

ESTUDIO FITOQUIMICO DE HOJAS Y CORTEZA DE
Bursera graveolens

LUZ MARLENY CORREA BARRERA

TESIS DE GRADO
PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLOGICAS
ENFASIS EN FITOQUIMICA

JORGE ROBLES CAMARGO
Director

JULIO ROBERTO PINZON JOYA
Asesor

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
BOGOTÁ, D.C. 2006

**“La universidad no se hace responsable
por los conceptos emitidos por sus
alumnos en sus tesis de grado”
(Art.23 de la resolución No.13
de julio de 1996)**

ACEPTACION

APROBADO

Dr. AUGUSTO RIVERA UMAÑA
Jurado 1

Dra. ELIZABETH GIL ARCHILA
Jurado 2

Dr. CARLOS CORREDOR PEREIRA
Jurado 3

ESTUDIO FITOQUIMICO DE HOJAS y CORTEZA DE
Bursera graveolens

APROBADO

CARLOS CORREDOR P. PhD.
Director de Postgrados
Facultad de Ciencias

ANGELA UMAÑA M. MPhil
Decana Académica
Facultad de Ciencias

Dedicatoria:
A LUIS AUGUSTO ACUÑA M.
Por su constante e incondicional apoyo

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA:

Laboratorio de RMN: Profesor Ricardo Fierro
 Profesor Julio R. Pinzón
 Profesor Eliceo Abella

Laboratorio Síntesis Org. Profesor Augusto Rivera

Biblioteca de Química y Farmacia

AL PROFESOR JAIME CASAS - PUJ

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCION.....	1
2. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.....	3
2.1. Distribución geográfica.....	6
2.2. Descripción taxonómica.....	7
2.3. Usos e importancia económica.....	8
2.4. Fitoquímica.....	10
3. MATERIALES Y METODOS.....	14
3.1. Pruebas químicas preliminares.....	16
3.2. Tamaño de muestra.....	18
3.3. Técnicas generales.....	19
3.4. Fraccionamiento y purificación.....	20
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	25
4.1. Compuesto B-61.....	25
4.2. Compuesto LMCB1.....	40
4.3. Compuesto B – 95.....	53
4.3.1. Resultados de las pruebas por espectroscopía UV.....	54
4.3.2. Resultado de los experimentos de RMN ¹ H y ¹³ C.....	59
4.4. Compuesto BX.....	75
5. CONCLUSIONES.....	80
6. BIBLIOGRAFIA.....	81

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Química de Burseráceas – resumen.....	13
Tabla 2.	Pruebas químicas preliminares de hojas	17
Tabla 3.	Pruebas químicas preliminares de corteza.....	17
Tabla 4.	Tamaño de la muestra expresada en gramos.....	18
Tabla 5.	Datos de RMN ¹ H de B – 61 obtenidos del espectro unidimensional y sus correlaciones con la RMN ¹³ C obtenidas de espectros bidimensionales...36	
Tabla 6.	Datos de RMN ¹³ C de B – 61 y sus correlaciones con la RMN ¹ H obtenidas de espectros bidimensionales.....	37
Tabla 7.	Datos de RMN ¹ H de LMCB1 obtenidos del espectro unidimensional y sus correlaciones con la RMN ¹³ C obtenidas de espectros bidimensionales...49	
Tabla 8.	Datos de RMN ¹³ C de LMCB1 y sus correlaciones con la RMN ¹ H obtenidas de espectros bidimensionales....	50
Tabla 9.	Variación en la absorción U.V. en nm de la muestra B – 95.....	54
Tabla 10	Datos de RMN ¹ H de B-95 obtenidos del espectro unidimensional y sus correlaciones con la RMN ¹³ C obtenidas de espectros bidimensionales...70	
Tabla 11.	Datos de RMN ¹³ C de B-95 y sus correlaciones con la RMN ¹ H obtenidas de espectros bidimensionales....	71

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	B. graveolens.....	7
Figura 2.	Diagrama de flujo. Procedimiento material vegetal.....	15
Figura 3.	RMN ¹ H – Sustancia B – 61.....	28
Figura 3a.	RMN ¹ H – Sustancia B – 61 ampliada.....	29
Figura 4.	RMN ¹³ C – Sustancia B – 61.....	30
Figura 5.	DEPT 135 – Sustancia B – 61.....	31
Figura 6.	DEPT 90 – Sustancia B – 61.....	32
Figura 7.	DEPT 45 – Sustancia B – 61.....	33
Figura 8.	HMQC – Sustancia B – 61.....	34
Figura 9.	HMBC – Sustancia B – 61.....	35
Figura 10.	Correlación de señal en 29.67 ppm con 1.25 δ a ¹ J y ³ J...38	
Figura 11.	Ácido 3-(metilcetoxi)-12-oleanen-28-oico (Compuesto B-61).....	39
Figura 12.	RMN ¹ H – Sustancia LMCB1.....	42
Figura 12a.	RMN ¹ H – Sustancia LMCB1 ampliada.....	43
Figura 13.	RMN ¹³ C – Sustancia LMCB1.....	44
Figura 14.	DEPT 135 – Sustancia LMCB1.....	45
Figura 15.	DEPT 90 – Sustancia LMCB1.....	46
Figura 16.	DEPT 45 – Sustancia LMCB1.....	47
Figura 17.	HMQC – Sustancia LMCB1.....	48
Figura 18.	HMBC - Sustancia LMCB1	51
Figura 19.	β- Sitosterol (compuesto LMCB1).....	52
Figura 20.	Espectro UV de B-95 en MeOH.....	55
Figura 21.	Espectro UV. De B-95 en MeOH + NaOMe.....	56
Figura 22.	Espectro UV. B-95 en MeOH + NaOAc.....	57
Figura 23.	Espectro UV. De B-95 en MeOH + NaOAc + H ₃ BO ₃	58

Figura 24.	Espectro UV. de B-95 en MeOH + AlCl ₃ y MeOH + AlCl ₃ + HCl.....	58
Figura 25.	Estructura molecular de B-95 según análisis de espectros UV.....	59
Figura 26.	RMN ¹ H – Sustancia B-95.....	63
Figura 27.	RMN ¹³ C – Sustancia B-95.....	64
Figura 28.	DEPT 135 – Sustancia B-95.....	65
Figura 29.	DEPT 90 – Sustancia B-95.....	66
Figura 30.	DEPT 45 – Sustancia B-95.....	67
Figura 31.	HMQC – Sustancia B-95.....	68
Figura 32.	HMBC – Sustancia B-95.....	69
Figura 33.	COSY ¹ H – ¹ H. Sustancia B-95.....	72
Figura 34.	HMBC de B-95. Señales residuales en δ 6.92 y δ 8.04.....	73
Figura 35.	2-(4-hidroxifenil)-7-(1-hidroglucopiranosil)-6,8-dihidroxiavona.....	74
Figura 36.	Cromatograma de la sustancia BX.....	75
Figura 37.	Espectro masas del compuesto con tiempo de retención 25.267.....	76
Figura 38.	Olean-12-en-28-ilmetanoato de metilo (tr = 25.267).....	77
Figura 39.	Fragmentación compuesto tr = 25.267 min.....	78

RESUMEN

Este trabajo se realizó con el fin de aislar e identificar los metabolitos secundarios de hojas y corteza de *Bursera graveolens*. Del extracto etanólico del material vegetal obtenido en soxhlet y por maceración en frío, se obtuvieron las fracciones de éter de petróleo, diclorometano y acetato de etilo. Estas fueron sometidas a cromatografía en columna utilizando solventes en orden creciente de polaridad, cromatografía en capa fina y cristalizaciones y recristalizaciones como métodos de purificación. La elucidación estructural se realizó por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H y de ^{13}C , Espectrometría de Masas (EM) y comparación con la literatura. Como resultado fueron aislados dos compuestos caracterizados como triterpenos pentacíclicos del grupo del Oleanano: Ácido 3-(metilcetoxi)-12-oleanen-28-oico, Olean-12-en-28-ilmetanoato de metilo; un compuesto como triterpeno tetracíclico: β -sitosterol y un compuesto perteneciente a los flavonoides: la 2-(4-hidroxifenil)-7-(1-hidroglucopiranosil)-6,8-dihidroxiavona.

ABSTRACT

This research was carried out in order to isolate and to identify the secondary metabolites from leaves and bark of *Bursera graveolens*. From the ethanolic extract of the vegetable material - which was extracted by a Soxhlet bulb and cold maceration - fractions of petroleum ether, dichloromethane and ethyl acetate were obtained. Those fractions were put in a column chromatography process, using solvents in an increasing order of polarity; a thin layer chromatography and recrystallizations processes were used as purifying methods. The structural elucidation of compounds was carried out by ^1H and ^{13}C of Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Mass Spectroscopy (MS) and comparison with literature data. As a result were characterized: two compounds pentacyclic triterpenes with a oleanane group; 3-(methylacetoxi)-12-oleanen-28-oic acid and methyl Olean-12-en-28-olmetanoate; one compound tetracyclic triterpeno: β -sitosterol; one compound belonging flavonoids: 2-(4-hydroxyphenyl)-7-(1-hydroglucopyranosil)-6,8-dihydroxiflavone.

1. INTRODUCCIÓN

La investigación objeto de este estudio se encuentra enmarcada dentro del gran proyecto “Aislamiento de principios biológicamente activos presentes en especies colombianas de la familia *Burseraceae*”, registrado en COLCIENCIAS bajo el código No. 1203-05-10122 y con el contrato No. 449-2000.

Aunque existen referencias bibliográficas sobre compuestos químicos ya aislados de la especie *B. graveolens* como el ácido 2,3-secoolean-12-en-2,3,28-tricarboxílico (Samy A. Khalid, 1983); los ácidos elémico, resínico I y resínico II; reseno y resinas que poseen los grupos C=O, CH₂, CH₃ simétrico y asimétrico, manifestados en la tesis de Yolanda Ovalle y Gilma Daza (1965), bien valió la pena aislar e identificar otros metabolitos de tipo secundario que constituyen parte esencial medicinal de la planta en cuestión.

Se conoce además, la presencia de monoterpenos, triterpenos y sesquiterpenos, entre otros, por estudios fitoquímicos ya realizados con especies de otros géneros de la familia *Burseraceae*. Se sabe además y como lo afirma Calderón, E. (1963), refiriéndose a las esencias, que estas pueden variar de una especie a otra de la misma planta y en ocasiones, las diferentes partes de un mismo vegetal suministran esencias diferentes; concepto que puede extenderse a los metabolitos en general.

Fue indispensable entonces para la identificación y elucidación de estructuras de metabolitos presentes en la especie, la realización de ciertas etapas y mecanismos tales como: Obtención de extractos etanólicos de hojas y corteza de *Bursera graveolens*; obtención de fracciones de diferentes polaridades (de hojas y corteza); separación de metabolitos secundarios

mayoritarios a partir de las fracciones obtenidas; aislamiento de los metabolitos secundarios mayoritarios obtenidos de las diferentes fracciones; purificación de los metabolitos aislados e identificación de los mismos, utilizando técnicas analíticas como RMN, U.V y CG - EM. Estos, además de la fase inicial de recolección y maceración del material vegetal, facilitaron el logro de los objetivos.

2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

Una de las características del género *Bursera* (dedicado a Joachim Burser 1583-1649, físico y botánico alemán), es la presencia de resina de olor característico en toda la planta, pero con mayor abundancia por debajo de la corteza donde se extienden canales que llevan este líquido viscoso que al contacto con el aire endurece; la función biológica en el árbol es servir como cicatrizante natural, ya que al sufrir algún daño físico la resina brota y cubre la herida. (Mesoamérica, 2002).

En cuanto a las características morfológicas de este género se destacan las siguientes: Árboles resinosos aromáticos con hojas deciduas, alternas, imparipinnado-compuestas, membranáceas, papiráceas y a veces coriáceas; raquis liso o alado; folíolos íntegros, festonados o aserrados. Flores pequeñas o en panículas subterminales generalmente aglomeradas en los extremos de las ramas tiernas antes de la floración. Flores unisexuales o hermafroditas; cáliz 4-5 sépalos medio soldados en la base; pétalos 4-5 libres, ovales u oblongos, verdosos o coloreados, más largos que los sépalos, prefloración contorta; estambres de 8-10 insertos exteriormente en la base del disco; filamentos subulados; anteras elíptico-oblongas insertas encima de la base; disco angular liso y grueso; ovario sésil, ovoideo 2-3 locular; dos óvulos pendientes del ángulo superior interno en cada cavidad; estilo cortísimo; 2-3 estigmas engrosados. Fruto en drupa ovoidea elipsoidea o suborbicular, ligeramente biconvexa o trígona; epicarpio carnoso coriáceo, dehiscente en 2-3 valvas; mesocarpo carnoso-mucilaginoso, coloreado, con aspecto aliroide; endocarpo óseo monopireno (pirenos soldados) duro, con 2-3 celdas pero solo una fértil y monosperma, las otras (1 ó 2) estériles casi imperceptibles, rarisísimamente 2 o 3 fértiles. Semilla ovoidea, testa membranácea, embrión recto, cotiledones foliáceos contortuplicados (J. ROBLES, 1995).

El género *Bursera* se extiende por regiones relativamente secas o áridas desde México hasta el Brasil. En Colombia son árboles característicos de los bosques o sabanas caducifolias de las zonas de largo verano seco. También se han descrito allí cuatro especies que son:

B. simaruba (nombres comunes: “caratero”, “almásigo”, “mulato”, “indio en cuero”, “tacamaca”, “aria”).

B. glabra (Nombre común: “Bija”).

B. tomentosa (nombres comunes: “tachuelo”, “tatamaco”, “sasafrás”).

B. tomentosa var. *pubescens*

B. graveolens (nombres comunes: “caraño”, “palo Santo”, “bija”, “tamagaco”, “chachique”, “tatamaco”, “sasafrás”).

B. graveolens var. *villosula* (nombre común: “tatamaco”).

El género *Bursera* pertenece a la familia *Burseraceae*; de esta se reconocen entre 16 y 18 géneros con especies entre 500 y 600, distribuidas en América tropical, N E de África y Malasia.

Algunas especies de *Bursera* presentadas en el Vascular Plant Type Catalog por The New York Botanical Garden, (2003) son las siguientes:

Bursera

Bursera amplifolia Rusby

Bursera angustata C. Wright ex Griseb.

Bursera aromatica Proctor

Bursera asplenifolia Brandegee

Bursera citronella McVaugh & Rzed.

Bursera coyucensis Bullock

Bursera crenata Paul G. Wilson

Bursera denticulata McVaugh & Rzed.

Bursera fagaroides (Kunth) Engl. var. *elongata* McVaugh & Rzed.

Bursera fragilis S. Watson

Bursera grandifolia Engl. fm. *robusta* Bullock
Bursera graveolens Triana & Planch. var. *villosula* Cuatrec.
Bursera heteresthes Bullock
Bursera hintoni Bullock
Bursera howellii Standl.
Bursera inaguensis Britton
Bursera inversa Daly
Bursera itzae Lundell
Bursera laxiflora S. Watson
Bursera longicuspis Lundell
Bursera mcvaughiana Cuevas & Rzed.
Bursera medranoana Rzed. & E. Ortiz
Bursera microphylla A. Gray
Bursera occulta McVaugh & Rzed.
Bursera palmeri S. Watson
Bursera palmeri S. Watson var. *glabrescens* S. Watson
Bursera panamensis Pittier
Bursera pringlei S. Watson
Bursera ribana Rzed. & Calderón
Bursera sessiliflora Engl. var. *pubivalvis* Bullock
Bursera stenophylla Sprague & L. Riley
Bursera steyermarkii Standl.
Bursera tenuifolia Rose
Bursera trifoliolata Bullock
Bursera vasquezyanesii Rzed. & Calderón
Bursera velutina Bullock
Bursera velutina Bullock var. *parvifolia* Bullock
Bursera velutinifolia R. S. Cowan

Como se muestra en la lista anterior, la única especie Colombiana reportada es la *Bursera graveolens* Triana & Planch. var. *villosula* Cuatrec.

De La *Bursera graveolens*, objeto del presente trabajo de investigación, se conocen los siguientes datos bibliográficos:

2.1. Distribución geográfica:

Bursera graveolens (H.B.K.) Triana y Planchon, se encuentra distribuida desde Yucatán por Centroamérica hasta Colombia y Perú (García-Barriga. 1992). En Colombia ha sido colectada en la selva de Casacoima cerca al arroyo de Cipacua, cercanías de Barranquilla y en Barranquilla (Atlántico) donde se conoce como “caraño”. En el cañón del Chicamocha, municipio de Soatá (Boyacá) donde se le conoce como “tamajaco”. En el Cerrito, camino a San Andrés de la Sierra (Magdalena) en donde se conoce como “caraña” y “bija”. En Mariquita (Tolima). En Cali (Valle). En Agua de Dios, Ricaurte, Tocaima (Cundinamarca), donde se le conoce con el nombre de “Sasafrás”.

Crece en la parte baja de las vertientes occidentales del norte peruano (800-1200 msnm), conjuntamente con otros arbustos propios de estos ambientes xerofíticos o subxerofíticos. De las 50 especies de *Bursera* solo 1 crece en el Perú. (The Andean Botanical information system, 1997)

En Perú ha sido registrada en los Departamentos de tumbes, Piura y Huancavélica. (Macbride, 1956) en Correa, J. Y Bernal, H. (1990)

2.2. Descripción taxonómica de *B. graveolens*

REINO: Plantae
FILO: Magnoliophyta
CLASE: Magnoliopsida
ORDEN: Sapindales
FAMILIA: Burseraceae
GENERO: Bursera
ESPECIE: *B. graveolens*

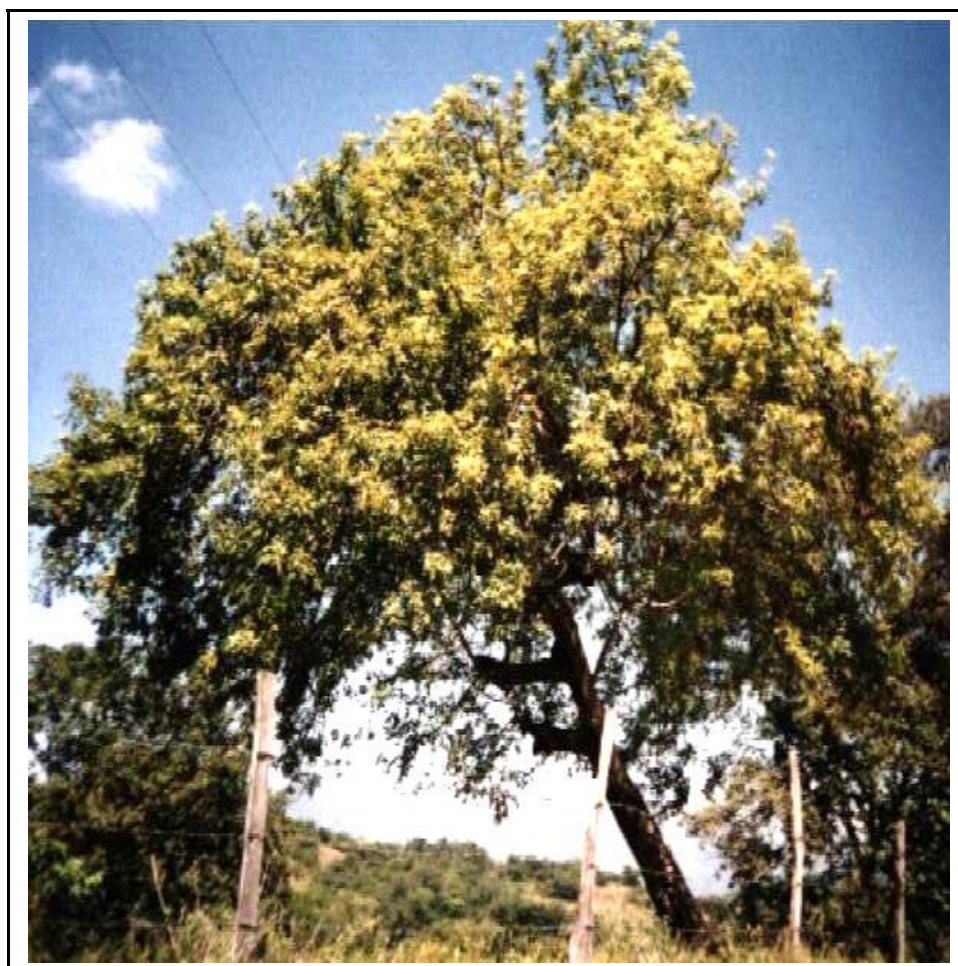


Figura 1. *B. graveolens*. Tomada por la autora en Agua de Dios (Cundinamarca).

