado en fechas: 15/05/2016, 05/07/2022 y 06/07/2022.

Crowley, K.J. (1964). Some terpenic constituents of *Bursera graveolens* (H. B. K.) Tr. *et* Pl. var. *Villosula* Cuatr. **Journal of the Chemical Society**, **IV**: 4254-4256.

Cuadrado, C.T.; Castellanos, L.; Osorno, O.E.; Ramos, F.A.; y Duque, C.; Puyana, M. 2010. Estudio químico y evaluación de la actividad antifouling del octocoral caribeño *Eunicea laciniata.* **Química Nova**, **33**: 656-661.

Daly, D.C. (1993). Notes on *Bursera* in South-America, including a new species. Studies in neotropical Burseraceae VII. **Brittonia**, **45**: 240-246.

De la Cerda-Lemus, M.E. (2011). La familia Burseraceae en el estado de Aguascalientes, México. **Acta Botánica Mexicana**, **94**: 1-25.

De la Cruz-Cañizares, J.; Doménech-Carbó, M.T.; Gimeno-Adelantado, J.V.; Mateo-Castro, R.; Bosch-Reig, F. (2005). Study of Burseraceae resins used in binding media

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

and varnishes from artworks by gas chromatography–mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, **1093**: 177-194.

Dean, M.; Ashton, P. 2008. Leaf surfaces as a taxonomical tool: the case of *Carex* section *Phacocystis* (Cyperaceae) in the British Isles. **Plant Systematic & Evolution**, **273**: 97-105.

Doménech-Carbó, M.T.; Kuckova, S.; De la Cruz-Cañizares, J.; Osete-Cortina, L. (2006). Study of the influencing effect of pigments on the photoageing of terpenoid resins used as pictorial media. **Journal of Chromatography A**, **1121**: 248-258.

Domínguez, X.A.; Rzedowski, J.; Gutierrez, M.; Gómez, M. (1973). A phytochemical survey of 21 species of the genus *Bursera* (Burseraceae) natives of Mexico. **Revista Latinoamericana de Química**, **4**: 108-121.

Encarnación-Dimayuga, R.; Altamirano, L.; Maki, K. (1998b). Screening of medicinal plants from Baja California Sur (Mexico) by their effects on smooth muscle contractility. **Pharmaceutical Biology**, **36**: 124-130.

www.bdigital.ula.ve

Evans, P.H.; Becerra, J.X. (2006). Non-terpenoid essential oils from *Bursera chemapodicta*. **Flavour and Fragrance Journal**, **21**: 616-618.

Felger, R.S.; Moser, M.B. (1973). Seri Indian pharmacopoeia. **Economic Botany**, **28**: 415-436.

Felisbino, J.K.R.P.; Vieira, B.S.; de Oliveira, A.; da Silva, N.A.; Martins, C.H.G.; Santiago, M.B.; Muñoz, R.A.A.; Cunha, L.C.S.; Sousa, R.M.F. 2021. Identification of substances produced by *Cercospora brachiata* in absence of light and evaluation of antibacterial activity. **Journal of Fungi.** 2021. https://doi.org/10.3390/jof7090680.

Fernández, M.B.; Villar, A.M.; Iglesias, I. 1993. **Principios antiinflamatorios de *Teucrium buxifolium* Schreber.** Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. 385 p.

Fuentes, A. (2009). Identidad taxonómica y aspectos sobre la historia natural y usos del "Copal de los yungas" en Bolivia. **Kempffiana**, **5**: 3-19.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

García-Gutiérrez, H.A.; Cerda-García-Rojas, C.M.; Hernández-Hernández, J.D.; Román-Marín, L.U.; Joseph-Nathan, P. (2008). Oxygenated verticillene derivatives from *Bursera suntui*. **Phytochemistry**, **69**: 2844-2848.

García-Martínez, L.E. (2012). **Aspectos socio-ecológicos para el manejo sustentable del copal en el ejido de Acateyahualco, Gro.** (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México UNAM, México D.F, México. 97

Gross, J.H. (2004). **Mass spectrometry.** Springer-Verlag, Nueva York. 1-15 p.

Hassan, T.S. 2020. Brassicasterol with dual anti-infective properties against HSV-1 and *Mycobacterium tuberculosis*, and cardiovascular protective effect: nonclinical *in vitro* and *in silico* assessments. **Biomedicines**, **8**: 132-143. ID.103390. www.mdpi.com/journal/biomedicines.

Hernández, J.D.; García, L.; Hernández, A.; Álvarez, R.; Román, L.U. (2002). Glicósidos de luteolina y miricetina de Burseraceae. **Revista de la Sociedad Química de México**, **46**: 295-300.