Árbol de hasta 15 m de altura, ramosos rojizos, glabros o escasamente vellosos; hojas imparipinnadas con 5 a 9 folíolos membranáceos, ovado-lanceolados u ovado-oblongos, acuminados, con base cuneiforme y margen aserrada, 2-9 por 0.7-4 cm., raquis alado, inflorescencia pubérula, con flores tetrámeras de unos 3 mm. De longitud y pubérulas; fruto subgloboso u ovoide con pericarpo rojo, bivalvo; nuececilla 4 por 5 mm. (Barriga, H. 1992).

Ramificaciones densamente frondosas en los extremos; pecíolos 1-1.5 dm de longitud, angostamente alados arriba de la parte media; folíolos 2-3 pares, sésiles, oblongos, serrados y angostos hasta agudos u obtusos en el extremo, enteros hacia la base aguda, folíolos laterales 3-6 cm. de longitud, 2-3 cm de ancho, típicamente glabros, nervio medio prominente en el envés, nervaduras laterales y venas reticuladas inconspicuas; ramas florecidas aproximadamente tan largas como las hojas o alrededor de 1 dm de longitud, paniculadas con brácteas agudas linear-lanceoladas; pedicelos 5-8 mm de longitud, mucho mas largos que las flores; cáliz glabro o puberulento, lóbulos ovados de 1 mm de longitud, pétalos oblongos de 4 mm de longitud, un cuarto más amplio; ovario contraído en un estilo muy corto, drupas ovoides agudas de ambos extremos, 6-9 mm de longitud, 4 mm de espesor (Fide, Macride, 1956: 712) en Correa, J. y Bernal, H. (1990).

2.3. Usos e importancia económica:

La resina producida por *Bursera graveolens* (H.B.K.) Triana & Planchon, se usa en medicina popular en forma de emplastos en las hernias y “tronchaduras” de los pies. Es señalada también para extraer cuerpos extraños epidérmicos; se coloca la resina caliente y al cabo de dos días se quita con el cuerpo extraño (Barriga, H. 1992).

En Perú, La resina por tener un olor muy fuerte algo parecido al limón, los naturales usan trozos de tallos para ahuyentar a la polilla de la ropa y a los insectos que atacan a las semillas. Se sabe por otro lado, que se han hecho ciertos ensayos para preparar una especie de insecticida. (The Andean Botanical information system, 1997)

En Ecuador está catalogada dentro de algunas especies forestales, utilizadas para obtención de productos no madereros como aceites y repelentes de insectos. (FAO, 2003)

En el estado de Yucatán (México) emplean de *Bursera graveolens* las hojas en cocimiento, por vía oral contra el asma, diarrea, pleuresía, cálculos en el riñón, mordedura de serpientes y tuberculosis. Las hojas y la corteza en ron, para combatir las hemorroides; aplicados localmente para lavar heridas, expulsión de fetos muertos y para facilitar el parto (Mendieta & Del Amo, 1981) en Correa, J. y Bernal, H. (1990)

Igualmente en Cuba se atribuyen acciones de *B. graveolens* a las afecciones oftálmicas (Scull, R. y col 1998).

En el salvador la resina de la *B. graveolens* conocida como “copal” o “copalillo”, se calienta y se coloca en el miembro afectado para curar heridas; también se usa como carminativo, para sanar llagas y luxaciones de miembros inferiores. Los extractos acuosos y etanólicos de hojas y corteza poseen actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus* y además mostraron toxicidad para los peces (De Mena Guerrero, 1994)

2.4. Fitoquímica:

Según Barriga, H. (1975) en Correa, J. y Bernal, H. (1990), en la tesis de grado de Ovalle de Bravo Y Daza Casilinas (1965), se encontró lo siguiente: La corteza tiene: "aceites esenciales, ácido elémico ($C_{35}H_{45}O_4$); resinas que poseen los grupos C=O, CH₂, CH₃ simétrico y asimétrico, cadena rectilínea. Además los ácidos: Resínico I, de color amarillo y punto de fusión 131 °C, y ácido resínico II, de color amarillo y punto de fusión 152 °C. Reseno de color amarillo, punto de fusión 63°C".

Un compuesto oleanánico también fue separado de *Bursera graveolens*: el ácido 2,3-secoolean-12-en-2,3,28-tricarboxílico (Khalid, S. 1983).

En *Bursera graveolens* var. *villosula*, se aisló un 47.6 % de material soluble en alcohol caliente. Del aceite volátil del tallo se obtuvo (+)-limoneno (57 %), (+)- α -terpineol (18 %) y (\pm)-carvona (5%), así como también cerca de 30 compuestos menores. De la fracción acuosa se aisló una lactona identificada como la 2,4,5,6,7,7^a-hexahidro-7^a-hidroxi-3,6-dimetilbenzofuran-2-ona y cuya identidad fue confirmada mediante su conversión en el compuesto anhidro, y la comparación de su espectro con el del compuesto auténtico. Únicamente trazas insignificantes del (-)-isómero de mentofurán fueron detectadas mediante cromatografía de gas. El ácido 2,3-secoolean-12-ene-2,3,28-trioico, fue obtenido en una proporción de 0,15% con punto de fusión 294-6°, $[\alpha]_D^{22}+65^\circ$ (c 1.0, piridina), equivalente 187. De este ácido se aisló un triéster, con punto de fusión 169-170°, $[\alpha]_D^{24}+56^\circ$ (c 1.2.CHCl₃) el cetoácido, con punto de fusión 321°, el cetoéster con punto de fusión 185-6°, $[\alpha]_D^{20}+169^\circ$ (c 1.2, CHCl₃), λ max. (EtOH) 283 m μ (E307), absorción final a 205 m μ (E4000). Este ácido, ha sido considerado como el único constituyente natural aislado a partir de una especie vegetal, sin que hasta

ahora se haya encontrado un 2,3-seco triterpeno en otra especie vegetal (Crowley, 1962, 1964) en Correa J. y Bernal, H. (1990).

Como componentes del aceite de *B. graveolens*, se encontraron cinco compuestos, cuyas estructuras fueron determinadas como: (-)-5,11-epoxy-4 α ,5 β ,10 α -eudesm-1-eno, (-)-dihidro- α -agarofurano, (-)-4 α -hidroxidihidroagarofurano, (-)-3 β ,4 β -oxidoagarofurano y (-)-10-epi- χ -eudesmol. De estos, (-)-5,11-epoxy-4 α ,5 β ,10 α -eudesm-1-eno, es un nuevo sesquiterpenoide, no reportado antes en la literatura (Yukawa, C. y col., 2004).

En otras especies de *Bursera* se han encontrado compuestos tales como:

Deoxipodofilotoxina, β -peltatinmetileter, picro- β -peltatinmetileter y dehydro- β -peltatinmetileter, lignanos citotóxicos aislados de *Bursera Permolliis* (Wickramaratne y col. 1995); (-)-trans-2-(3",4",5"-trimetoxibencil)-3-(3',4'-metilenedioxibencil)-butirolactona y (-)-trans-2-(3",4"-dimetoxibencil)-3-(3',4'-methylenedioxibencil)-butirolactona), lignanos aislados de *Bursera schlechtendalii*; (McDoniel, p. and Cole, J. 1992); un sesquiterpenoide de fórmula C₁₅H₁₆O₂, aislado de *Bursera leptophloeos* (Barreira *et al.* 1996). Además Wehmer (1931), en Barriga, H. (1992), indica que las especies de *Bursera* contienen una resina, la cual se compone entre otras de linalol, terpinol, geraniol, metilheptenol y otros.

Las resinas de las Burseráceas acumulan triterpenos tanto tetracíclicos como pentacíclicos. Estos puede clasificarse en cuatro series, los tetracíclicos tipo euphano / tirucalleno y los pentacíclicos tipo lupano, Oleanano y ursano. (Khalid, S. 1983). Los triterpenos, fácilmente encontrados en la naturaleza, raramente se encuentran puros; se hallan en mezclas de difícil resolución, pero pueden ser separados por técnicas cromatográficas de alta resolución. Los esteroides se pueden encontrar libres,

esterificados con ácidos alifáticos o como glicósidos (esterolínicos) y generalmente se hallan en todos los órganos de las plantas.

Los flavonoides son universales en las angiospermas. Infortunadamente existe muy poca información sobre su ocurrencia en las Burseraceas. El Kaempferol, la quercetina y sus glicósidos están presentes en *Protium* y *Commiphora*, mientras que el biflavonoide amentoflavona se halla en las hojas de *Garuga pinnata*. Un número de biflavonoides han sido encontrados en el género de las Anacardiáceas (Khalid, S. 1983). Los flavonoides que se encuentran tanto en estado libre como glicosilado, constituyen un amplio grupo de fenoles naturales. Son sustancias de origen vegetal que contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas (del latín *flavus*, amarillo) son abundantes en las Polygonaceae, Rutaceae, Leguminosae, Umbelliferae y Compositae.

Los flavonoides se encuentran sobre todo en los órganos aéreos amarillos (hojas y botones florales) localizados en tejidos superficiales. Están disueltos como glicósidos en el jugo vacuolar, cloroplastos y membranas.

El grupo de los flavonoides es conocido por sus efectos antiinflamatorios y antialérgicos, por sus propiedades antitrombóticas y vasoprotectoras, por la inhibición de la promoción de tumores y como protectores de la mucosa gástrica. Los flavonoides también poseen actividad antioxidante, aplicaciones como colorantes naturales, propiedades antibacterianas y antifúngicas y ayudan en la polinización, ya que por sus colores atraen a los insectos junto con los aceites esenciales (Universidad de la República, 1998).

A continuación se resume la química de la familia Burserácea, ampliamente distribuida en las regiones tropicales.

Tabla 1. Química de Burseráceas - resumen

Monoterpenos	Sesquiterpenos	Diterpenos	Triterpenos	Fenoles
Mirceno, Citronelol, Linalol, Geraniol, Limoneno, Felandreno, Felandral, Carbona, Ácido Felándrico, Tujano, α -Pino, Camfeno, Verbanol, Verbanona.	δ -Cadineno, Cariofileno, Maaliol, Canarona, Epikusinol, (+)-Junenol, Bisaboleno, Curcumeno, Santaleno, Humuleno, Curzerenona, Furanodienona, Furandieno, Lindestreno, Elemol, Isofuranogerma creno, Commiferina, β - Eudesmol.	Camforeno, Cembreno, Incensola.	Eufano, Tirucallano, Lupano, Ursano, Oleanano, Acido Elemólico, Acido Isomasticadienoni co, Sapelin A y B, Melianona, Flindisol, Lupeonono, Acido 3,4-Secotriterpeno canarico, lupeol, Acido Canárico, Acetato de 11β - hidroxi- α -amirina, 11-oxo- α -amirina, Acido cómico B, Acido cómico D, Acido cómico E, cedrolona, Gugulsterol I y III Gugulsterona I y II	Kaemferol, quercetina, amentoflavona, 2,3- dibenzilbutirolacto na, podofilotoxina β -peltatina.

3. MATERIALES Y METODOS

La planta objeto de estudio, *Bursera graveolens* (H.B.K.) TR. & Pl, fue determinada por el profesor Luís Carlos Jiménez y radicada con el número de colección 482102 del Herbario Nacional Colombiano. Se recolectó en el municipio de Agua de Dios (Cundinamarca), en donde se le conoce con el nombre de “sasafrás”. De ella se seleccionaron hojas y tallos (corteza); la corteza fresca y las hojas secas en el medio ambiente se sometieron a un proceso de trituración y posteriormente a la extracción en soxhlet y en frío con etanol, para luego obtener fracciones de diferentes polaridades a partir de este extracto total. El solvente de cada una de las extracciones fue recuperado y reciclado; luego el extracto obtenido se dejó secar a temperatura ambiente. Según Calderón (1963), “casi todos los sistemas propuestos, emplean el método llamado de los “solventes sucesivos”, basado en la distinta solubilidad de los constituyentes de las plantas en los principales solventes”.

Las fracciones obtenidas a partir del extracto etanólico, teniendo en cuenta la polaridad de los solventes, fueron las siguientes: Éter de petróleo (extracción líquido – líquido), diclorometano (extracción líquido – líquido) y acetato de etilo (Extracción líquido – líquido). Estas fracciones fueron sometidas a un proceso de concentración en rotavaporadores con temperaturas inferiores a los 60 grados Centígrados a presión atmosférica o a presiones reducidas.

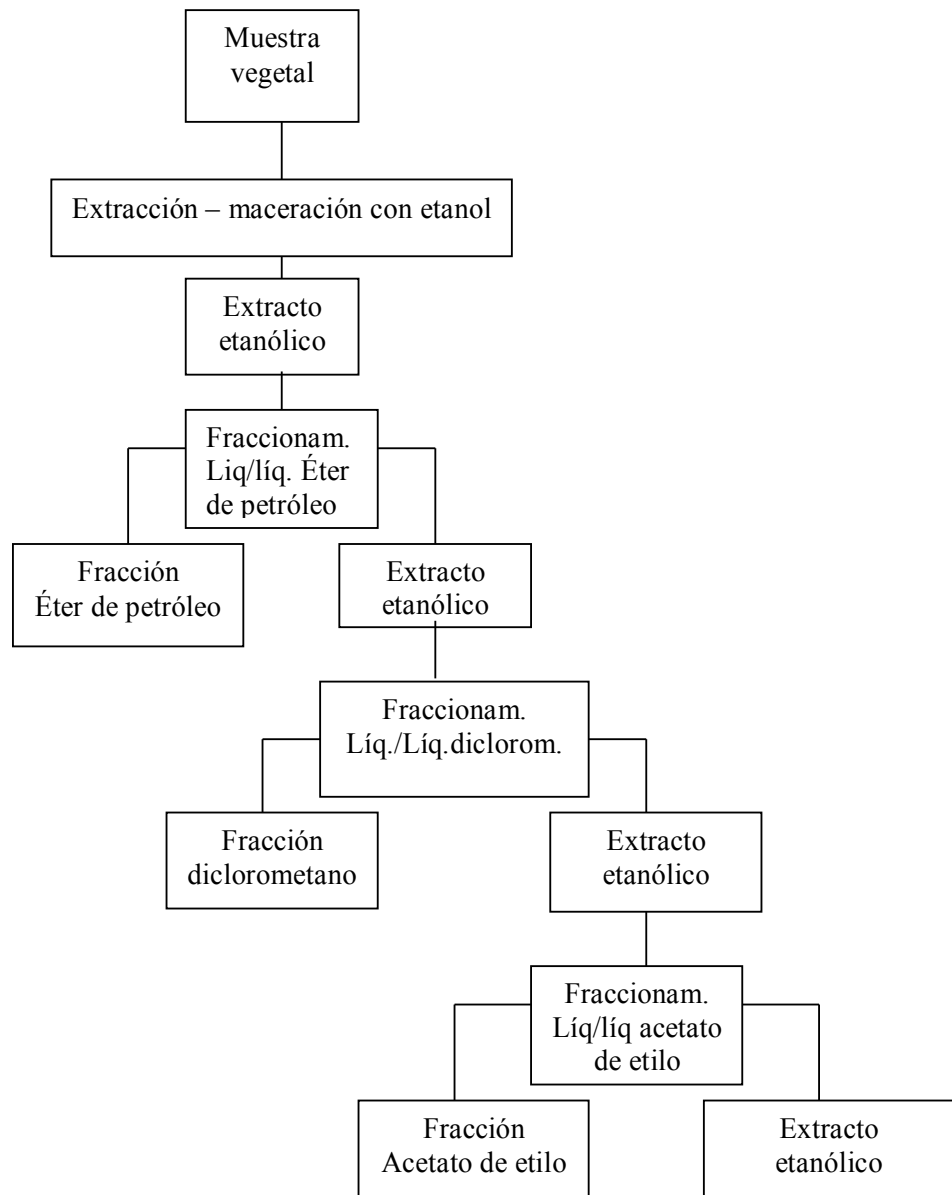


Figura 2. Diagrama de flujo. Procedimiento material vegetal

3.1. Pruebas químicas preliminares

La prueba fitoquímica preliminar es una prueba química de caracterización, consistente en la respuesta de una sustancia ante una reacción química, la cual forma otro compuesto; este a su vez genera cambios en la naturaleza y distribución de los enlaces, produciendo manifestaciones visibles, como el cambio o la pérdida de color, precipitación o desprendimiento de gas. (Bilbao, 1997).

En cada una de las fracciones indicadas anteriormente se realizaron pruebas específicas preliminares para determinar la presencia o ausencia de cierto grupo de compuestos químicos; “la caracterización permite agrupar el compuesto de acuerdo a parámetros estructurales generales como grupos funcionales, sistema aromático, sistema anular esteroideal, sistema espiroestánico. La identificación requiere la comprobación estricta de la estructura en particular” (M. Bilbao, 1997).

Las pruebas específicas preliminares que en forma general se aplicaron para los correspondientes metabolitos fueron las siguientes:

Tabla 2. Pruebas químicas preliminares de Hojas

PRUEBAS	FRACCION ETANOLICA	FRACCION ETEREA	FRACCION DICLORO	FRACCION ACETATO
SESQUITERPENLACT. (Baljet)	-	-	-	-
ESTEROIDES Lieberman – B. Salkwosky	- -	+ -	- -	+ +
FLAVONOIDES Shinoda Cloruro férrico	- +	+ -	- -	+ +
SAPONINAS Espuma	+	-	-	-
CUMARINAS Luz visible Luz U.V.	- -	- -	- +	- +
QUINONAS Acido – base	-	-	-	+

Tabla 3. Pruebas preliminares de Corteza

PRUEBAS	FRACCION ETANOLICA	FRACCION ETEREA	FRACCION DICLORO	FRACCION ACETATO
SESQUITERPENLACT. (Baljet)	-	-	+	+
ESTEROIDES Lieberman – B. Salkwosky	+ -	+ -	- +	- -
FLAVONOIDES Shinoda Cloruro férrico	- +	- -	- -	- -
SAPONINAS Espuma	-	-	-	-
CUMARINAS Luz visible Luz U.V.	+ -	- -	- -	- +
QUINONAS Acido – base	-	-	-	+

Para realizar el ensayo fitoquímico preliminar se tomó aproximadamente 0.3 gramos de cada uno de los extractos. En la prueba para flavonoides con FeCl_3 (positiva para las fracciones de acetato de etilo y etanólica en hojas y etanólica de corteza) se presenta una coloración verde, propia de hidroxilos fenólicos, confirmándose con la prueba de Shinoda (Mg metálico en presencia de HCl concentrado), positiva para las fracciones etérea y de acetato de etilo en hojas. En la prueba para esteroides y/o terpenoides con Lieberman – Buchard (positiva en las fracciones etanólica y etérea de corteza y etérea de hojas) se producen coloraciones roja, azul y violeta, propias de esteroides y / o terpenoides libres. Con las saponinas que son un grupo de glicósidos que se disuelven en el agua y disminuyen su tensión superficial y al agitar sus soluciones acuosas forman una espuma abundante y relativamente estable, se obtuvo prueba positiva en las fracciones de acetato de etilo de hojas y corteza.

3.2. Tamaño de muestra

Con respecto al tamaño de la muestra, obtenida y utilizada en el trabajo práctico, en la siguiente tabla se ilustran las cantidades respectivas:

Tabla 4. Tamaño de la muestra expresada en gramos

Muestra vegetal	Cantidad total	Extracto etanólico	Fracción etérea	Fracción diclorometano	Fracción Acetato de etilo
Corteza	2628.71	291.8	14.0	6.0	2.5
Hojas	563.0	113.0	13.0	7.0	12.0

3.3. Técnicas generales

La separación de metabolitos secundarios mayoritarios a partir de las fracciones de hojas y corteza de *Bursera graveolens*, se realizó empleando la cromatografía en columna, utilizando como adsorbente sílica gel 60 (0.063 – 0.200) de Merck, y haciendo uso de eluyentes en orden creciente de polaridad (éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo, etanol, metanol, agua). La relación entre la sílica y la muestra utilizada fue 20: 1.

El seguimiento de la separación en el desarrollo de la columna se hizo por cromatografía en capa delgada utilizando placas de sílica gel 60 – G de Merck, para cada fracción colectada y utilizando la vainillina como revelador, para obtener la información cualitativa y visual de los componentes separados de la mezcla.

Para la Identificación de los metabolitos secundarios mayoritarios aislados y la elucidación de estructuras, se empleó la espectroscopía de RMN de ^1H y ^{13}C , utilizando un espectrómetro Bruker Avance de 400 MHz, como solventes CDCl_3 y DMSO y como estándar interno TMS; la espectroscopia UV. utilizando un espectrómetro Shimadzu modelo UV – 160 A y la espectrometría GC / MS utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890, con las siguientes características: columna capilar HP5 (30 m de largo, 0.33 mm de diámetro interno y 25 μm de espesor); gas de arrastre He 4.5 a 1mL/min; modo split 1 – 10. T^a desde 90 °C hasta 300 °C a 5 °C/min. Está acoplado a un espectrómetro de masas 5973 con una fuente de ionización de 70 eV – modo scan. En los sólidos obtenidos se determinó también el punto de fusión en un equipo Meltemp 50/60 cycles, 110 – 120 Volts – 200 Wats).

3.4. Fraccionamiento y purificación

- Fracción éter de petróleo de corteza

La fracción etérea de corteza de *B. graveolens*, obtenida a partir del extracto etanólico (extracción en frío) por fraccionamiento líquido – líquido, se sometió al proceso de separación en columna utilizando como adsorbente sílica gel 60 de Merck y como eluyentes éter de petróleo, mezclas de éter de petróleo – AcOEt de polaridad creciente, AcOEt y EtOH a temperatura ambiente. Las proporciones utilizadas fueron las siguientes:

Éter		AcOEt
10	:	0
9	:	1
8	:	2
7	:	3
1	:	1
0	:	10
AcOEt		EtOH
9	:	1
0		10

El tamaño de las fracciones obtenidas para cada una de las proporciones fue de aproximadamente 70 mL. Cada una de estas fracciones se analizó por cromatografía en capa fina utilizando vainillina como revelador y fueron sometidas a evaporación en rotavaporadores a una temperatura menor de 60 °C.

De la fracción obtenida de la mezcla éter – AcOEt en proporción 8:2 se precipitó un sólido blanco que revelaba para una mezcla. Este se separó

por cristalización con éter de petróleo y acetato de etilo y se obtuvieron los sólidos denominados LMCB1 y B-61.

- Fracción diclorometano de corteza:

La fracción diclorometano de corteza de *B. graveolens* obtenida por fraccionamiento líquido – líquido del extracto etanólico se eluyó por cromatografía en columna, utilizando éter de petróleo, AcOEt, CH₂Cl₂ y MeOH como solventes, teniendo en cuenta su polaridad en las siguientes proporciones:

Eter	AcOEt
10	: 0
9	: 1
8	: 2
7	: 3
5	: 5
CH ₂ Cl ₂	solo
AcOEt	solo
CH ₂ Cl ₂	AcOEt
1	: 1
CH ₂ Cl ₂	MeOH
1	1
MeOH	solo

El tamaño de cada una de las fracciones eluidas en cada una de las proporciones fue de aproximadamente 70 mL. Al igual que con las fracciones de éter de petróleo, se hizo seguimiento de separación por cromatografía en capa delgada y evaporación con rotavaporadores.

De la fracción diclorometano se obtuvo un sólido blanco: BX (éter – AcOEt 7:3), que se purificó por cristalizaciones sucesivas con éter de petróleo en frío.

- Fracción acetato de etilo de corteza

La fracción de acetato de etilo de corteza de *B. graveolens*, obtenida por fraccionamiento líquido / líquido del extracto etanólico se sometió al proceso de separación en columna utilizando como eluyentes de polaridad creciente como diclorometano, acetato de etilo y etanol, a temperatura ambiente. Las proporciones utilizadas fueron las siguientes:

Éter AcOEt

9 : 1

8 : 2

7 : 3

1 : 1

AcOEt solo

AcOEt MeOH

9 : 1

1 : 1

MeOH solo

De esta fracción se aisló un sólido que se purificó por cristalización y recristalización con acetato de etilo y metanol caliente. La solubilidad en agua y la prueba a la llama indican que este es inorgánico.

- Fracción éter de petróleo hojas

Con la fracción etérea de hojas de *B. graveolens*, obtenida a partir del extracto etanólico (extracción en frío) por fraccionamiento líquido – líquido, se siguió el mismo procedimiento que con el de la fracción etérea de corteza. Los sólidos obtenidos en este proceso no fueron suficientes para el análisis espectroscópico o espectrométrico.

- Fracción diclorometano de hojas

Para la elusión de la columna correspondiente a la fracción diclorometano de hojas de *B. graveolens* se utilizaron como solventes éter de petróleo, acetato de etilo, diclorometano y metanol, teniendo en cuenta el orden creciente de polaridad. Las proporciones utilizadas fueron las siguientes:

Eter	AcOEt
8	2
7	3
CH ₂ Cl ₂	solo
CH ₂ Cl ₂	MeOH
9	1
1	1
MeOH	solo

El tamaño de las fracciones fue de aproximadamente 70 mL. Cada una de estas se analizó por cromatografía en capa fina utilizando vainillina como revelador y fueron sometidas a evaporación en rotavaporadores a una temperatura menor de 60°C.

De esta fracción no se obtuvo ningún sólido.

- Fracción acetato de etilo de hojas

La fracción de acetato de etilo se calentó con mezclas de AcOEt y MeOH en proporciones aproximadas 1: 1 y precipitó un sólido de color amarillo amorfo que se purificó con MeOH caliente. A este sólido se aplicó cromatografía en papel utilizando como fase móvil BAW (butanol – ácido acético – agua) en proporciones 4: 1: 5. Se realizaron además las pruebas químicas preliminares específicas para flavonoides con tricloruro férrico y Shinoda. Este sólido se denominó B-95.

4. RESULTADOS y DISCUSION

La investigación fitoquímica de hojas y corteza de *Bursera graveolens* dio como resultado la separación e identificación de tres compuestos (B-61, LMCB1 y B-95), cuyas estructuras fueron elucidadas a partir de los datos obtenidos de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C , los espectros ultravioleta y la comparación con datos de la literatura; y un compuesto (B-X) como parte de una mezcla, cuya identificación se realizó por espectrometría de gases-masas y la comparación con la literatura.

Los espectros se corrieron en un espectrómetro Bruker Avance de 400 MHz y como solventes se utilizaron CDCl_3 y DMSO; como estándar interno se empleó TMS. Para la elucidación estructural de los compuestos se analizaron los espectros de hidrógeno y carbono; específicamente los DEPT 45, 90 y 135, HMQC, HMBC y COSY.

4.1. Compuesto B-61

Sólido pulverulento de color blanco, con punto de fusión 237 – 238 °C y $R_f = 0.436$ (8: 2) éter – acetato. Según el espectro de RMN ^1H (figura 3) se observa la presencia de una señal en 5.27 ppm (1H, t, $J = 4$ Hz, H-12), perteneciente a un protón de tipo olefínico; una señal en 4.50 ppm (1H, t, $J = 8$ Hz, H-3) que corresponde al protón unido al carbono terciario (C-3), que contiene un grupo acetato; una señal en 2.05 ppm (3H, s), que corresponde al metilo del grupo acetilo. Entre 0.74 ppm y 1.96 ppm el espectro muestra señales típicas de triterpenos, que acompañan a carbonos primarios,

secundarios y terciarios; siete de estas señales son singletes: 0.74 ppm, 0.85 ppm, 0.86 ppm, 0.90 ppm, 0.93 ppm, 0.94 ppm y 1.13 ppm

Según los espectros de RMN ^{13}C (figura 4); DEPT 135 (figura 5), DEPT 90 (figura 6) y DEPT 45 (figura 7), El compuesto tiene 32 señales correspondientes a carbonos de naturaleza triterpénica; de estos, 8 son carbonos primarios (CH_3), 10 son secundarios (CH_2), 5 son terciarios (CH) y 9 son cuaternarios (C). El análisis del espectro bidimensional HMQC (Figura 8), permitió asignar para cada carbono los correspondientes protones, y con el HMBC (Figura 9) se logró establecer la correlación entre las señales, hasta obtener la estructura del compuesto. Los datos obtenidos del espectro unidimensional y sus correlaciones obtenidos de los bidimensionales, se muestran en las tablas 4 y 5, según modelo de Martínez, J (2002).

Por HMQC, el carbono terciario a 80.94 ppm, correlaciona con el protón de 4.50 ppm, y este a su vez correlaciona según HMBC con el carbono cuaternario 171.05 ppm, que corresponde a un carbono de tipo éster; éste carbono correlaciona con la señal a 2.05 ppm (1H, s), protón directamente unido al carbono que aparece a 21.30 ppm, que es un grupo metilo. La señal de 4.50 ppm, también correlaciona con los carbonos 38.07 ppm. (C-1), 23.53 ppm (C-2) y 28.04 ppm. (C-23, metilo), que corresponden al anillo A.

La señal de 0.86 ppm, que corresponde al metilo en C-23, correlaciona con 39.29 ppm. (2J ; C) que corresponde a C-4 y este a su vez correlaciona con 0.94 ppm, perteneciente al metilo 15.39 ppm. (2J), en C-24. El protón a 2.82 ppm (1H, dd, $J_1 = 4$ y $J_2 = 12$; H-18), unido a 40.91 ppm (1J ; CH, según DEPT), común para los anillos D y E de un triterpeno pentacíclico, correlaciona con 184.3 ppm (3J ; C), con 22.87 ppm. (3J ; CH_2), con 45.84 ppm (3J ; CH_2 según DEPT), con 143.61 ppm. (2J ; C) y con 122.56 ppm. (3J ; CH). La señal a 1.13 ppm, correspondiente al metilo 25.91 ppm (C-27), que

se ubica entre los anillos C y D del esqueleto triterpénico pentacíclico, correlaciona con 143.61 ppm y con 40.91 ppm.

Los espectros COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$, contribuyeron a la correlación de datos para la conformación de la estructura.

En 18.18 ppm, aparece una señal correspondiente a un carbono secundario; en los espectros HMQC y HMBC, no se observan correlaciones probablemente por que el valor de la J del C – H no está en un valor cercano a 150 Hz en el caso del HMQC y de 6 a 8 Hz en el caso del HMBC, que son los valores utilizados en el registro de estos experimentos. Por lo tanto, para la asignación dentro de la estructura molecular se recurrió a la literatura (Mendonça, P. y col. 2002).

En 29.67 ppm se observa una señal de mayor intensidad comparada con las demás, que correlaciona con la señal a 1.25 ppm en el espectro de protón, tanto a corta distancia, como a larga distancia (figura 10). Esta señal corresponde a los metilos de sistemas alifáticos de cadena larga, como por ejemplo, las cadenas de ácidos grasos o de hidrocarburos de cadena larga provenientes del éter de petróleo usado en la extracción.

B-61, 1H, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.

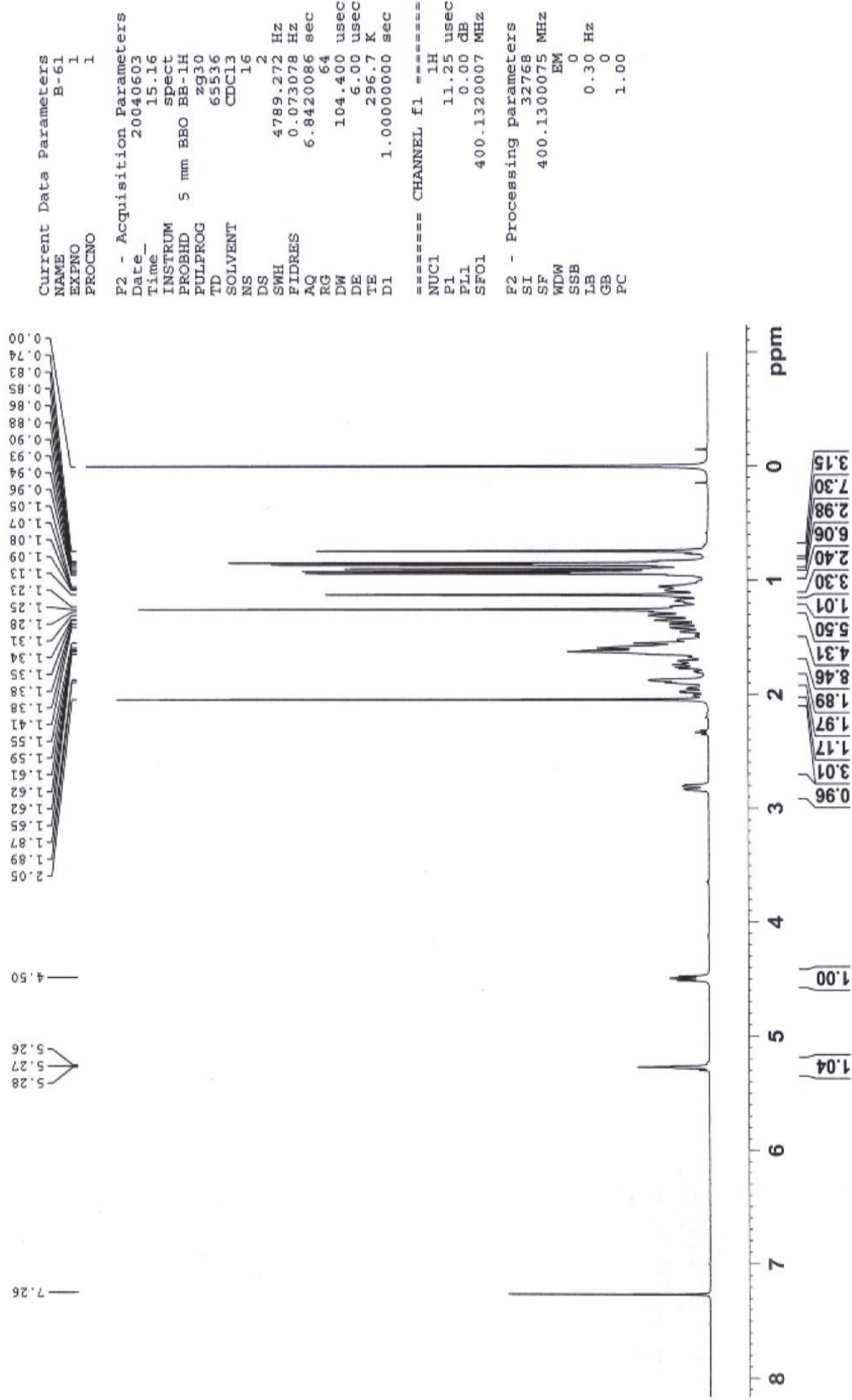


Figura 3. RMN ¹H – Sustancia B - 61

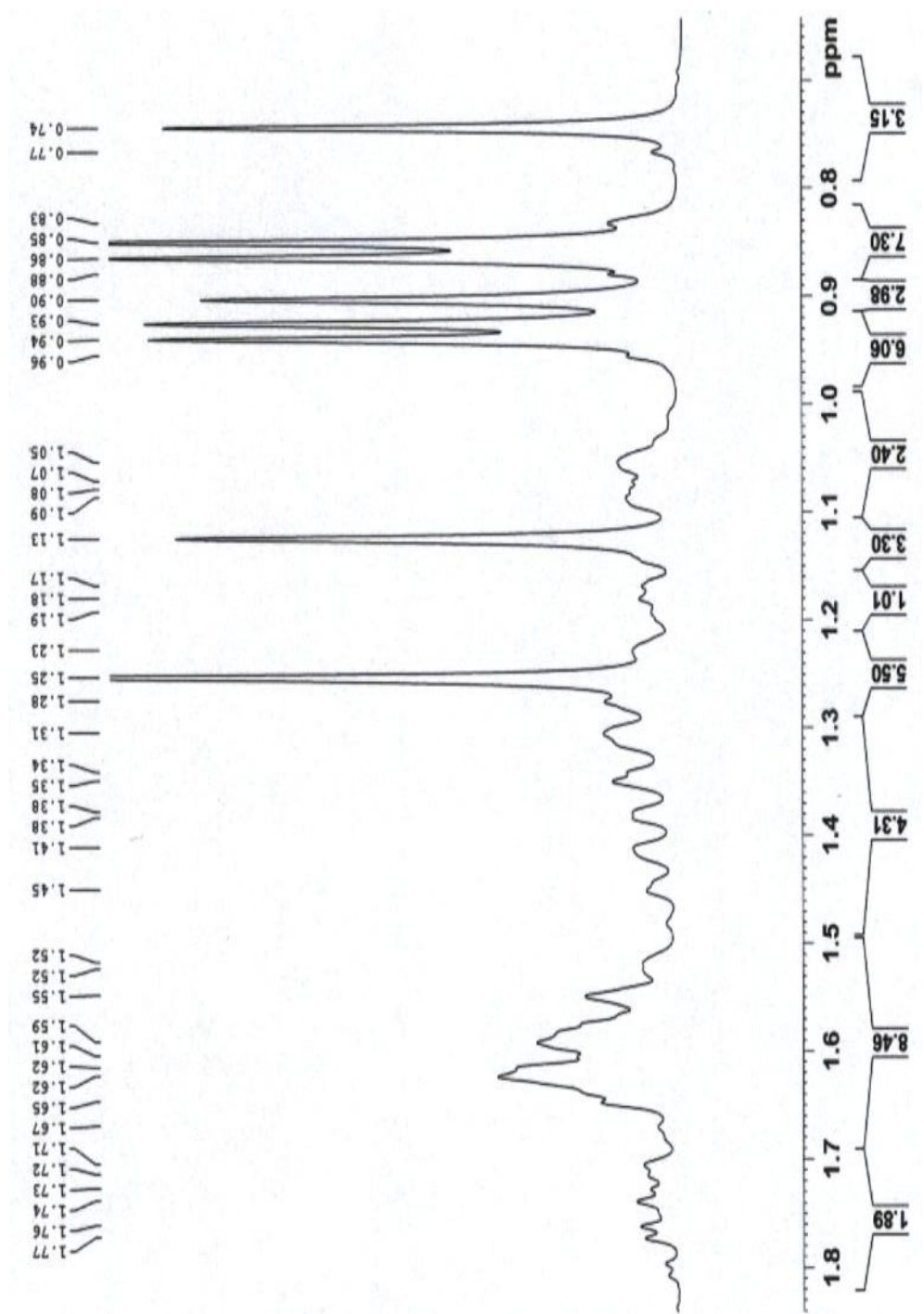
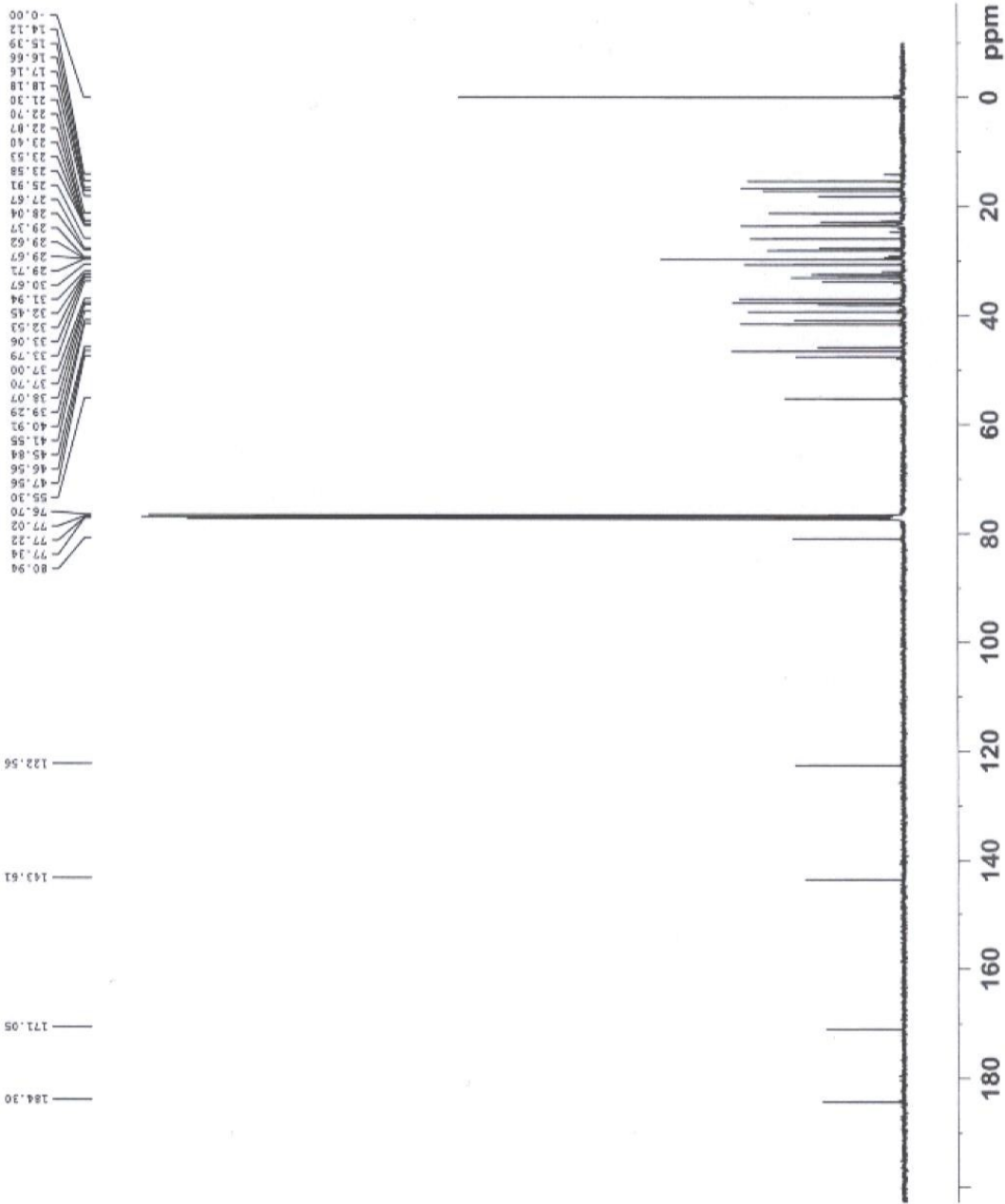