Hernández, J.D.; García-Gutiérrez, H.A.; Román-Marín, L.U.; Torres-Blanco, Y.I.; Cerda-García-Rojas, C.M.; Joseph-Nathan, P. (2014). Absolute configuration of cembrane diterpenoids from *Bursera multijuga*. **Natural Product Communications**, **9**: 1249-1252.

Hernández, J.D.; Román, L.; Espiñeira, J.; Joseph-Nathan, P. (1983). Ariensin, a new lignan from *Bursera ariensis*. **Planta Médica**, **47**: 215-217.

Hernández, J.D.; Román-Marín, L.U.; Cerda-García-Rojas, C.M.; Joseph-Nathan, P. (2005). Verticillane derivatives from *Bursera suntui* and *Bursera kerberi*. **Journal of Natural Products**, **68**: 1598-1602.

Hernández, Z.G.; Chacón, I.C. (2019). **Asociaciones fenológicas y estacionales de volátiles de la resina de *Bursera simaruba* (L.) Sarg. y *Bursera tomentosa* (Jack.) Triana & Planch.** Tesis de Maestría en Biodiversidad y Conservación de Ecosistemas Tropicales. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Chiapas. México. 88 p.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Hernández-Pérez, E.; Gonzales-Espinosa, M.; Trejo, I.; Bonfil, C. (2011). Distribución del género *Bursera* en el estado de Morelos, México y su relación con el clima. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, **82**: 964-976.

Hoi, T.M.; Thai, T.H.; Lesueur, D.; Bighelli, A.; Casanova, J. (2004). Volatile components of *Bursera tonkinensis* Guill. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, **7**: 228-231.

Iglesias, M.J.; Soengas, R.; Probert, I.; Guilloud, E.; Gourvil, P.; Mehiri, M.; Lopez, Y.; Cepasd, V.; Gutiérrez, I.; Redondo, S.; Villar, C.J.; Lombo, F.; Soto, S.; López, F. 2019. NMR characterization and evaluation of antibacterial and antiobiofilm activity of organic extracts from stationary phase batch cultures of five marine microalgae (*Dunaliella* sp., *D. salina*, *Chaetoceros calcitrans*, *C. gracilis* and *Tisochrysis lutea*). **Phytochemistry**, **164: 192-205.** https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.05.001.

Ionescu, F.; Jolad, S.D.; Cole, J.R.; Aurora, S.K.; Bates, R.B. (1977). The structure of benulin, a new pentacyclic triterpene hemiketal isolated from *Bursera arida* (Burseraceae). **The Journal of Organic Chemistry**, **42**: 1627-1629.

Jaimes, J. (2009). **Evaluación preliminar de la actividad antiinflamatoria de las fracciones obtenidas de los extractos en petrol y en etanol de hojas y corteza de la planta *Bursera tomentosa* (JACQ) Tr. & Pl.** (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá DC, Colombia. 5-26.

Jiménez, A.; Tamara, Y. (2017). **Actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de corteza de tallo de *Annona purpurea* Mociño Sesse ex Dunal (Annonaceae) frente a dos patógenos nosocomiales de importancia clínica.** (Tesis de pregrado). Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia. 35-57.

Jolad, S.D.; Wiedhopf, R.M.; Cole, J.R. (1977a). Cytotoxic agents from *Bursera klugii* (Burseraceae) I: Isolation of sapelins A and B. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, **66**: 889-890.

Jolad, S.D.; Wiedhopf, R.M.; Cole, J.R. (1977b). Cytotoxic agents from *Bursera morelensis* (Burseraceae): deoxypodophyllotoxin and a new lignan, 5′-desmethoxydeoxy-podophyllotoxin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, **66**: 892-893.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Junor, G.A.O.; Porter, R.B.; Yee, T.; Williams, L.A. (2008a). Chemical composition and insecticidal activity of the essential oils from *Bursera hollickii* (Britton) found in Jamaica. **Journal of Essential Oil Research**, **20**: 560-565.

Junor, G.A.O.; Porter, R.B.R.; Yee, T.H. (2008b). The chemical composition of the essential oils from the leaves, bark and fruits of *Bursera simaruba* (L) Sarg. from Jamaica. **Journal of Essential Oil Research**, **20**: 426-429.

Junor, G.A.O.; Porter, R.B.R.; Yee, T.H. (2010a). Chemical composition of essential oils from the aerial parts of Jamaican *Bursera lunanii* Spreng. **Journal of Essential Oil Research**, **22**: 602-605.

Junor, G.A.O.; Porter, R.B.R.; Yee, T.H.; Waugh, T. (2010b). The volatile constituents from the leaves, bark and fruits of *Bursera aromatic* (Proctor) found in Jamaica. **Journal of Essential Oil Research**, **22**: 19-22.