Figura 3a. RMN ^1H – Sustancia B – 61 ampliada

B-61, 13C, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



Current Data Parameters
 NAME B-61
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20040603
 Time_ 15.17
 INSTRUM spect
 PROHD 5 mm BBO BB-1H
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT CDCl3
 NS 2048
 DS 4
 SWH 24154.590 Hz
 FIDRES 0.368570 Hz
 AQ 1.3566452 sec
 RG 16384
 DW 20.700 usec
 DE 6.00 usec
 TE 297.1 K
 D1 2.00000000 sec
 d11 0.03000000 sec
 d12 0.00002000 sec

==== CHANNEL f1 =====
 NUC1 13C
 P1 9.00 usec
 PL1 3.00 dB
 SFO1 100.6238364 MHz

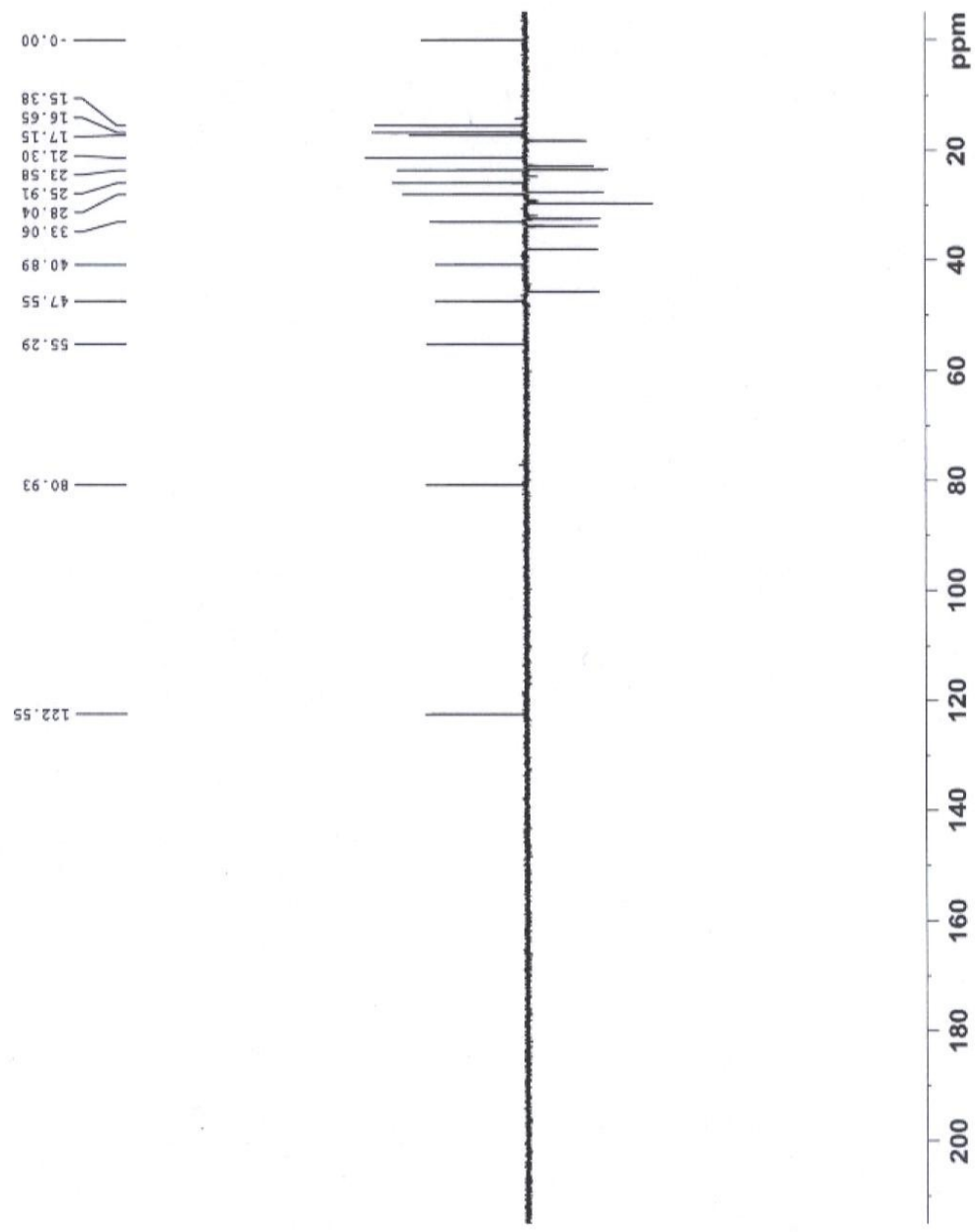
==== CHANNEL f2 =====
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 1H
 PCPD2 80.00 usec
 PL2 0.00 dB
 PL12 17.00 dB
 PL13 17.00 dB
 SFO2 400.1316005 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 100.6127683 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.00

Figura 4. RMN ¹³C - Sustancia B - 61



B-61, DEPT135, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```

Current Data Parameters
NAME      B-61
EXPNO    5
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20040603
Time     18.38
INSTRUM spect
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG  dept135
TD       65536
SOLVENT  CDCl3
NS       512
DS       4
SWH      24154.590 Hz
FIDRES   0.368570 Hz
AQ       1.3556452 sec
RG       16384
DW       20.700 usec
DE       6.00 usec
TE       297.8 K
CNST2    145.0000000
D1       2.00000000 sec
d2       0.00344828 sec
d12      0.00002000 sec
DELTA    0.00001145 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1       9.00 usec
P2       18.00 usec
PL1      3.00 dB
SFO1     100.62338364 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2  waitz16
NUC2     1H
P3       11.25 usec
P4       22.50 usec
PCPD2    80.00 usec
PL2      0.00 dB
PL12     17.00 dB
SFO2     400.1316005 MHz

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       100.6127690 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.40

```

Figura 5. DEPT 135 – Sustancia B - 61

B-61, DEPT90, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.

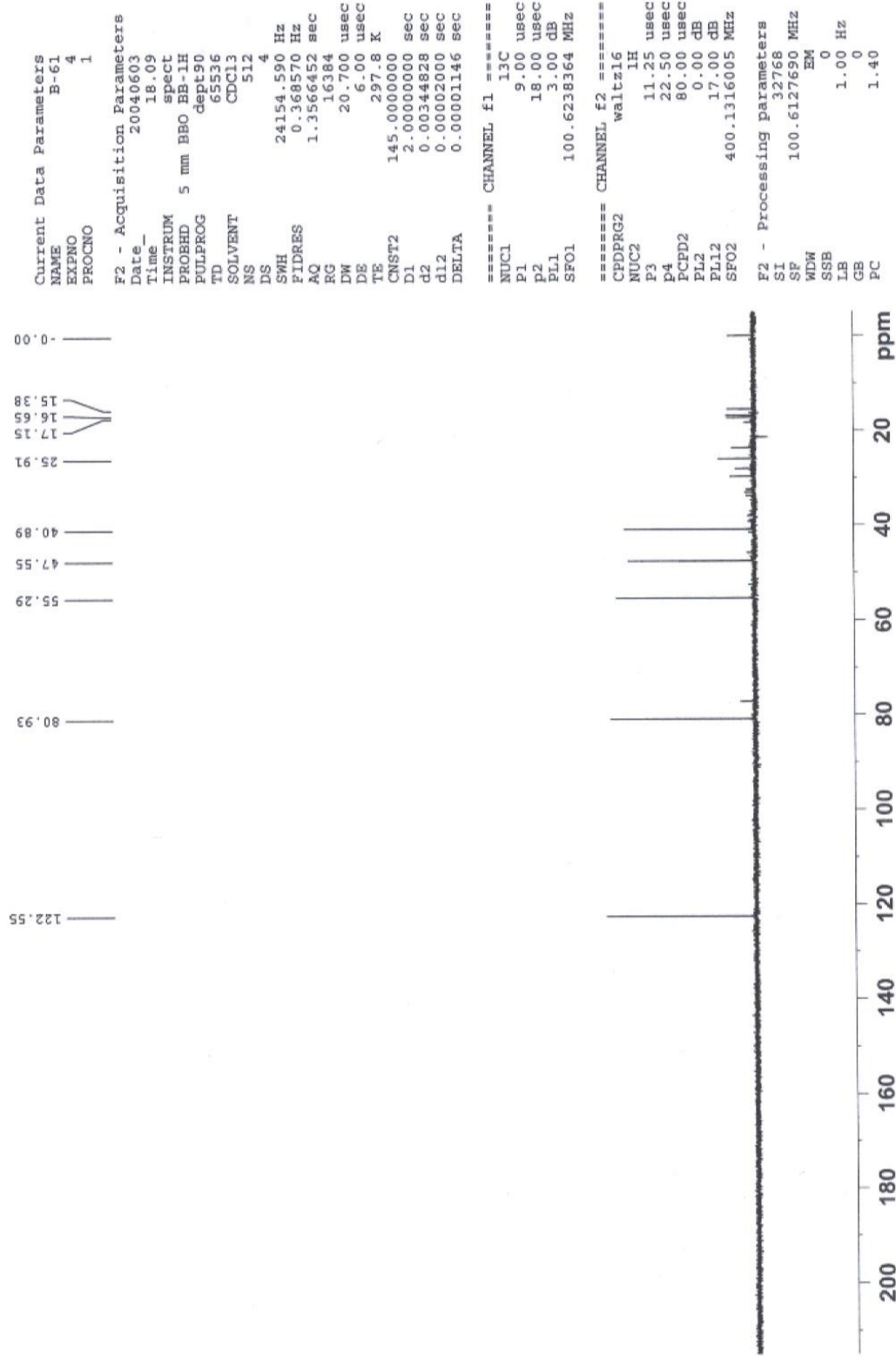
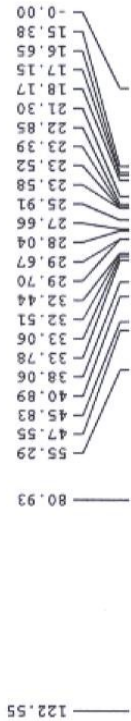


Figura 6. DEPT 90 – Sustancia B - 61



B-61, DEPT45, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```
Current Data Parameters
NAME      B-61
EXPNO    3
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20040603
Time_    17.40
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG  dept45
TD       65536
SOLVENT  CDCl3
NS       512
DS       4
SWH      24154.590 Hz
FIDRES   0.368570 Hz
AQ       1.3566452 sec
RG       16384
DW       20.700 usec
DE       6.00 usec
TE       297.9 K
CNST2    145.0000000
D1       2.0000000 sec
d2       0.00344828 sec
d12      0.00002000 sec
DELTA    0.00001146 sec
```

```
===== CHANNEL f1 =====
NUC1     13C
P1       9.00 usec
P2       18.00 usec
PL1      3.00 dB
SFO1     100.6238364 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2  waltz16
NUC2     1H
P3       11.25 usec
P4       22.50 usec
PCPD2    80.00 usec
PL2      0.00 dB
PL12     17.00 dB
SFO2     400.1316005 MHz

F2 - Processing parameters
SI       32768
SF       100.6127690 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       1.00 Hz
GB       0
PC       1.40
```

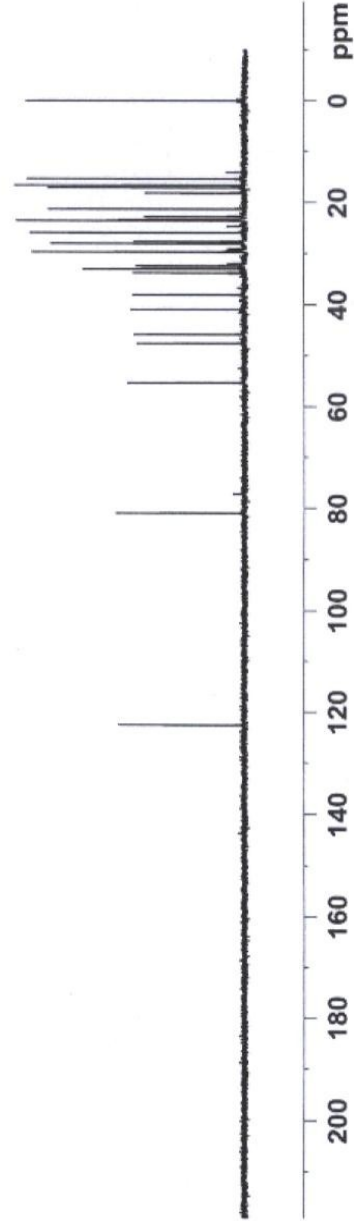


Figura 7. DEPT 45 – Sustancia B - 61

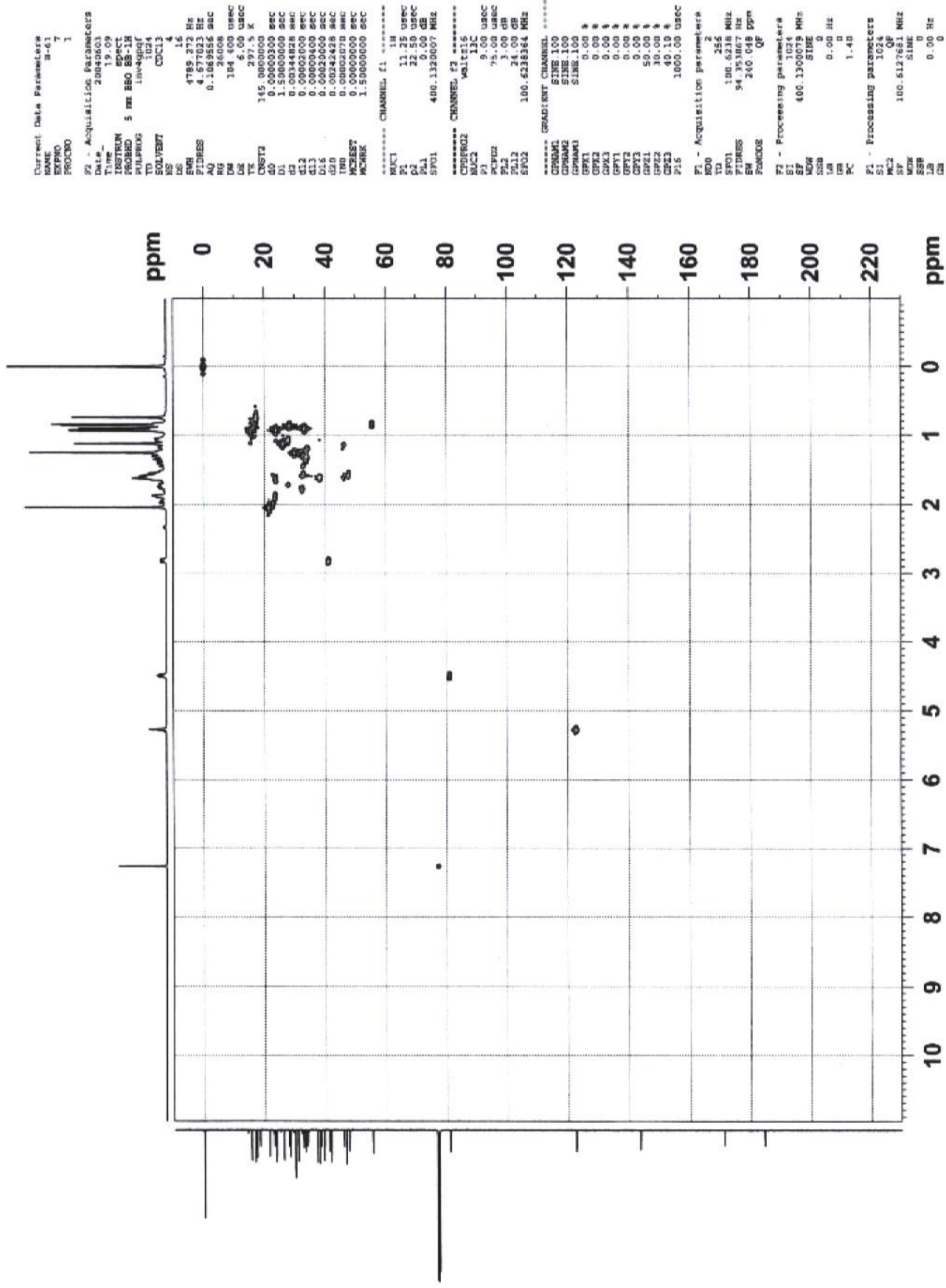
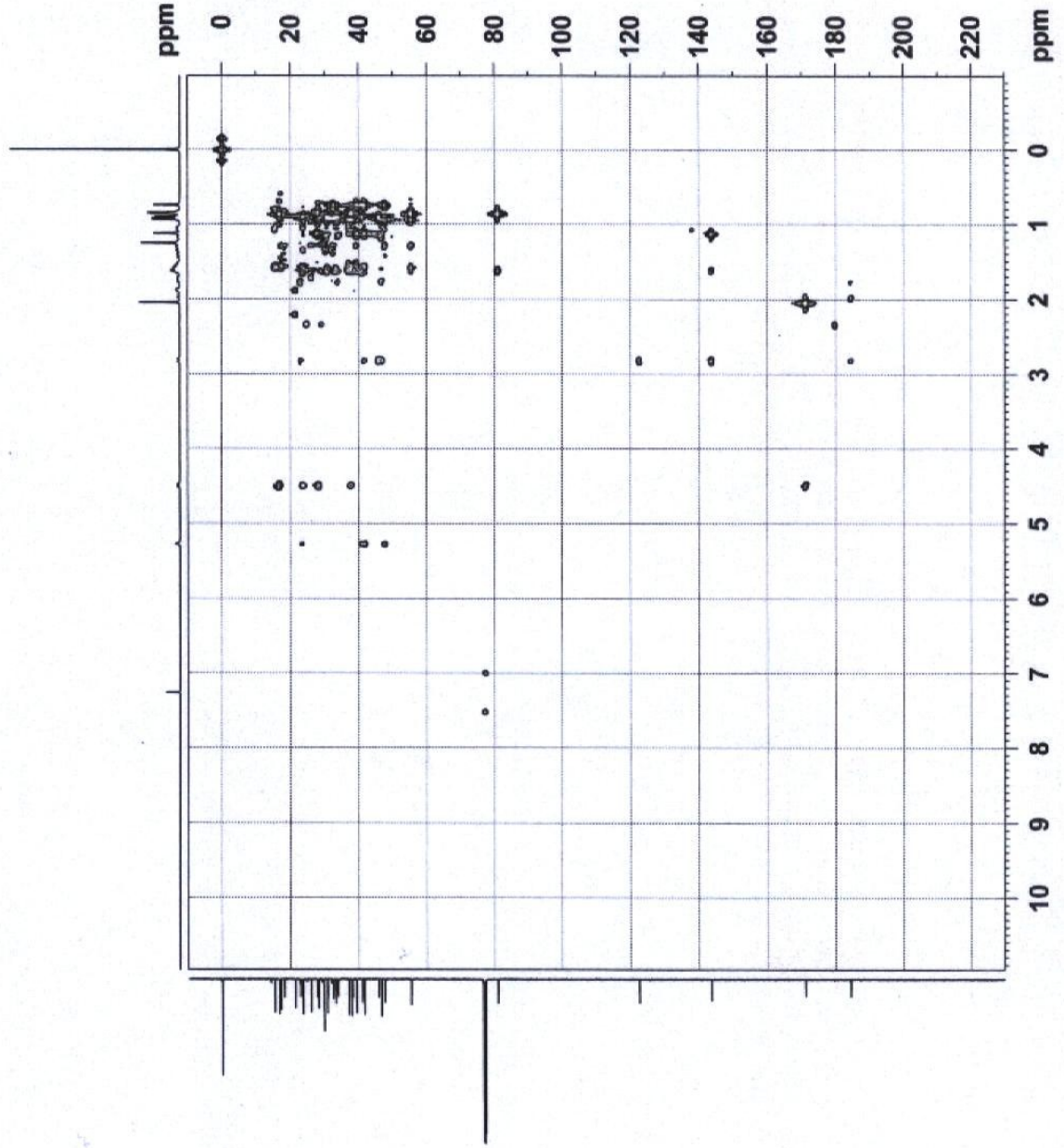