Jutiviboonsuk, A.; Zhang, H.; Tan, G.T.; Ma, C.; Hung, N.V.; Cuong, N.M.; Bunyapraphatsara, N.; Soejarto, D.D.; Fong, H.H. (2005). Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. **Phytochemistry**, **66**: 2745.2751.

Kubitzki, K. (2011). **The families and genera of vascular plants: Volume X Flowerings plants eudicots: Sapindales, Cucurbitales, and Myrtaceae.** https://books.google.com.co/books?id=_hHvYeQYTTEC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

López, J.R.; Quijano, L. 2013. **Aislamiento e identificación de metabolitos de la esponja marina *Tethya californiana* (Laubenfels 1932), recolectada en Bahia de Todos los Santos, Baja California Norte.** Tesis de Maestría en Ciencias del Mar y Limnologia (Química Acuática). Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 127 p.

Loza-Cornejo, S.; Terrazas, T. 2003. Epidermal and hypodermal characteristics in North America Cactoideae (Cataceae). **Journal of Plant Research**, **116**: 27-35.

Maldini, M.; Montoro, P.; Piacente, S.; Pizza, C. (2009a). ESI-MS, ESI-MS/MS fingerprint and LC-ESI-MS analysis of proanthocyanidins from *Bursera simaruba* Sarg bark. **Natural Product Communications**, **4**: 1671-1674.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Maldini, M.; Montoro, P.; Piacente, S.; Pizza, C. (2009b). Phenolic compounds from *Bursera simaruba* Sarg. Bark: Phytochemical investigation and quantitative analysis by tandem mass spectrometry. **Phytochemistry**, **70**: 641-649.

Marston, A.; Dudan, G.; Gupta, M.P.; Solis, P.N.; Correa, M.D.; Hostettmann, K. (1996). Screening of Panamanian plants for molluscicidal activity. **International Journal of Pharmacognosy**, **34**: 15-18.

Martínez-Habibe, C. 2012. **Systematics, biogeography and leaf and architecture of *Bursera* subgen. *Bursera* (Burseraceae) in the Greater Antilles and Bahamas.** Dissertation, PhD Degree in Botany. Claremont Graduate University. 114 p.

McDoniel, P.B.; Cole, J.R. (1972). Antitumor activity of *Bursera schlechtendalii* (Burseraceae): Isolation and structure determination of two new lignans. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, **61**: 1992-1994.

Messina, F.; Curini, M.; Di Sano, C.; Zadra, C.; Gigliarelli, G.; Rascón-Valenzuela, L.A.; Robles Zepeda, R.E.; Marcotullio, M.C. (2015). Diterpenoids and triterpenoids from the resin of *Bursera microphylla* and their cytotoxic activity. **Journal of Natural Products**, **78**: 1184-1188.

www.bdigital.ula.ve

Mitchell, S.A.; Ahmad, M.H. (2006). A review of medicinal plant research at the University of the West Indies, Jamaica, 1948 – 2001. **West Indian Medical Journal**, **55**: 243-269.

Mojica, M.A.; León, A.; Rojas-Sepúlveda, A.M.; Marquina, S.; Mendieta-Serrano, M.A.; Salas-Vidal, E.; Villarreal, M.L.; Álvarez, L. (2016). Aryldihydronaphthalene-type lignans from *Bursera fagaroides* var. *fagaroides* and their antimitotic mechanism of action. **RSC Advances**, **6**: 4950-4959.

Molina, A.; Vargas, A.; Montealegre, C.P.; Ibarra, F.A. 2013. **Análisis fitoquímico de los terpenos presentes en la corteza de la especie "*Gustavia nana* Pittier".** Tesis de Pregrado en Educación Básica con énfasis en Ciencias Naturales y Educación Ambiental. Universidad Surcolombiana. Neiva – Huila. 129 p.

Molina, E.D. 2017**.** Determinación de la actividad, antioxidante, antiinflamatoria, **antiproliferativa y perfil químico de extractos de *Ziziphus obtusifolia***. Tesis de

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Doctorado en Ciencias (Químico Biológicas y de la Salud). Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora. México. 90 p.

Monzote, L., Hill, G., Cuellar, A., Scull, R; Setzer, W. (2012). Chemical composition and antiproliferative properties of *Bursera graveolens* essential Oil. **Natural Products Comunications**, **7**, 1531-1534.

Mooney, H.A.; Emboden Jr.; W.A. (1968). The relationship of terpene composition, morphology, and distribution of populations of *Bursera microphylla* (Burseraceae). **Brittonia**, **20**: 44-51.

Mora, J.A.; Newmark, F.; Santos, M.; Sánchez, J. 2008. Evaluación de extractos de esponjas marinas como nuevas fuentes de sustancias antimicrobianas. **Revista Española de Quimioterapia**, 21: 174-179.