Figura 8. HMQC - Sustancia B - 61

B-61, HMBC, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```

Current Data Parameters
NAME      B-61
EXPNO    1
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
File      20040613
Date_    10-11-04
Time     16:13
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG  invgpp1mdz
VS       1004
SOLVENT  CDCl3
NS       8
DS       16
SFO1     4785.232 Hz
FIDRES   4.677023 Hz
AQ       0.155384 sec
RG        64
AQ       0.155384 sec
IA4      104.400 usec
DE       5.00 usec
TE       297.5 K
USF2     145.000000 sec
dD1      0.0000000 sec
d1       1.5000000 sec
d2       0.0034428 sec
d5       0.0650000 sec
d11      0.0000000 sec
d16      0.0000000 sec
IR0      0.0000000 sec
MCHYST   0.0000000 sec
MCHBK    1.5000000 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1      1H
P1       11.25 usec
P2       22.50 usec
PC       0.00 usec
SFO1     400.1320017 MHz

***** CHANNEL f2 *****
NUC2      13C
P1       3.00 usec
P2       3.00 usec
PC       0.00 usec
SFO2     100.6238264 MHz

***** CHANNEL CHANNEL *****
SFO1     400.1320017 MHz
SFO2     100.6238264 MHz

***** ACQUISITION CHANNEL *****
SFO1     400.1320017 MHz
SFO2     100.6238264 MHz
SFO3     100.6238264 MHz
SFO4     100.6238264 MHz
SFO5     100.6238264 MHz
SFO6     100.6238264 MHz
SFO7     100.6238264 MHz
SFO8     100.6238264 MHz
SFO9     100.6238264 MHz
SFO10    100.6238264 MHz
SFO11    100.6238264 MHz
SFO12    100.6238264 MHz
SFO13    100.6238264 MHz
SFO14    100.6238264 MHz
SFO15    100.6238264 MHz
SFO16    100.6238264 MHz

F1 - Acquisition parameters
PC      256
SFO1    100.6238 MHz
FIDRES  94.353867 Hz
SF      240.048 ppm
FNAME   CP

F2 - Processing parameters
SI      1024
SF      400.1300079 MHz
SFO1    100.6238 MHz
SFO2    100.6238 MHz
SFO3    100.6238 MHz
SFO4    100.6238 MHz
SFO5    100.6238 MHz
SFO6    100.6238 MHz
SFO7    100.6238 MHz
SFO8    100.6238 MHz
SFO9    100.6238 MHz
SFO10   100.6238 MHz
SFO11   100.6238 MHz
SFO12   100.6238 MHz
SFO13   100.6238 MHz
SFO14   100.6238 MHz
SFO15   100.6238 MHz
SFO16   100.6238 MHz

F1 - Processing parameters
SI      1024
SF      400.1300079 MHz
SFO1    100.6238 MHz
SFO2    100.6238 MHz
SFO3    100.6238 MHz
SFO4    100.6238 MHz
SFO5    100.6238 MHz
SFO6    100.6238 MHz
SFO7    100.6238 MHz
SFO8    100.6238 MHz
SFO9    100.6238 MHz
SFO10   100.6238 MHz
SFO11   100.6238 MHz
SFO12   100.6238 MHz
SFO13   100.6238 MHz
SFO14   100.6238 MHz
SFO15   100.6238 MHz
SFO16   100.6238 MHz
  
```

Figura 9. HMBC - Sustancia B - 61

Tabla 5. Datos de RMN ^1H de B – 61 obtenidos del espectro unidimensional y sus correlaciones con la RMN ^{13}C obtenidas de espectros bidimensionales.

No. H	δH ppm	Multiplicidad	Integración	COSY H – H	Correlación $^1\text{JH} - \text{C HMQC}$	Correlación $^{2-3}\text{JH} - \text{C HMBC}$
26	0.74	Singlete	3		17.16	47.56; 32.53; 32.45 41.55
5, 25	0.85	Singlete	4		55.30; 16.66	55.30; 80.94; 28.04 37.70; 39.29
24	0.86	Singlete	3		28.04	16.66; 37.70; 55.30 80.94; 38.07; 39.29
29	0.90	Singlete	3		33.06	33.79; 45.84; 23.58 22.87; 46.56; 23.40 30.67; 32.53
30	0.93	Singlete	3		23.58	30.67; 47.56; 32.53 33.79; 45.84
23	0.94	Singlete	3		15.39	37.00; 37.70; 47.56 55.30; 38.07
1a, 15a	1.08	Multiplete	2	1.97; 1.60	27.63; 38.07	
27	1.13	Singlete	3		25.91	39.29; 41.55; 46.56 143.61; 27.63; 40.91
22a	1.18	Multiplete	1		45.84	46.56
-	1.25	Singlete	5		29.67	29.67
6, 21a, 19a	1.38	Multiplete	4	0.85; 1.76	33.79; 18.18; 32.53	N.P.
1b, 2a, 7a 16a, 21b 22b, 19b 11a, 9	1.60	Multiplete	9	4.50; 2.82; 1.08	47.56; 23.53; 32.53 22.87; 23.40; 32.45 33.79; 38.07; 46.84	16.66; 37.70; 55.30 80.94; 23.58; 30.67 39.29; 33.79; 38.07 143.61; 17.16; 23.40 33.06; 37.00; 15.39 40.91
7b, 15b	1.76	Multiplete	2	1.38	32.45; 27.63	46.56
2b, 11b	1.87	Multiplete	2	5.27	23.40; 23.53	21.30
16b	1.97	Triple doblete	1	1.08	22.87	N.P.
Acetilo	2.05	Singlete	3		21.30	171.05
18	2.82	Doble doblete	1	1.60	40.91	46.56; 143.61; 122.56 184.30; 41.55; 23.40; 45.84; 22.87
3	4.50	Triplete	1	1.60	80.94	16.66; 23.53; 171.05 38.07; 28.04; 37.70
12	5.27	Triplete	1	1.87	122.56	23.58; 47.56; 40.91 41.55; 23.50

Tabla 6. Datos de RMN ¹³C de B – 61 y sus correlaciones con la RMN ¹H obtenidas de espectros bidimensionales

No. C	δC ppm	Tipo de C	Correlación ¹ J C – H HMQC	Correlación ³ J C – H HMBC
24	15.39	CH ₃	0.94	1.60
25	16.66	CH ₃	0.85	1.60; 0.86; 4.50
26	17.16	CH ₃	0.74	1.60
6	18.18	CH ₂	1.38	N.P
Acetilo	21.30	CH ₃	2.05	1.87
16	22.87	CH ₂	1.97; 1.60	0.90
11	23.40	CH ₂	1.87; 1.60	0.90; 1.60; 2.82; 5.27
2	23.53	CH ₂	1.60; 1.87	4.50
30	23.58	CH ₃	0.93	0.90; 1.60; 5.27
27	25.91	CH ₃	1.13	N.P
15	27.63	CH ₂	1.08; 1.76	1.13
23	28.04	CH ₃	0.86;	0.85; 4.50
grasa	29.67	CH ₂	1.25	1.25
20	30.67	C	N.P	0.93; 0.90; 1.60
7	32.45	CH ₂	1.76; 1.60	0.74
19	32.53	CH ₂	1.60; 1.38	0.74; 0.90; 0.93
29	33.06	CH ₃	0.90;	0.93; 1.60
21	33.79	CH ₂	1.38; 1.60	0.90; 0.93; 1.60
8	37.00	C	N.P	1.60; 0.94
10	37.70	C	N.P	1.60; 0.94; 0.85; 4.50; 0.86
1	38.07	CH ₂	1.08; 1.60	0.85; 4.50; 0.94; 0.86; 1.60
4	39.29	C	N.P	1.13; 1.60; 0.74; 0.86; 0.85; 0.94; 1.38
18	40.91	CH	2.82	5.27; 0.74; 1.13; 1.60
14	41.55	C	N.P	5.27; 1.13; 0.74; 2.82
22	45.84	CH ₂	1.18; 1.60	0.90; 0.93; 2.82
17	46.56	C	N.P	1.76; 2.82; 0.90; 1.18; 1.13
9	47.56	CH	1.60	5.27; 0.74; 0.94; 0.93
5	55.30	CH	0.85	1.60; 0.94; 0.86; 0.85
3	80.94	CH	4.50	1.60; 0.85; 0.86
12	122.56	CH	5.27	2.82
13	143.61	C	N.P	2.82; 1.60; 1.13
Carbonilo	171.05	C	N.P	4.50; 2.05
Carboxilo	184.30	C	N.P	2.82; 1.97

Según lo expuesto anteriormente, el análisis de datos de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C , la correlación de manera lógica mediante los espectros HMBC y HMQC y datos de la literatura (Ciangherotti, C., y col., 2004), (David, J. y col., 2001) y (mendonça, P. y col., 2001) la estructura propuesta para el compuesto B-61, que corresponde al triterpeno pentacíclico de tipo esteroidal es el ácido 3-(metilcetoxi)-12-oleanen-28-oico. (Figura 11). Vale la pena anotar que los valores para el carbono del grupo carboxilo de triterpenos pentacíclicos oscilan según la literatura referenciada entre 178.0 ppm y 181.0 ppm, mientras que para B-61 se encuentra en 184.30 ppm, lo que indicaría que no se trata de un ácido sino de un aldehído, cuyos valores están entre 182.0 ppm y 205.0 ppm aproximadamente; sin embargo, el valor del protón del carboxilo no aparece en el espectro, mientras que en los aldehídos, este protón por lo general se observa.

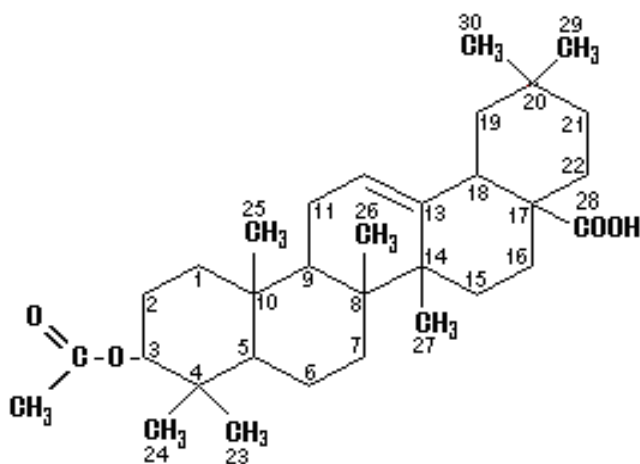


Figura 11. **Ácido 3-(metilcetoxi)-12-oleanen-28-oico (Compuesto B-61)**

4.2. Compuesto LMCB1

Sólido de color blanco con punto de fusión 128 – 130 °C y $R_f = 0.538$ en éter – AcOEt (8: 2).

Según los espectros de RMN ^1H , (figura 12), se observa en la región entre 0.681ppm y 2.265 ppm, señales correspondientes a grupos de hidrógenos metílicos, metilénicos y metínicos; las señales en 0.681 ppm, y en 1.010 ppm, son singletes. Una señal de un protón tipo olefínico en 5.360 ppm (1H, m, H-6) y una señal en 3.523 ppm (1H, m, H-3), atribuida a un protón de un carbono unido a un grupo hidroxilo. Estas señales son propias de compuestos de tipo esteroide (Puentes, L. 2005).

Según los espectros de RMN ^{13}C (figura 13), DEPT 135 (figura 14), DEPT 90 (figura 15) y DEPT 45 (figura 16), El compuesto consta de 29 señales, de las cuales 6 corresponden a carbonos primarios (CH_3), 11 corresponden a carbonos secundarios (CH_2), 9 corresponden a carbonos terciarios (CH) y 3 corresponden a carbonos cuaternarios.

Según los espectros de RMN ^{13}C , la señal de 1.010 ppm, que corresponde al metilo 19.45 ppm (C-19), ubicada entre los anillos A y B, correlaciona con 50.164 ppm (C-9) (3J ; CH, según DEPT), con 140.788 ppm (C-5) (3J ; C) y con 37.277 ppm. (C-1) (3J ; CH_2 , Según DEPT), correspondiente a 1.82 ppm (4H, m.).

Se evidencia por el espectro HMQC (figura 17 y tablas 6 y 7), que 0.681 ppm (3H,s, H-18) correlaciona con el metilo 11,876 ppm, ubicado entre los anillos C y D; y según HMBC (tablas 6 y 7), a su vez correlaciona con: 39.804 ppm en C-12 (3J ; CH_2); 56.084 ppm. En C-17 (3J ; CH); 42.347 ppm en C-13 (2J ; C) y con 56.795 ppm, correspondiente a C-14 (3J ; CH).

La señal en 0.835 ppm, que corresponde a los metilos 19.836 ppm (C-26) y 12.00 ppm (C-29), de la cadena lateral que acompaña al núcleo esteroidal, correlaciona con 29.188 ppm (C-25) (2J ; CH); 19.056 ppm (C-27) (3J ; CH₃) y con 45.871 ppm, (C-24) (3J ; CH).

El carbono terciario 36.170 ppm, C-20, perteneciente a la cadena lateral, correlaciona: con el protón 1.070 ppm (1H, m), perteneciente al carbono terciario 56.084 ppm, C-17 (2J) y al anillo D; con la señal en 0.9223 ppm, perteneciente a 18.79 ppm (C-21) (2J ; CH₃) y con la señal en 1.160 ppm, perteneciente a 26.111 ppm (C-23) (3J ; CH₂).

Según el análisis de los datos de los espectros de RMN 1H y ^{13}C y los obtenidos en la literatura (Abreu y col., 2001), el compuesto LMCB1 corresponde al β Sitosterol, (figura 19)



LMCB1, 1H, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.

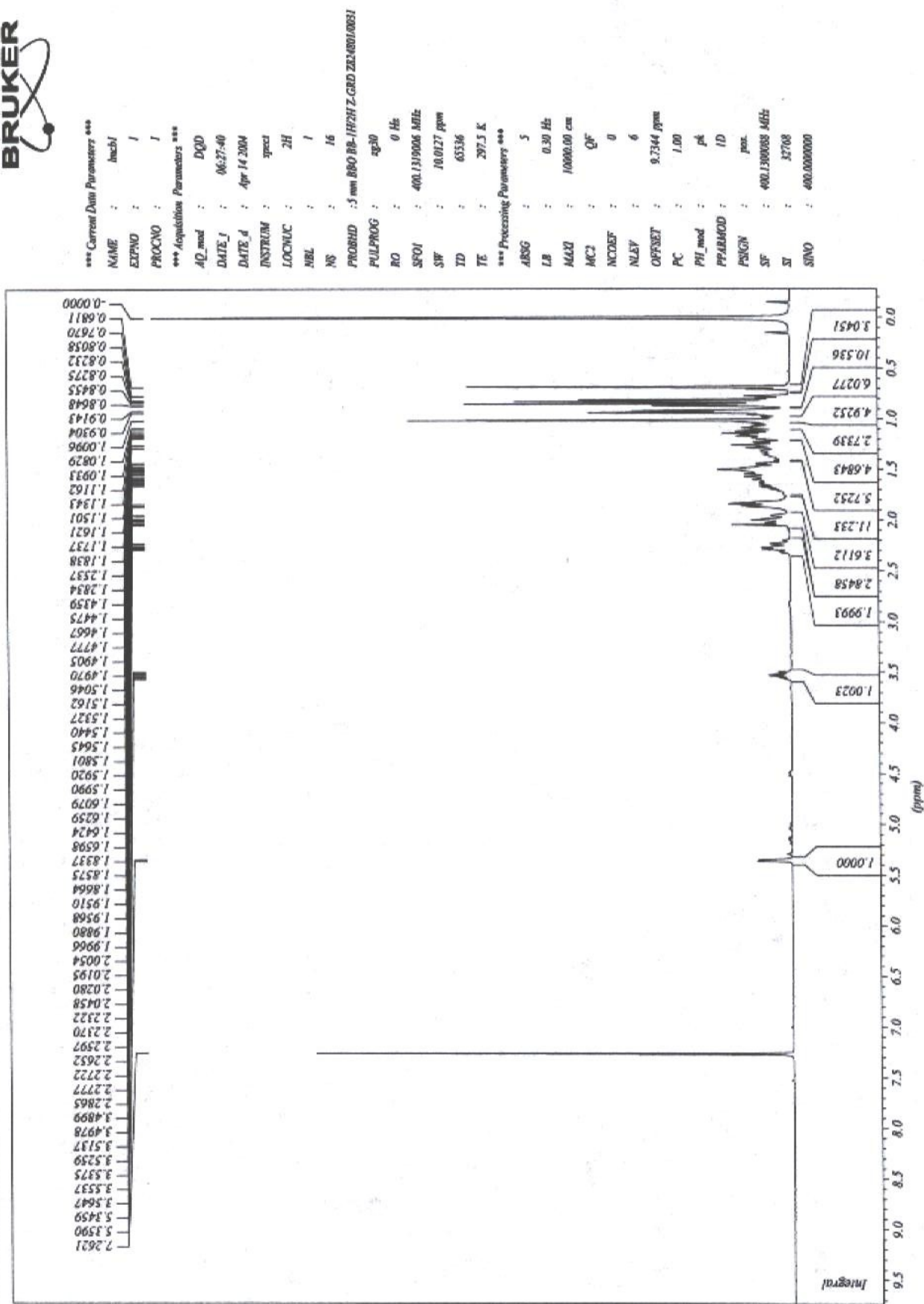
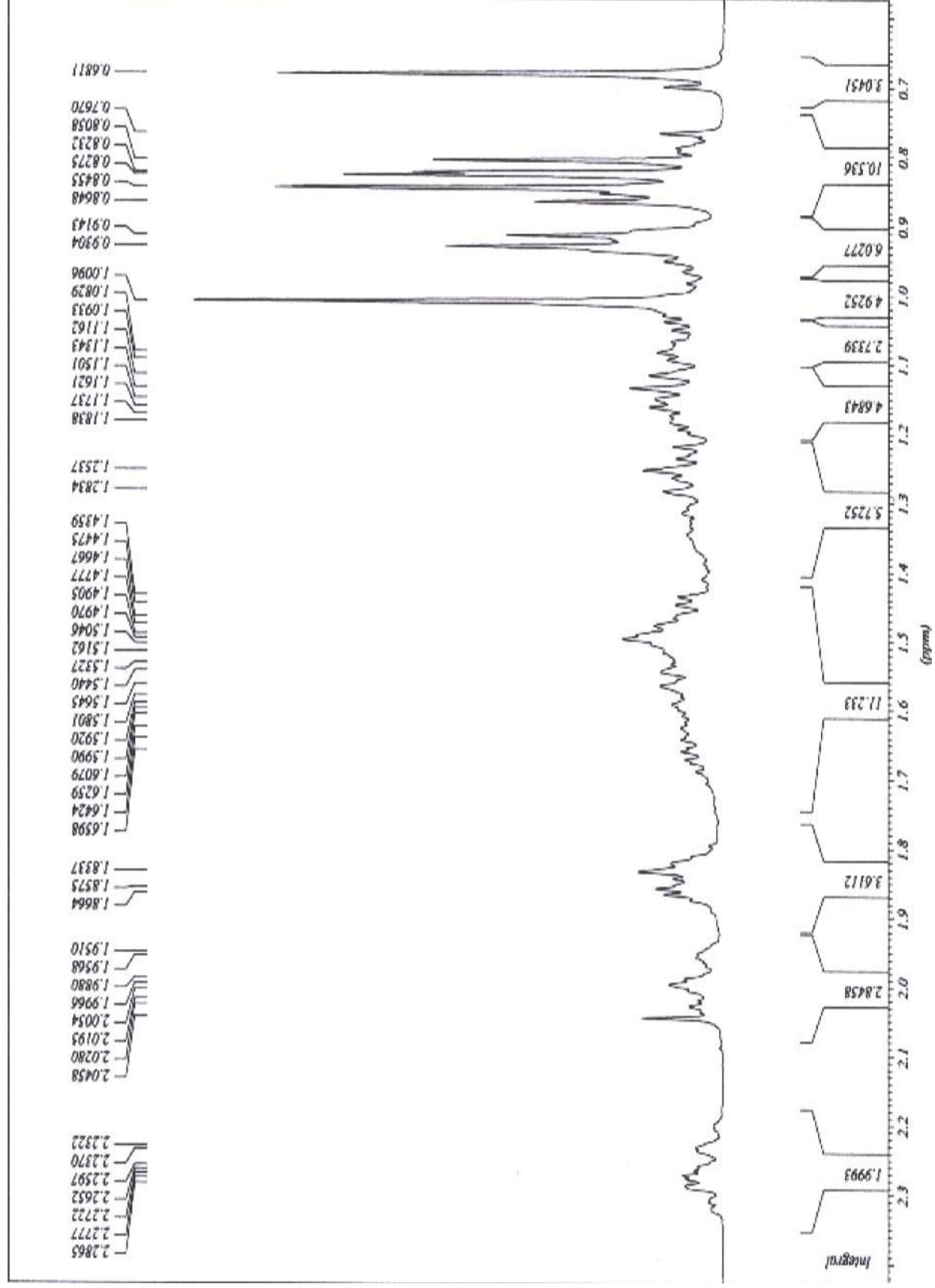


Figura 12. RMN ¹H – Sustancia LMCB1

LACB1, 1H, CDC13, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



Fi Figura 12a. RMN ^1H - Sustancia LACB1 ampliada

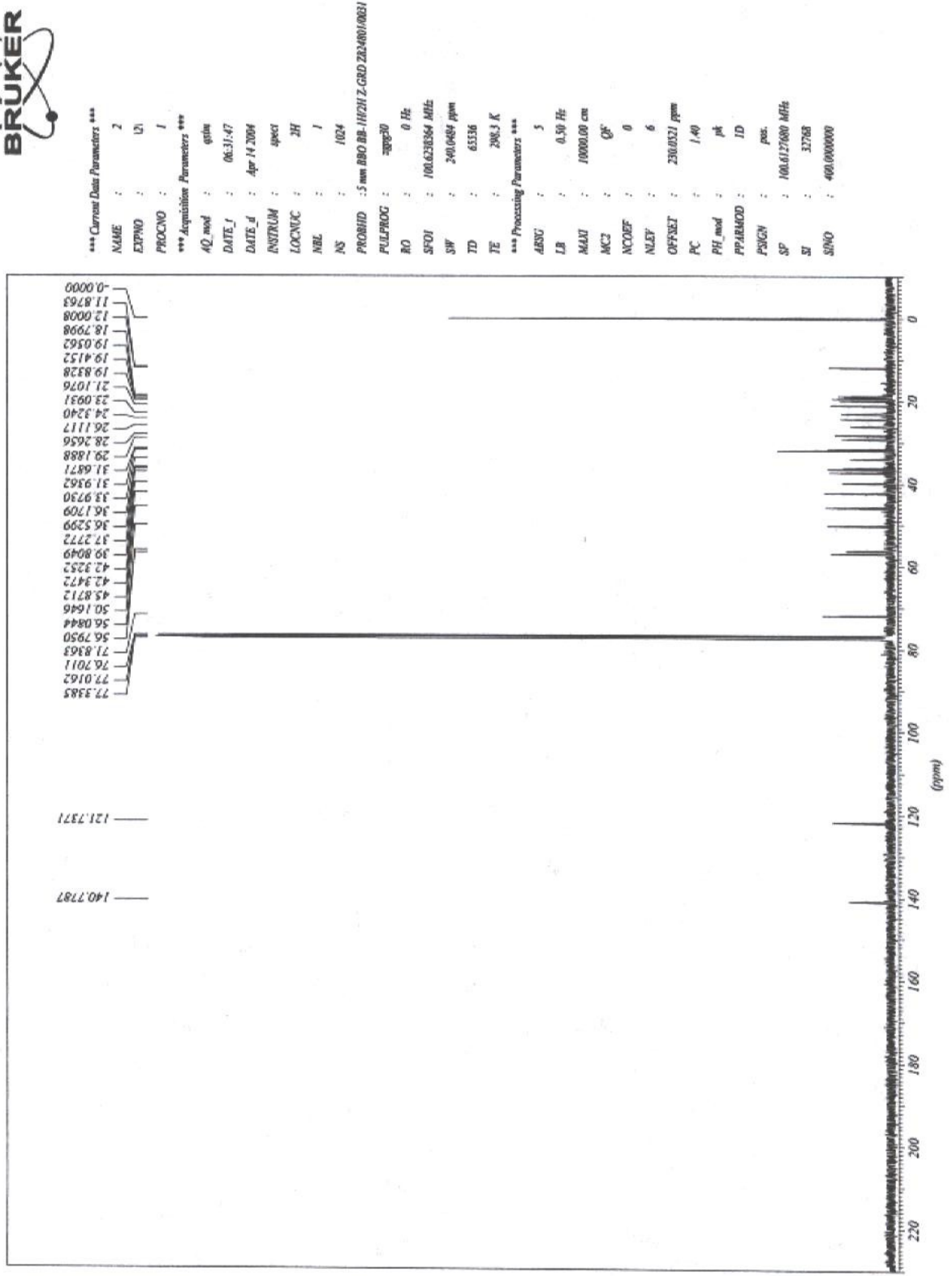
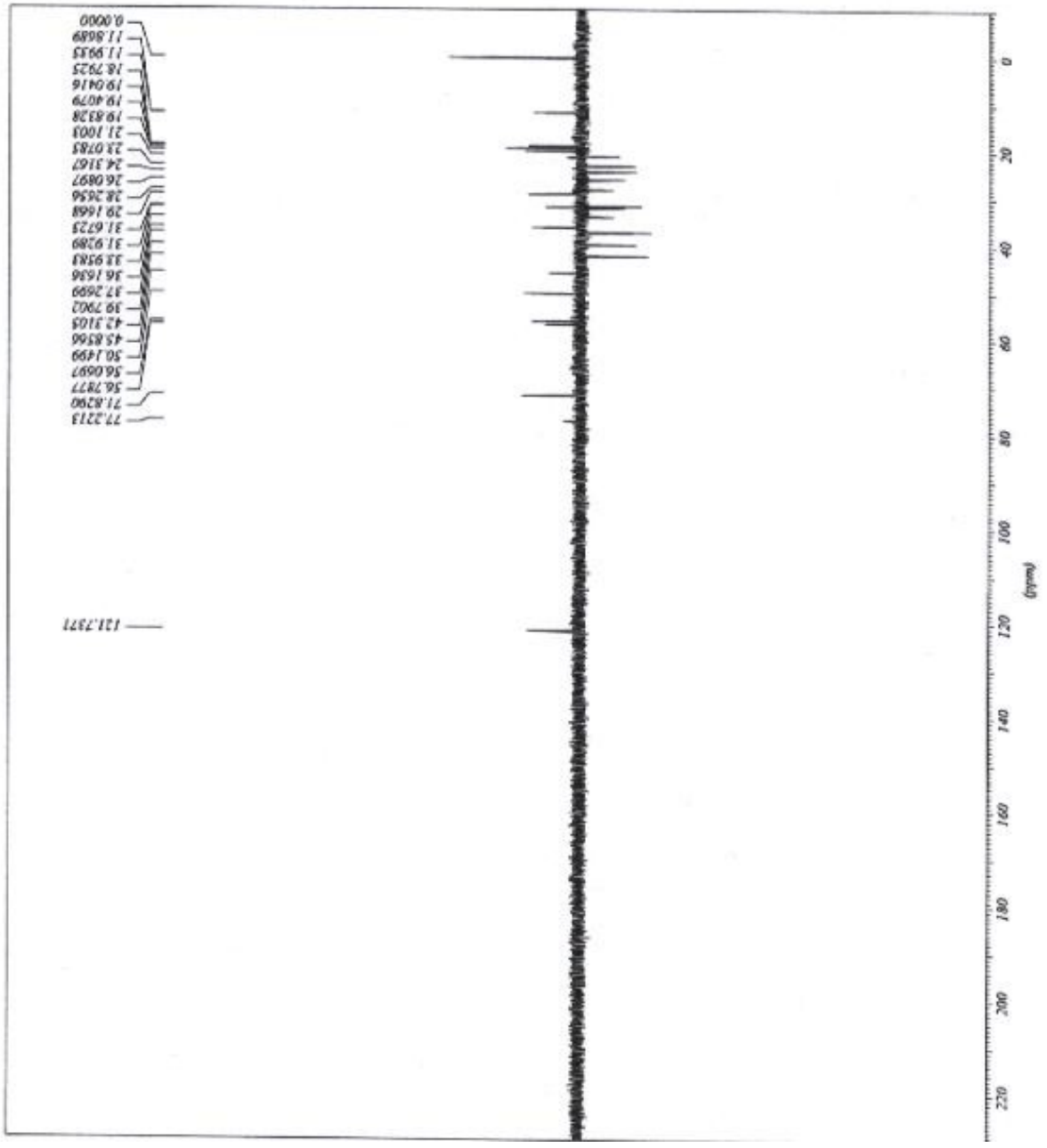


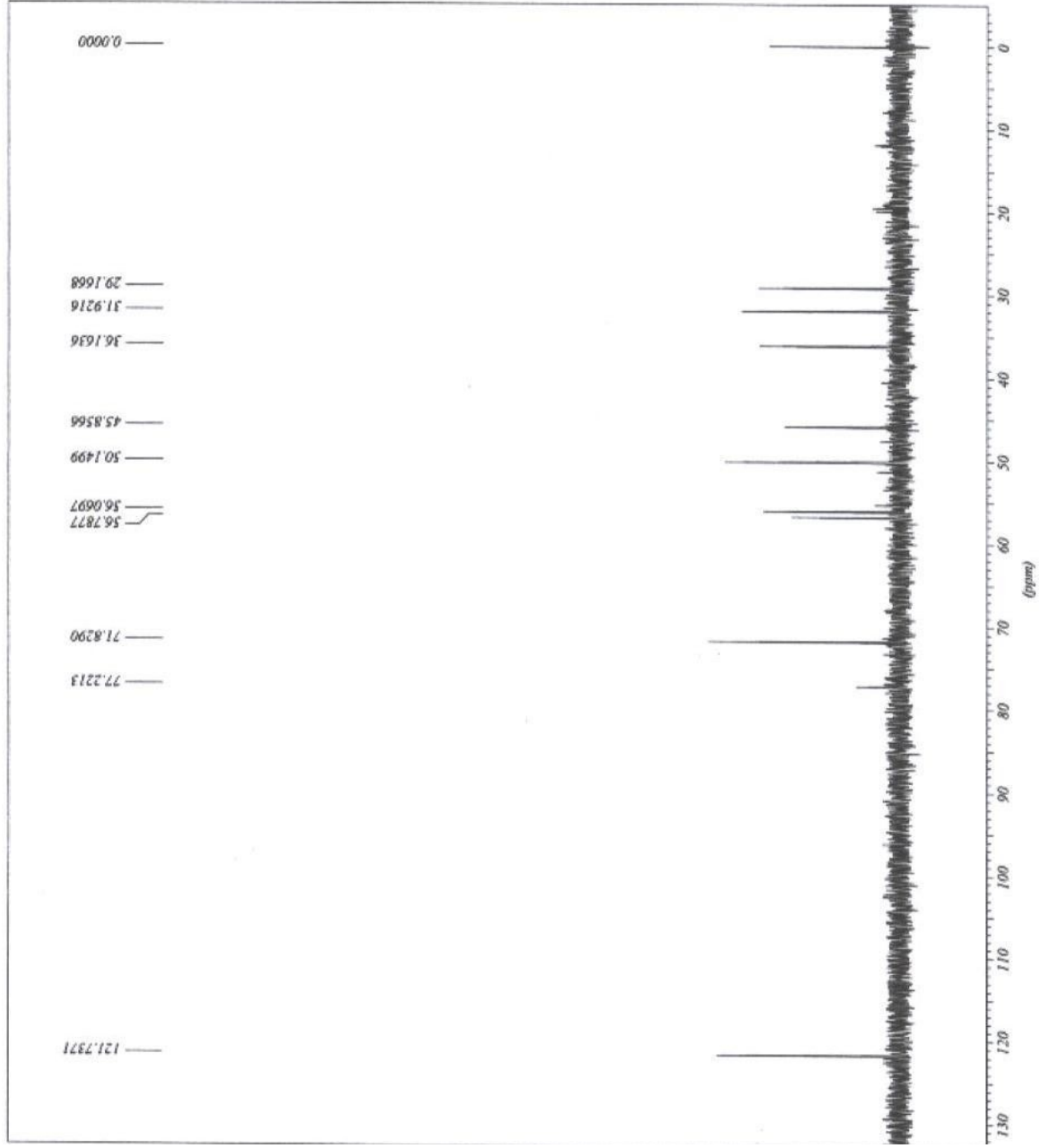
Figura 13. RMN ¹³C – Sustancia LMCB1

LACBI, DEPT135, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```

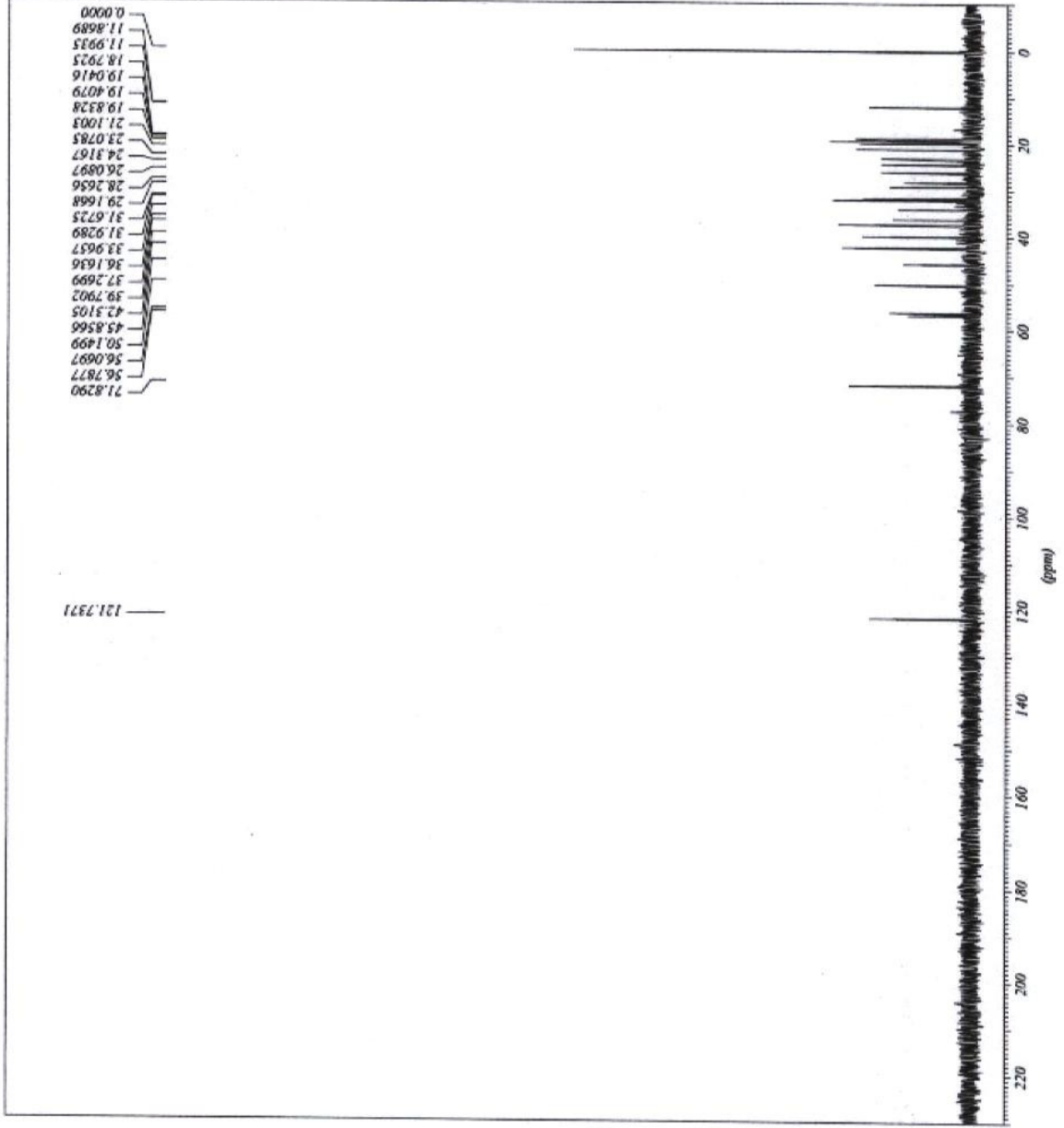
*** Current Data Parameters ***
NAME : 5
EXPNO : 1
PROCNO : 1
*** Acquisition Parameters ***
AQ_mod : gnm
DATE_1 : 08-20-09
DATE_2 : Apr 14 2004
INSTRUM : spect
LOCNAC : 2H
NBL : 1
NS : 256
PROBHD : 5 mm BBO BB-1H/1H Z-GRD Z224NH1001
PULPROG : zgpg30
RO : 0 Hz
SFO1 : 100.628364 MHz
SW : 240.0454 ppm
ZD : 6.5336
TE : 297.3 K
*** Processing Parameters ***
AQG : 3
LB : 0.30 Hz
GAIN : 10000.00 cm
MC2 : QF
ACDEF : 0
ALEY : 6
OFFSET : 230.0448 ppm
PC : 1.40
PE_mod : pa
PPARAMOD : ID
PMSGN : hsbh
SF : 100.612780 MHz
SI : 32768
SNO : 80.000000
  