Morales-Serna, J.A.; Cruz-Galicia, E.; García-Ríos, E.; Madrigal, D.; Gaviño, R.; Cárdenas, J.; Salmón, M. (2013). Three new diarylbutane lignans from the resin of *Bursera fagaroides*. **Natural Product Research**, **27**): 824-829.

Moreno, J.; Aparicio, R.; Velasco, J.; Rojas, L.B.; Usubillaga, A.; Lue-Meru, M. (2010a). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from fruits of *Bursera tomentosa*. **Natural Product Communications**, **5**: 311-313.

Moreno, J.; Rojas, L.B.; Aparicio, R.; Marco, L.M.; Usubillaga, A. (2010b). Chemical composition of the essential oil from the bark *Bursera tomentosa* (Jacq) Tr y Planch. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, **9**: 491-494.

Muñoz-Acevedo, A.; Serrano-Uribe, A.; Parra-Navas, X.J.; Olivares-Escobar, L.A.; Niño-Porras, M.E. (2013). Análisis multivariable y variabilidad química de los metabolitos volátiles presentes en las partes aéreas y la resina de *Bursera graveolens* (Kunth) Triana y Planch. De Soledad (Atlántico, Colombia). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, **12**: 322-337.

Murillo-Álvarez, J.I.; Encarnación, D.R.; Franzblau, S.G. (2001). Antimicrobial and cytotoxic activity of some medicinal plants from Baja California Sur (Mexico). **Pharmaceutical Biology**, **39**: 445-449.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Nakanishi, T.; Inatomi, Y.; Arai, S.; Yamada, T.; Fukatsu, H.; Murata, H.; Inada, A.; Matsuura, N.; Ubukata, M.; Murata, J.; Iinuma, M.; Perez Farrea, M.A.; Tanaka, T. (2003). New luteolin 3'-O-acylated rhamnosides from leaves of *Bursera graveolens*. **Heterocycles**, **60**: 2077-2083.

Nakanishi, T.; Inatomi, Y.; Murata, H.; Shigeta, K.; Iida, N.; Inada, A.; Murata, J.; Farrera, M.A.P.; Iinuma, M.; Tanaka, T.; Tajima, S.; Oku, N. (2005). A new and known cytotoxic aryltetralin-type lignans from stems of *Bursera graveolens*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, **53**: 229-231.

Noge, K.; Becerra, J.X. (2009). Germacrene D, a common sesquiterpene in the genus *Bursera* (Burseraceae). **Molecules**, **14**: 5289-5297.

Noge, K.; Shimizu, N.; Becerra, J.X. (2010). (R)- (-)-linalyl acetate and (S)-(-)-germacrene D from the leaves of Mexican *Bursera linanoe*. **Natural Product Communications**, **5**: 351-354.

Noge, K.; Venable, D.L.; Becerra, J.X. (2011). 2-Phenylethanol in the leaves of *Bursera velutina* Bullock (Burseraceae). **Acta Botánica Mexicana**, **97**: 9-16.

www.bdigital.ula.ve

Noguera, B.; Díaz, E.; García, M.V.; Feliciano, A.S.; López-Perez, J.L.; Israel, A. (2004). Anti-inflammatory activity of leaf extract and fractions of *Bursera simaruba* (L.) Sarg (Burseraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, **92**: 129-133.

Noguera, B.; López-Pérez, J.L.; San Feliciano, A.; Díaz, E.; García, M.V.; Israel, A. (2006). Actividad antiinflamatoria de la metil-ß-peltatina A aislada de la hoja de la sp. *Bursera simaruba* (L.). **Revista de la Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela**, **69**: 28-33.

Noriega-Ramos, O.A.; Regalado-Méndez, A.; Ramírez-Mares, J.M.V.; Báez-Gónzalez, J.G. (2010). Caracterización fisicoquímica del exudado de palo mulato y su potencial como aditivo en alimentos. *In*: **Acta del XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos**,: 6.

Ogunkunle, A.; Oladele, F. 2008. Leaf epidermal studies in some Nigerian species of *Ficus* L. (Moraceae). **Plant Systematic & Evolution**, **274**: 209-221.

Peraza-Sánchez, S.R.; Peña-Rodríguez, L.M. (1992). Isolation of picropolygamain from the resin of *Bursera simaruba*. **Journal of Natural Products**, **55**: 1768-1771.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Peraza-Sánchez, S.R.; Salazar-Aguilar, N.E.; Peña-Rodríguez, L.M. (1995). A new triterpene from the resin of *Bursera simaruba*. **Journal of Natural Products**, **58**: 271-274.

Puebla-Pérez, A.M. (1999). Actividad citotóxica, antitumoral e inmunológica de extractos obtenidos de *Bursera fagaroides*. (Tesis Doctoral). Universidad de Guadalajara. 94 p.