```



```

*** Current Data Parameters ***
NAME : 4
EXPNO : 14
PROCNO : 1
*** Acquisition Parameters ***
AQ_mod : spin
DATE_1 : 08-06-10
DATE_2 : Apr 14 2004
INSTRUM : spect
LOCNUC : 13C
NBL : 1
NS : 256
PROBHD : 5 mm BBO BB-HPCII Z-GRD 2024001A001
PULPROG : zgpg30
RO : 0 Hz
SFO1 : 100.628364 MHz
SF : 240.0464 ppm
TD : 65536
TE : 297.9 K
*** Processing Parameters ***
ABSZ : 5
LB : 0.50 Hz
MGZ : 10000.00 cm
MC2 : QF
MDEF : 0
NLEY : 6
OFFSE1 : 230.0448 ppm
PC : 1.40
PH_mod : pk
PPORHD : 1D
PSGV : pos
SF : 100.617680 MHz
SI : 32768
SRO : 80.000000
    
```

Figura 15. DEPT 90 – Sustancia LMCB1

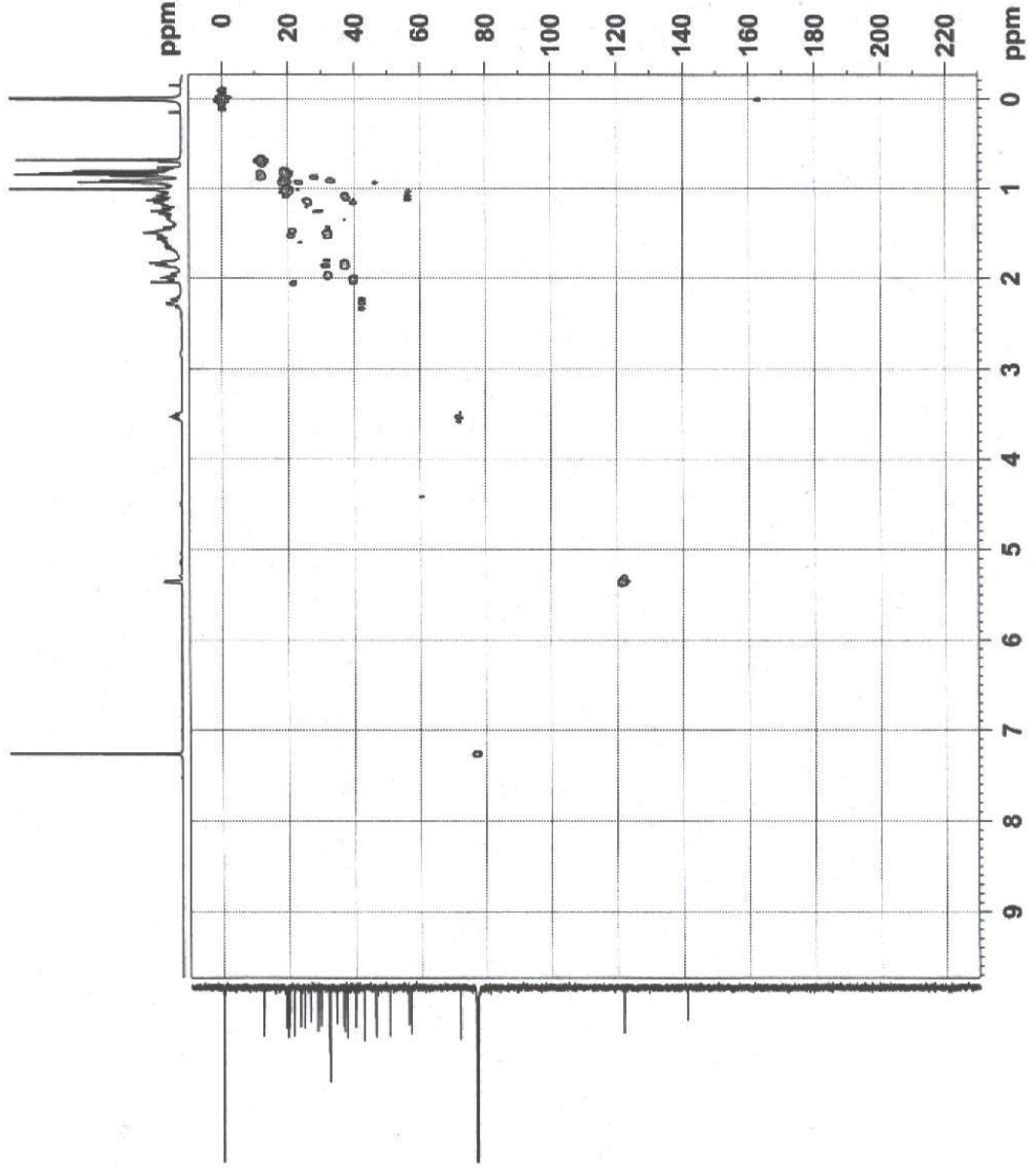


```

*** Current Data Parameters ***
NAME : 3
EXPNO : 11
PROCNO : 1
*** Acquisition Parameters ***
AQ_mod : gpin
DATE_1 : 07:51:20
DATE_2 : Apr 14 2004
INSTRUM : spect
LOCNM : 2H
NBL : 1
NS : 256
PROBHD : 5 mm BBO BB-H2H Z-GD ZS-60010031
PULPROG : zgpg30
RO : 0 Hz
SFO1 : 100.628364 MHz
SW : 240.0448 ppm
TD : 65536
TE : 298.0 K
*** Processing Parameters ***
ASBG : 5
LB : 0.30 Hz
MAGI : 10000.00 cm
MC2 : QF
NCOEF : 0
NLEV : 6
OFFSE1 : 230.0448 ppm
PC : 1.40
PH_mod : pk
PPHMOD : ID
PSIGN : pos.
SF : 100.612700 MHz
SI : 32768
SINO : 80.000000
    
```

Figura 16. DEPT 45 – Sustancia LMCB1

LMCB1, HMQC, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```

Current Date Parameters
NAME LMCB1
PROCNO 7
F2 - Acquisition Parameters
Time 2011.07.17.12.52
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBO 5mm
PULPROG zgpg30
TD 1024
SOLVENT CDCl3
NS 16
DS 4
SWH 4006.410 Hz
AQ 0.1278452 sec
RG 26068
DE 124.100 umsc
TE 297.3 K
CHFTZ
D1 140.0000000 sec
D11 1.500000000 sec
D2 0.00344828 sec
D3 0.000000000 sec
d12 0.000000000 sec
D16 0.000200000 sec
D20 0.00242438 sec
DECT 0.000000000 sec
MCREST 1.500000000 sec
----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13
P1 11.25 umsc
SFO1 100.628359 MHz
SFL 0.00 dB
SFOL 400.1319006 MHz
----- CHANNEL f2 -----
CPROG2 waltz16
NUC2 1
P2 9.00 umsc
SFO2 75.00 umsc
SFL 2.00 dB
SFOL 100.628354 MHz
----- GRADIENT CHANNELS -----
G1NAME SINE.100
G1PHASE SINE.100
G1PULSE SINE.100
G2NAME SINE.100
G2PHASE SINE.100
G2PULSE SINE.100
G3NAME SINE.100
G3PHASE SINE.100
G3PULSE SINE.100
G4NAME SINE.100
G4PHASE SINE.100
G4PULSE SINE.100
G5NAME SINE.100
G5PHASE SINE.100
G5PULSE SINE.100
G6NAME SINE.100
G6PHASE SINE.100
G6PULSE SINE.100
G7NAME SINE.100
G7PHASE SINE.100
G7PULSE SINE.100
G8NAME SINE.100
G8PHASE SINE.100
G8PULSE SINE.100
G9NAME SINE.100
G9PHASE SINE.100
G9PULSE SINE.100
F1 - Acquisition parameters
RG 26068
DS 4
SWH 4006.410 Hz
AQ 0.1278452 sec
RG 26068
DE 124.100 umsc
TE 297.3 K
CHFTZ
D1 140.0000000 sec
D11 1.500000000 sec
D2 0.00344828 sec
D3 0.000000000 sec
d12 0.000000000 sec
D16 0.000200000 sec
D20 0.00242438 sec
DECT 0.000000000 sec
MCREST 1.500000000 sec
----- Processing parameters
SI 1024
SF 100.628359 MHz
SF 75.000000 MHz
SOLVENT CDCl3
NS 16
DS 4
SWH 4006.410 Hz
AQ 0.1278452 sec
RG 26068
DE 124.100 umsc
TE 297.3 K
CHFTZ
D1 140.0000000 sec
D11 1.500000000 sec
D2 0.00344828 sec
D3 0.000000000 sec
d12 0.000000000 sec
D16 0.000200000 sec
D20 0.00242438 sec
DECT 0.000000000 sec
MCREST 1.500000000 sec
----- Processing parameters
SI 1024
SF 100.628359 MHz
SF 75.000000 MHz
SOLVENT CDCl3
NS 16
DS 4
SWH 4006.410 Hz
AQ 0.1278452 sec
RG 26068
DE 124.100 umsc
TE 297.3 K
CHFTZ
D1 140.0000000 sec
D11 1.500000000 sec
D2 0.00344828 sec
D3 0.000000000 sec
d12 0.000000000 sec
D16 0.000200000 sec
D20 0.00242438 sec
DECT 0.000000000 sec
MCREST 1.500000000 sec

```

Figura 17. HMQC – Sustancia LMCB1

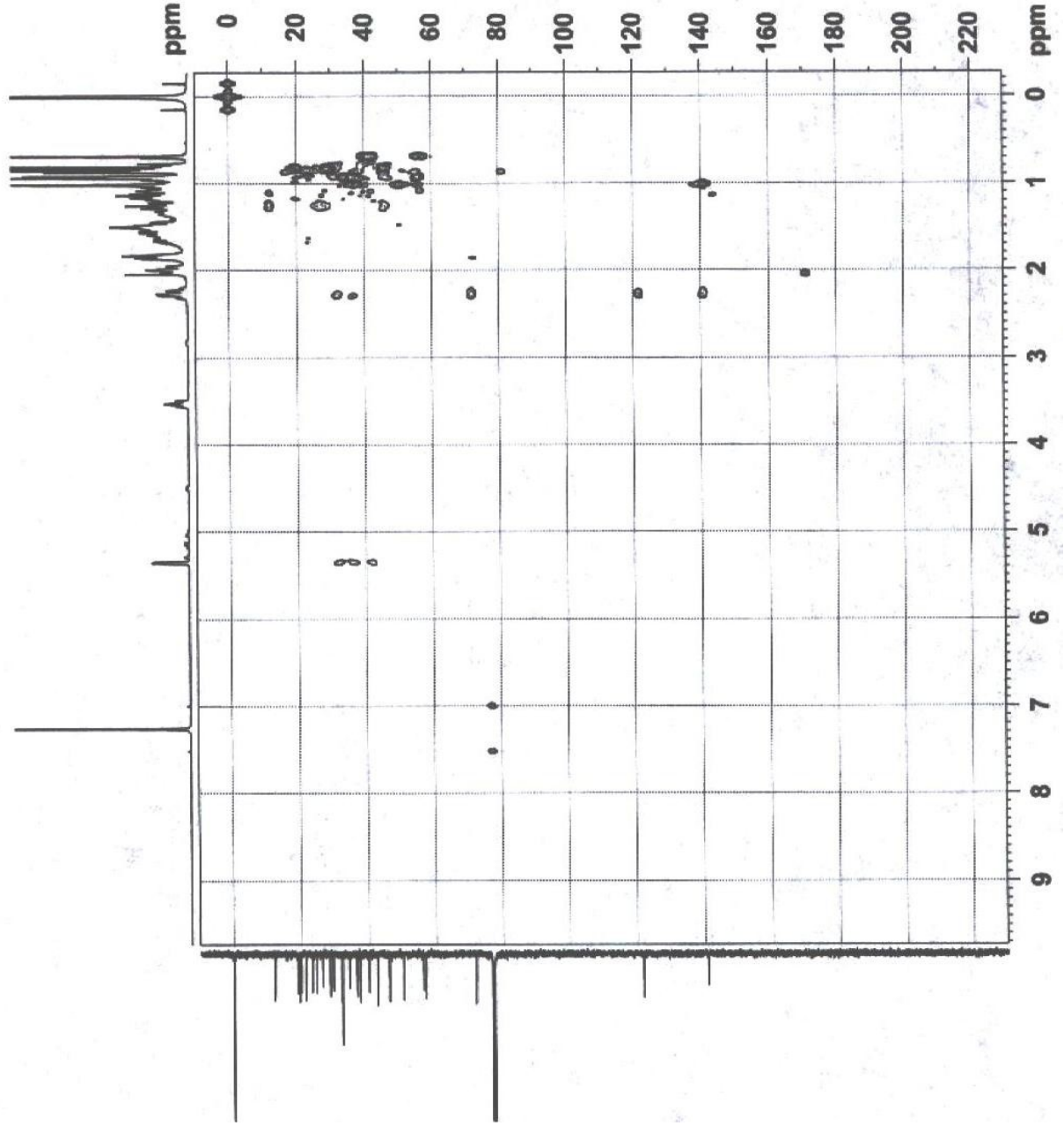
Tabla 7. Datos de RMN ¹H de LMCB1 obtenidos del espectro unidimensional y sus correlaciones con la RMN ¹³C obtenidas de espectros bidimensionales.

No H	δH ppm	Multiplicidad	Integr	COSY H – H	Correlación ¹ JH – C HMQC	Correlación ²⁻³ JH – C HMBC
18	0.681	Simplete	3		11.876	39.804; 42.347; 56.084 56.795
27	0.815	Doblete	-		19.056	19.415; 26.111; 45.87 29.188
29, 16a	0.835	Multiplete	-		12.00; 19.832	18.799; 19.056; 29.188 23.093; 45.871
24, 22, 9 21	0.9223	Multiplete	6	1.590	33.973; 18.799; 50.164 45.871	36.170; 36.529; 19.832 56.084; 33.973; 56.795
19, -	1.010	Simplete	5		19.415; -	50.164; 37.277; 36.170 140.788; 56.08; 56.795
17, 14	1.070	Multiplete	-	1.842	56.084 ; 56.795	56.795; 28.265; 42.347 39.804; 56.084
11a, 23	1.160	Multiplete	3	2.050	26.111; 39.804	45.871; 33.973; 19.832 19.415; 19.056; 36.170
1a, 25	1.310	Multiplete	-	0.835; 0.815; 1.842	29.188; 37.277	12.00; 45.871; 26.111 28.265
2a, 7, 15 11b	1.590	Multiplete	-	5.360; 1.842; 2.050	31.936; 21.107; 31.681 24.324	50.164; 42.347; 39.804 31.936;
1b, 2b, 20	1.842	Multiplete	4	1.590; 1.070; 1.310	36.170; 37.277; 31.681	71.836; 36.529
12, 8	2.050	Multiplete	3	1.590; 1.160; 1.070	31.936; 39.804	N.P
4	2.265	Multiplete	2	3.523	42.347	140.788; 121.73; 31.68 36.529; 31.936; 37.277 71.836; 36.170
3	3.523	Multiplete	1	2.265; 1.590; 1.842	71.836	N.P
6	5.360	Multiplete	1	1.590; 2.265; 2.050	121.737	31.936; 36.529; 42.347 31.681

Tabla 8. Datos de RMN ¹³C de LMCB1 y sus correlaciones con la RMN ¹H obtenidas de espectros bidimensionales

No. C	δC ppm	Tipo de C	Correlación ¹ JC – H HMQC	Correlación ³⁻² JC – H HMBC
18	11.876	CH ₃	0.681	1.070
29	12.00	CH ₃	0.835	1.310
21	18.799	CH ₃	0.9223	0.835
27	19.056	CH ₃	0.815	1.160; 0.835
19	19.415	CH ₃	1.010	1.160; 0.815; 0.835
26	19.832	CH ₃	0.835	0.9223; 1.160
11	21.107	CH ₂	1.590; 1.160	NP
28	23.093	CH ₂	1.010	0.835
15	24.324	CH ₂	1.590	0.835
23	26.111	CH ₂	1.160	1.310; 0.815
16	28.265	CH ₂	0.835; 1.310	1.070; 0.815; 1.310
25	29.188	CH	1.310	0.835; 0.815
2	31.681	CH ₂	1.590; 1.842	2.265; 5.360
7	31.936	CH	2.050	5.360; 2.265; 0.9223
8	31.936	CH ₂	1.590	0.9223; 5.360; 2.265
22	33.973	CH ₂	0.9223	0.9223; 1.160
20	36.170	CH	1.842	1.010; 0.922; 2.265; 5.360; 1.160
10	36.529	C	NP	0.9223; 1.842; 5.360; 1.160; 2.265
1	37.277	CH ₂	1.842; 1.310	1.010; 0.9223; 2.265
12	39.804	CH ₂	2.050	0.681; 1.070; 1.590
4	42.325	CH ₂	2.265	5.360; 1.590
13	42.347	C	N.P.	1.590; 1.070; 0.681
24	45.871	CH	0.9223	1.310; 1.160; 0.815; 0.835; 1.590
9	50.164	CH	0.9223	1.010; 1.590
17	56.084	CH	1.070	0.681; 1.010; 0.9223; 1.070
14	56.795	CH	1.070	1.070; 0.9223; 0.681; 1.010
3	71.836	CH	3.523	2.265; 1.842
6	121.737	CH	5.360	2.265
5	140.788	C	N.P.	2.265; 1.010

LMCB1, HMBC, CDCl3, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```

Current Data Parameters
Name      LMCB1
EXPNO    1
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20040414
Time     14.25
INSTRUM spect
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG  invgpr1dmgf
TD       1024
SOLVENT  CDCl3
NS       16
DS       4
SHE      4006.410 Hz
FIDRES   3.913510 Hz
AQ        0.1278453 sec
RG        16384
EM        124.500 uSsec
TE        297.3 K
CONST2   145.0000000
AQ        0.08000300 sec
D1        1.50000000 sec
G2        0.08144828 sec
G3        0.08000300 sec
G4        0.08000300 sec
G13       0.08000300 sec
D16       0.08000300 sec
IMB0      0.08002870 sec
PCREST   0.00000000 sec
MCREST   1.50000000 sec

***** CHANNEL F1 *****
NUC1      1H
P1        11.25 uSsec
P2        22.50 uSsec
PL1       8.00 dB
SFO1      400.132696 MHz

***** CHANNEL F2 *****
NUC2      13C
P3        5.00 uSsec
P4        10.00 uSsec
SFO2      100.628384 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPRM1     SIME.100
GPRM2     SIME.100
GPRM3     SIME.100
GPRM4     SIME.100
GPRM5     SIME.100
GPRM6     SIME.100
GPRM7     SIME.100
GPRM8     SIME.100
GPRM9     SIME.100
GPRM10    SIME.100
GPRM11    SIME.100
GPRM12    SIME.100
GPRM13    SIME.100
GPRM14    SIME.100
GPRM15    SIME.100
GPRM16    SIME.100

F1 - Acquisition Parameters
RG        128
SFO1      100.62238 MHz
FIDRES   168.707733 Hz
SFO2      240.048 Ppm
PWR0X     GP

F2 - Processing parameters
SI        1024
SF        400.1300085 MHz
MM        0 Hz
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC        1.40

F1 - Processing parameters
SI        1024
SF        100.6127656 MHz
MM        0 Hz
SSB       0
PC        0.00 Hz
GB        0
  
```

Figura 18. HMBC Sustancia LMCB1

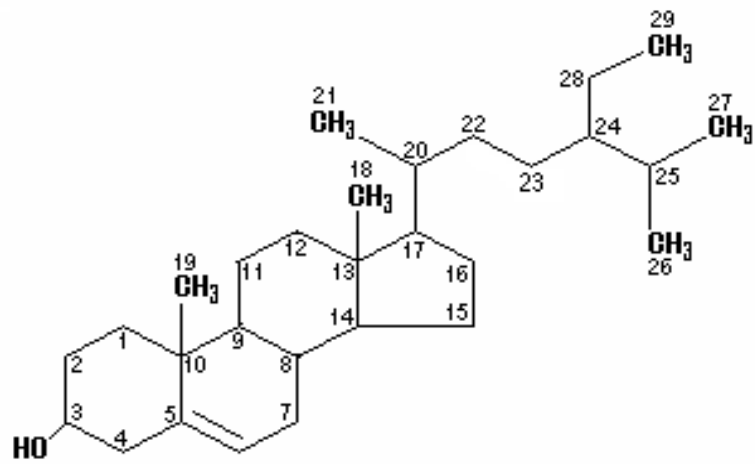


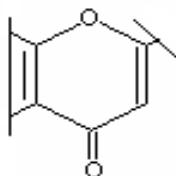
Figura 19. β - Sitosterol (compuesto LMCB1)

4.3. Compuesto B – 95

Sólido pulverulento de color amarillo, con punto de fusión 259 – 260 °C y $R_f = 0.684$ en BAW (4:1:5); se obtuvo de la fracción AcOEt de hojas de *Bursera graveolens*, por calentamiento de la fracción con metanol y AcOEt (no se eluyó columna).