Puebla-Pérez, A.M.; Huacuja-Ruiz, L.; Rodríguez-Orozco, G.; Villaseñor-García, M.M.; Miranda-Beltrán, M.L.; Celis, A.; Sandoval-Ramírez, L. (1998). Cytotoxic and antitumour activity from *Bursera fagaroides* ethanol extract in mice with L5178Y lymphoma. **Phytotherapy Research**, **12**: 545-548.

Queiroga, C.L.; Teixeira, M.C.; Baesa, B.; de Magalhães, P.M. (2007). Linalool production from the leaves of *Bursera aloexylon* and its antimicrobial activity. **Fitoterapia**, **78**: 327-328.

Rahalison, L.; Hamburger, M.; Hostettmann, K.; Monod, M.; Frenk, E.; Gupta, M.P.; Santana, A.I.; Correa, M.D.; Gonzalez, A.G. (1993). Screening for antifungal activity of Panamanian Plants. **International Journal of Pharmacognosy**, **31**: 68-76.

www.bdigital.ula.ve

Rengifo, M.G.; Rosquete, C.; Mitaine-Offer, A.C.2017. **Estudio fitoquímico de tres especies venezolanas pertenecientes a las familias Burseraceae, Araliaceae y Lamiaceae y de dos cultivares de la familia Pittosporaceae.** Tesis de doctorado en Química Aplicada. Universidad de los Andes. Merida-Venezuela. 336 p.

Reynoso-Orozco, R.; Delgado-Saucedo, J.I.; Puebla-Pérez, A.M.; Calvo-Méndez, C.; Carr, D.; Velázquez-Magaña, S.; Santerre, A. (2008a). Difluorometil ornitina y el extracto acuoso de *Bursera fagaroides* en el modelo de linfoma murino L5178y en ratones BAB/C: comparación de su efecto en el metabolismo de las poliaminas. **Revista de Salud Animal**, **30**: 128-132.

Reynoso-Orozco, R.; Santerre, A.; Delgado-Saucedo, J.I.; Solís, J.C.; Velázquez-Magaña, S.; Puebla-Pérez, A.M. (2008b). Polyamines as biomarkers of the antitumoral activity of *Bursera fagaroides*. **Interciencia**, **33**: 384-388.

Robles, J.; Torrenegra, R.; Gray, A.I.; Piñeros, C.; Ortiz, L.; Sierra, M. (2005). Triterpenos aislados de corteza de *Bursera graveolens* (Burseraceae) y su actividad biológica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, **15**: 283-286.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Rojas, N.M.; Rodríguez, M. (2008). Actividad antimicrobiana de *Tectona grandis* L. f., *Bursera simaruba* (L.) Sarg. y *Cedrela odorata* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, **13**: *versión On-line* ISSN 1028-4796.

Rojas-Sepúlveda, A.M.; Mendieta-Serrano, M.; Mojica, M.Y.A.; Salas-Vidal, E.; Marquina, S.; Villarreal, M.L.; Puebla, A.M.; Delgado, J.I.; Álvarez, L. (2012). Cytotoxic podophyllotoxin type-lignans from the steam bark of *Bursera fagaroides* var. *fagaroides*. **Molecules**, **17**: 9506-9519.

Román-Ramos, R.; Lara, A.; Alarcón, F.; Flores, J.L. (1992). Hypoglycemic activity of some antidiabetic plants. **Archives of Medical Research**, **23**: 105-109.

Rosales, K.; Ciccio, J.F. (2002). The volatile oil of the fruits of *Bursera simaruba* (L.), Sarg. (Burseraceae) from Costa Rica. **Ingeniería y Ciencia Química**, **20**: 60-61.

Rosas-Piñón, Y.; Mejía, A.; Díaz-Ruiz, G.; Aguilar, M.I.; Sánchez-Nieto, S.; Rivero-Cruz, J.F. (2012). Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections. **Journal of Ethnopharmacology**, **141**: 860-865.

www.bdigital.ula.ve

Rzedowski, J.; Guevara-Féfer, F. (1992). Burseraceae. **Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes**, **3**: 1-46.

Rzedowski, J.; Lemus, R.M.; Rzedowski, G.C. (2004). Las especies de *Bursera* (Burseraceae) en la cuenca superior del río Papaloapan (México). **Acta Botánica Mexicana**, **66**: 23-151.

Rzedowski, J.; Medina-Lemos, R.; Calderón, G. 2005. Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). **Acta Botánica Mexicana**, **70**: 85-111.

Sánchez, A.T.; Quijano, L. 2010. **Aislamiento, elucidación estructural y evaluación de la actividad biológica de los compuestos provenientes de la esponja *Colina californiana* (De Laubenfels, 1932).** Tesis de Maestría en Ciencias (Química Marina). Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 84 p.

Sánchez-Monroy, M.B.; García-Bores, A.M.; Contreras-Jiménez, J.L.; Torres, D.E.; San Miguel-Chávez, R.; Guevara-Fefer, P. (2020). Biological activity and flavonoid profile of five species of the *Bursera* genus. **Botanical Sciences**, **98**: 545-553.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Santana, P.M.; Miranda, M.; Gutiérrez, Y.; García, G.; Orellana, T.; Orellana, A. (2009). Efecto antiinflamatorio y composición química del aceite de ramas de *Bursera graveolens* Triana y Planch. (Palo santo) de Ecuador. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, **14**: 45-53.

Serrano, H.; García-Suárez, M.D. (2001). Sperm aggregation by water extracts from two *Bursera* species. **Archives of Andrology**, **46**: 15-20.

Siani, A.C.; Nakamura, M.J.; Tappin, M.R.; Monteiro, S.; Guimarães, A.C.; Ramos, M.S. (2012). Chemical composition of South American Burseraceae non-volatile oleoresins and preliminary solubility assessment of their commercial blend. **Phytochemical Analysis**, **23**: 529-539.

Silverstein, M.; Bassler, C.; Morrill, D. 1980. Identificación espectrometrica de compuestos orgánicos. Editorial Diana S, A. México, D.F. 351 p.

Simón, W.; Clerc, T. 1980. **Elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos**. Tomo I. Tablas. Editorial Alhambra. Madrid. 95 p.

Sosa, S.; Balick, M.J.; Arvigo, R.; Esposito, R.G.; Pizza, C.; Altinier, G.; Tubaro, A. (2002). Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. **Journal of Ethnopharmacology**, **81**: 211-215.

Souza, M.P.; Machado, M.I.L.; Braz-Filho, R. (1989). Six flavonoids from *Bursera leptophloeos*. **Phytochemistry**, **28**: 2467-2470.

Srivastava, A. (1978). Study of leaf epidermis in the genus *Digitaria* Rich. (Gramineae). J. **Indian Botanical Society**, **57**: 155-160.

Stace, C. (1965). Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. **Bulletin of the British Museum of Natural History and Botanic**, **4**: 3-78.

Stace, C. (1980). The significance of the leaf epidermis in the taxomy of the Combretataceae: conlusions. **Botanical Journal of the Linnaeo Society**, **81**: 327-339.

Stace, C. (1984). The taxonomic importance of the leaf surface. *In*: Heywood, V.H. & Moore, D. M. (Eds.). **Current concepts in plant taxonomy.** Academic Press. London. 67-94 pp.

Stuart, B.H. (2004). **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications.** Wiley. England. 203 p.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Suleimen, Y.M.; Ahmed M. Metwaly, A.M.; Mostafa, A.E.; Elkaeed, E.B.; Liu, H-W.; Basnet, B.B.; Suleimen, R.N.; Ishmuratova, M.Y.; Turdybekov, K.M.; Van Heske, K. 2021. Isolation, crystal structure, and *in silico* aromatase inhibition activity of ergosta-5, 22-dien-3*β*-ol from the fungus *Gyromitra esculenta*. **Hindawi Journal of Chemistry**. 2021. ID 5529786. https://doi.org/10.1155/2021/5529786.

Syamasundar, K.V.; Mallavarapu, G.R. (1995). Two triterpenoid lactones from the resin of *Bursera delpechiana*. **Phytochemistry**, **40**: 337-339.

Syamasundar, K.V.; Mallavarapu, G.R.; Krishna, E.M. (1991). Triterpenoids of the resin of *Bursera delpechiana*. **Phytochemistry**, **30**: 362-363.

Sylvestre, M.; Pichette, A.; Longtin, A.; Legault, J. (2007). Volatile leaf constituents and anticancer activity of *Bursera simaruba* (L.) Sarg. essential oil. **Natural Product Communications**, **2**: 1273-1276.

Tene, V.; Malagón, O.; Finzi, P.V.; Vidari, G.; Armijos, C.; Zaragoza, T. (2007). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchipe, Ecuador. **Journal of Ethnopharmacology**, **111**: 63-81.

www.bdigital.ula.ve

The Plant List (2013). **The Plant List: A working list of all plant species** [Contenido Web]. http://www.theplantlist.org

Trumbull, E.R.; Cole, J.R. (1969). Antitumor agents from *Bursera microphylla* (Burseraceae) III: Synthesis of burseran. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, **58**: 176-178.

Tucker, A.O.; Maciarello, M.J.; Brown, R.C.; Landrum, L.R.; Lafferty, D. (2009). Essential oils from the oleo-gumresins of elephant tree or torote (*Bursera microphylla* A. Gray, Burseraceae) from Arizona. **Journal of Essential Oil Research**, **21**: 57-58.

Tursch, B.; Tursch, E. (2010). Triterpene du latex de *Bursera*. **Bulletin des Sociétés Chimiques Belges**, **70**: 585-591.

Velázquez-Jiménez, R.; Torres-Valencia, J.M.; Cerda-García-Rojas, C.M.; Hernández-Hernández, J.D.; Román-Marín, L.U.; Manríquez-Torres, J.J.; Gómez-Hurtado, M.A.; Valdez-Calderón, A.; Motilva, V.; García-Mauriño, S.; Talero, E.; Ávila, J.; Joseph-Nathan, P. (2011). Absolute configuration of podophyllotoxin related lignans from *Bursera fagaroides* using vibrational circular dichroic. **Phytochemistry**, **72**: 2237-2243.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Wickramaratne, D.B.M.; Mar, W.; Chai, H.; Castillo, J.J.; Farnsworth, N.R.; Soejarto, D.D.; Cordell, G.A.; Pezzuto, J.M.; Kinghorn, A.D. (1995). Cytotoxic constituents of *Bursera permollis*. **Planta Medica**, **61**: 80-81.

Xu, Y.; Ryu, S.; Lee, Y-K.; Lee, H-J. 2020. Brassicasterol from edible aquacultural *Hippocampus abdominalis* exerts an anti-cancer effect by dual-targeting AKT and AR signaling in prostate cancer. **Biomedicines**, **8**: 270-288. ID.103390. www.mdpi.com/journal/biomedicines.

Yang, H.; Wang, H.; Li. D. 2008. Comparative morphology of the foliage leaf epidermis with emphasis on papillae characters, in key taxa of woody bamboos of Asian tropics (Poaceace: Bambusoideae). **Botanical Journal of the Linnaeo Society**, **156**: 411-423.

Yasunaka, K.; Abe, F.; Nagayama, A.; Okabe, H.; Lozada-Pérez, L.; López-Villafranco, E.; Muñiz, E.E.; Aguilar, A.; Reyes-Chilpa, R. (2005). Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthones. **Journal of Ethnopharmacology**, **97**: 293-299.

Young, D.G.; Chao, S.; Casablanca, H.; Bertrand, M.C.; Minga, D. (2007). Essential oil of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana *et* Planch from Ecuador. **Journal of Essential Oil Research**, **19**: 525-526.

Yukawa, C.; Imayoshi, Y.; Iwabuchi, H.; Komemushi, S.; Sawabe, A. (2006). Chemical composition of three extracts of *Bursera graveolens*. **Flavour and Fragrance Journal**, **21**: 234-238.

Yukawa, C.; Iwabuchi, H. (2003). Terpenoids in volatile oil from **Bursera graveolens**. **Journal of Oleo Science**, **52**: 483-489.

Yukawa, C.; Iwabuchi, H.; Kamikawa, T.; Komemushi, S.; Sawabe, A. (2004a). Terpenoids of the volatile oil of *Bursera graveolens*. **Flavour and Fragrance Journal**, **19**: 565-570.

Yukawa, C.; Iwabuchi, H.; Komemushi, S.; Sawabe, A. (2004b). Eudesmane-type sesquiterpenoids in the volatile oil from *Bursera graveolens*. **Journal of Oleo Scienc**e, **53**: 343-348.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Yukawa, C.; Iwabuchi, H.; Komemushi, S.; Sawabe, A. (2005). Mono- and sesquiterpenoids of the volatile oil of *Bursera graveolens*. **Flavour and Fragrance Journal**, **20**: 653-658.

Zou, P.; Liao, J.; Zhang, D. 2008. Leaf epidermal micromorphology of *Cercis* (Fabaceae: Caesalpinioideae). **Botanical Journal of the Linnaeo Society**, **158**: 539-547.

Zúñiga, B.; Guevara-Fefer, P.; Herrera, J.; Contreras, J.L.; Velasco, L.; Pérez, F.J.; Esquivel, B. (2005). Chemical composition and anti-inflammatory activity of the volatile fractions from the bark of eight Mexican *Bursera* species. **Planta Médica**, **71**: 825-828.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

13. GLOSARIO.

Alifáticos: son compuestos orgánicos constituidos por carbono e hidrógeno cuyo carácter no es aromático. Que es de cadena abierta.

Aromaticidad: describe la resonancia de los **dobles enlaces conjugados en moléculas cíclicas** y permite que las moléculas adquieran una **geometría plana** con mayor estabilidad.

Biosintetizar: proceso celular mediante el cual los organismos vivos elaboran sustancias químicas complejas a partir de otras más sencillas, con el consecuente gasto de energía metabólica.

Clorofila: es el **pigmento fotosintético por excelencia.** Otorga el color verde presente en las plantas y son las moléculas responsables de la transformación de la energía lumínica a energía química, en el proceso llamado fotosíntesis.

Cromatografía: es una técnica de separación en la que los componentes de una muestra se separan en dos fases: una fase estacionaria de gran área superficial, y una fase móvil

Caducifolio (plantas): hace referencia a los árboles o arbustos que pierden su follaje durante una parte del año, la cual coincide en la mayoría de los casos con la llegada de la época desfavorable.

Decocción: preparado que se realiza hirviendo el agua y la planta al mismo tiempo. Normalmente, se usa esta técnica para las raíces, corteza, tallos o semillas que son partes más duras. Tiene que hervir a fuego lento, y el tiempo de ebullición dependerá de la dureza de lo que se utilice.

Epidermis: El tejido epidérmico vegetal es el protector vivo que recubre la superficie de toda la planta cuando ésta posee estructura primaria.

Extracto: Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.

Exudado: cualquiera de las sustancias secretadas a través de los poros de los tejidos enfermos o dañados de las plantas. Las resinas, gomas, aceites y lacas son ejemplos de exudados que se extraen con fines industriales.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

Fitoquímico: Las sustancias fitoquímicas son compuestos producidos por las plantas ("fito" significa "planta"). La **Fitoquímica** es una disciplina científica que tiene como objeto el aislamiento, análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias producidas por los vegetales.

Género: es una categoría taxonómica que se ubica entre la familia y la especie; así, un género es un grupo de organismos que a su vez puede dividirse en varias especies.

Gemínales:

Inflorescencia: forma en que aparecen colocadas las flores en las plantas.

Infusión: preparado en el que se hierve primero el agua, y una vez que esta alcanza el punto de ebullición se introducen las flores o las hojas desmenuzadas de la planta. No hace falta hervir la planta porque se usan las partes más tiernas.

Mesocarpio (o pseudoarilo): capa media de las tres que forman el pericarpio de los frutos, como la parte carnosa del melocotón.

Olefínicos: El grupo de compuestos de hidrocarburos que tiene uno o más enlaces dobles o triples entre los átomos de carbono en la cadena lineal.

www.bdigital.ula.ve

Oleorresina: mezcla más o menos fluida de resina y aceite esencial, como por ejemplo la trementina de pino.

Pireno (o endocarpio): capa interna de las tres que forman el pericarpio de los frutos, que puede ser de consistencia leñosa, como el hueso del melocotón.

Resina: sustancia sólida o de consistencia pastosa, insoluble en el agua, soluble en el alcohol y en los aceites esenciales, y capaz de arder en contacto con el aire, obtenida naturalmente como producto que fluye de varias plantas.

Taxonomía (botánica): parte de la Botánica que trata de la ordenación de las plantas en grupos de parentesco

Tradicional: es un adjetivo que se refiere a aquello perteneciente o relativo a la tradición.

Verticilio: En botánica se llama verticilio a un conjunto de tres o más hojas, ramas u otros órganos que brotan de un tallo en el mismo nivel.

Xerófilos: se dice de todas las plantas y asociaciones vegetales adaptadas a la vida en un medio o un ambiente seco.

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

14. ACRÓNIMOS Y ABREVIACIONES.

1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
^{13}C	Isótopo de carbono con una masa de 13 uma
CC	Cromatografía en columna
CCF (TLC)	Cromatografía de capa fina
CCFP (PTLC)	Cromatografía de capa fina preparativa
CG	Cromatografia de gases
$CHCl_3$	Cloroformo
CH_2Cl_2	Diclorometano
cm	Centímetro
CMB (MBC)	Concentración Mínima Bactericida
CMI (MIC)	Concentración Mínima Inhibitoria
COSY	COrrelated SpectroscopY
δ	Desplazamiento químico respecto al TMS medido en ppm
DEPT	Distorsionaless Enhancement by Polarization Transfert
EM (MS)	Espectrometria de masas
Emax	Máximo de energía
EtOH	Etanol
Et_2O	Éter etílico
eV	Electrón-voltio
^{1}H	Isótopo de hidrógeno con una masa de 1 uma (protio)
H_2O	Agua
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation Spectroscopy

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual

HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HR-ESI	High Resolution-Electro Spray Inyection
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence Spectroscopy
Hz	Herzios
ID50	Dosis inhibitoria 50 (dosis que inhibe el crecimiento de la mitad de los individuos o colonias)
IR	Espectroscopía Infrarroja
J	Constante de acoplamiento (Hz)
LC50	Concentración letal 50 (concentración que mata la mitad de los individuos)
µg	Microgramo
mg	Miligramo
m	Multiplete
MeOH	Metanol
mm	Milímetro
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography
NOESY	Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
OH	Hidroxilo
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
TOCSY	Total Correlation SpectroscopY
VLC	Vacuum Liquid Chromatography

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial- Compartir igual