Por su alta polaridad se aplicó cromatografía en papel utilizando disolventes polares, y al someterla a vapores de amoníaco y examinar con la luz ultravioleta se observaron manchas café, mientras que con la luz ordinaria se podían apreciar manchas amarillas; por estas características, el compuesto correspondería a una flavona (DOMINGUEZ, 1973).

La aplicación de pruebas específicas de flavonoides para este compuesto, produjo resultados positivos tanto con $FeCl_3$ (color verde oscuro), como con Shinoda (Mg y HCl) (color naranja). Esta última indica la presencia del anillo de gama benzopirona en la estructura de flavonoides (BILBAO, 1997).



En la prueba de antrona – H_2SO_4 para determinar la presencia de glicósidos, en donde el medio ácido hidroliza el enlace glicosídico produciendo una coloración verde – azulada, la reacción con el compuesto fue negativa.

Para determinar la estructura del compuesto se utilizaron las espectroscopias RMN y UV.

4.3.1. Resultados de las pruebas por espectroscopía UV.

Como el espectro en metanol de los flavonoides da información sobre el tipo de flavonoide y el estado de oxidación, se utilizó este solvente para disolver la muestra. La concentración fue de 0.5 mg / 10 mL de MeOH (f = 1 / 5). Los reactivos de desplazamiento utilizados y las concentraciones fueron las siguientes:

AlCl₃: 5% (en MeOH)
 HCl: 6N (en MeOH)
 AcONa: 5% (en MeOH)
 H₃BO₃: 5% (en MeOH)
 MeONa 5% (en MeOH)

El análisis de los espectros condujo a los siguientes resultados:

Tabla 9. **Variación en la absorción U.V. en nm de la muestra B - 95**

Nombre	Corrimiento batocrómico en MeOH / MeONa	Corrimiento batocrómico de la banda II en MeOH + AcONa	Corrimiento batocrómico en MeOH + AcONa + H ₃ BO ₃	Corrimiento batocrómico de la banda II en MeOH a la banda Ila en presencia de AlCl ₃	Corrimiento batocrómico de la banda I en MeOH a la banda la en presencia de AlCl ₃	Corrimiento batocrómico de la banda II en MeOH a la banda Ila en presencia de AlCl ₃ /HCl	Corrimiento batocrómico de la banda I en MeOH a la banda la en presencia de AlCl ₃ /HCl
B-95	62	1.5	-	33	60	33	60

Picos λ máxima

Banda II 271.0 nm

Banda I 337.0 nm

Banda II De 247.5 nm a 287.0 nm

Banda I De 287.0 nm a 395.4 nm

- La banda I es más pronunciada que la banda II (figura 20), lo que indica oxigenación en el anillo B. Por el rango de la banda I (287.0 nm a 395.4 nm), el compuesto corresponde a una flavona. Según datos teóricos (Universidad de la República, 1998), La banda I de las flavonas aparece entre 304 y 350 nm, mientras que la de los flavonoles aparece entre 352 y 385 nm. (Harborn, J y col. 1975)

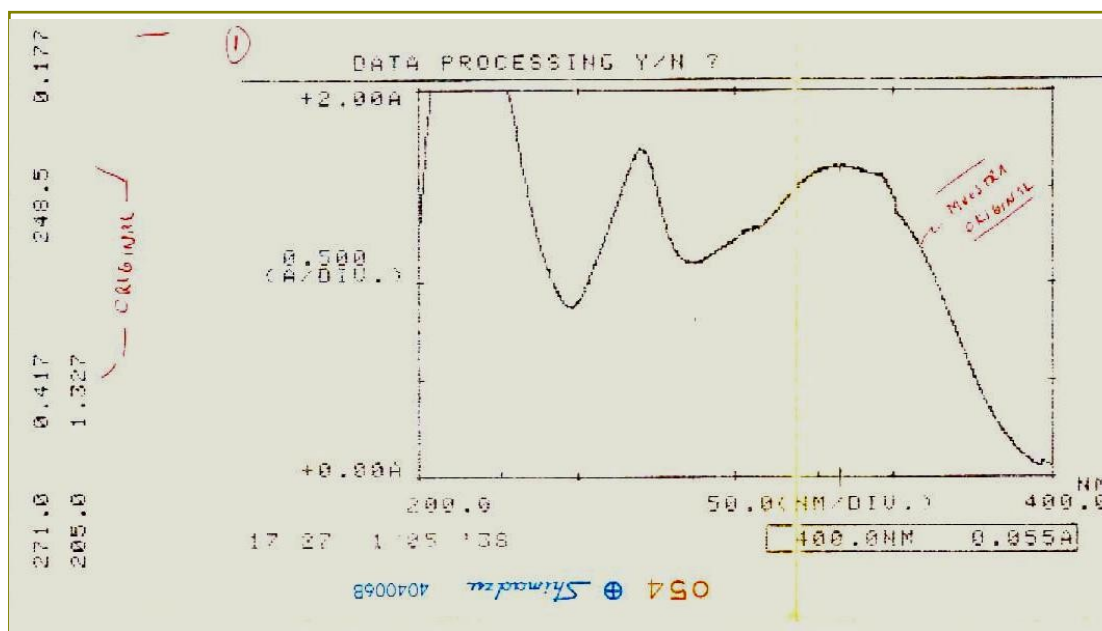


Figura 20. Espectro UV de B-95 en MeOH

- Hay desplazamiento batocrómico de la dos bandas al agregar MeONa a la muestra (figura 21). Como el desplazamiento fue de 62 nm en la banda I (pico de la banda en MeOH + NaOMe = 399 nm), se considera la presencia de un grupo hidroxilo en el C-4' (ver figura 26) (la ionización que produce el MeONa afecta principalmente la banda I, mientras que la ionización con AcONa afecta principalmente la banda II) (Harborn, J. y col. 1975)

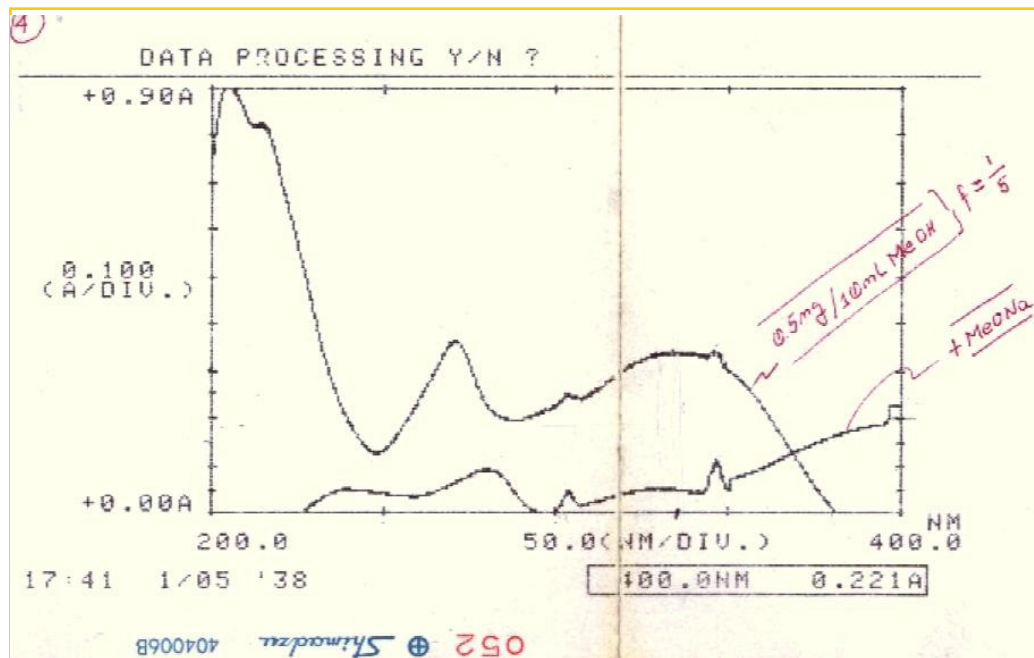


Figura 21. Espectro UV. De B-95 en MeOH + NaOMe

- El espectro de MeOH + AcONa (figura 22), presenta efecto batocrómico muy pequeño de la banda II (1.5 nm. Pico en 272.5 nm), lo que indica la presencia de grupos hidroxilos en C-6 y C-8 en flavonas (ver figura 26); Si se tratara de un grupo hidroxilo presente en C-7, el corrimiento

batocrómico sería un poco mas grande (del orden de 4 nm en adelante)
(Harborn, J. y col. 1975)

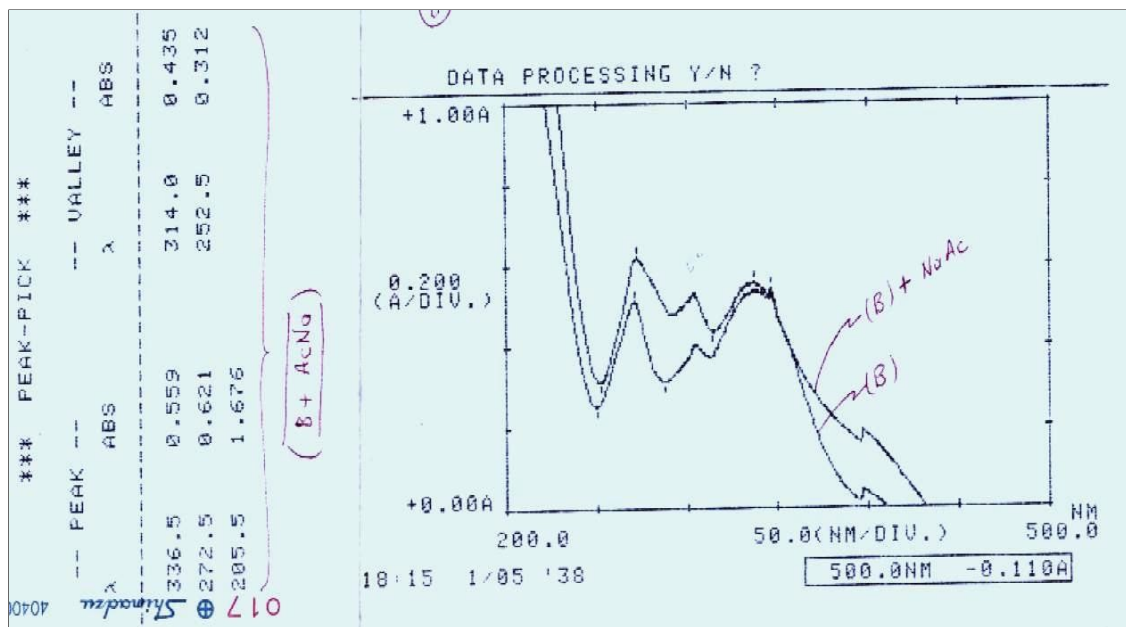


Figura 22. Espectro UV. B-95 en MeOH + NaOAc

- No existen dihidroxilos en B porque al agregar H_3BO_3 no se observa efecto batocrómico de la banda I. Tampoco existen orto hidroxilos en el anillo A en C-6,7 y C-7,8 porque no hay corrimiento batocrómico en presencia de $AcONa / H_3BO_3$. (figura 23)
- Los espectros realizados en $MeOH + AlCl_3$ y en $MeOH + AlCl_3 + HCl$, coinciden, lo que indica que no hay orto hidroxilos en el anillo B (figura 24).
- De acuerdo con los resultados de las pruebas de UV, al menos un fragmento de la estructura es el que se observa en la figura 25.

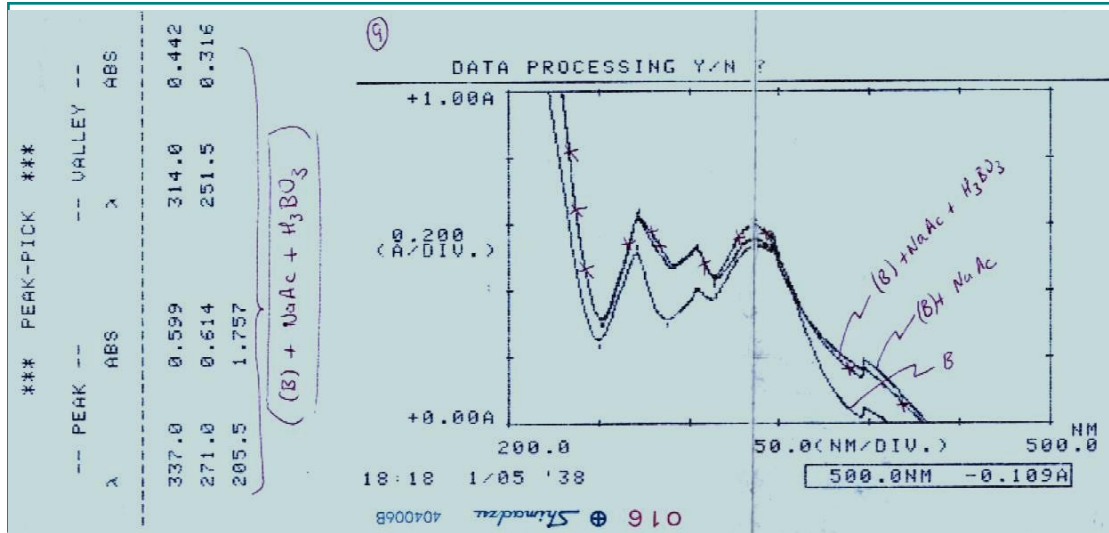


Figura 23. Espectro UV. De B-95 en MeOH + NaOAc + H₃BO₃

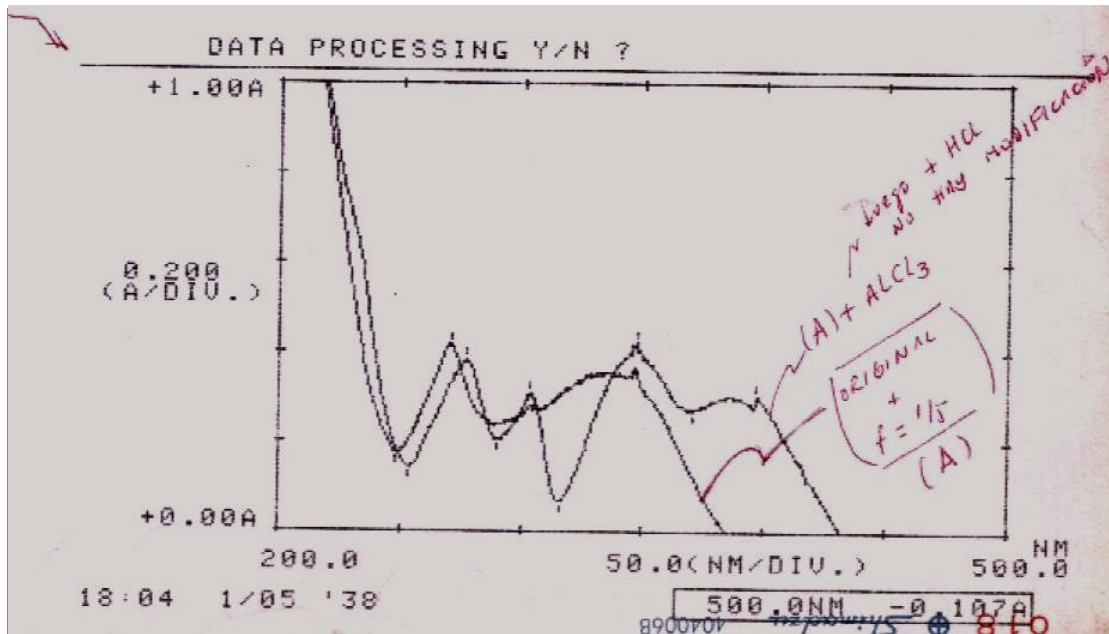


Figura 24. Espectro UV. de B-95 en MeOH + AlCl₃ y MeOH + AlCl₃ + HCl

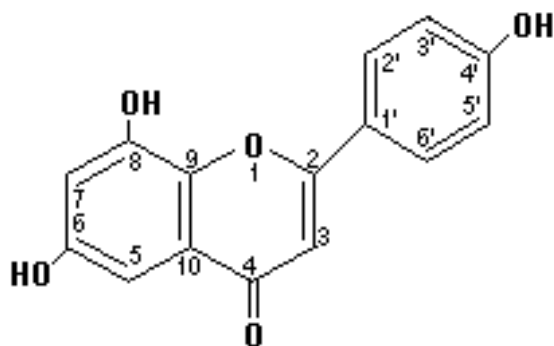


Figura 25. Estructura molecular de B-95 según análisis de espectros UV

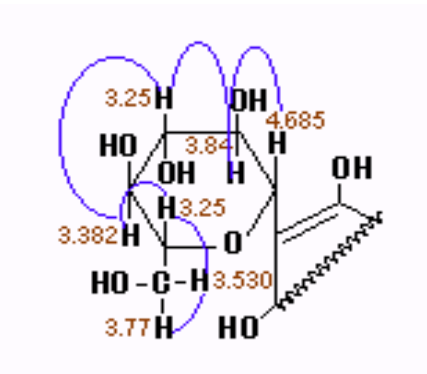
4.3.2. Resultado de los experimentos de RMN ^1H y ^{13}C .

Según el espectro de RMN ^1H , (figura 26), en la región entre 3.25 ppm y 4.685 ppm, se observan señales de protones correspondientes a Carbonos unidos a un Oxígeno. En la región entre 6.26 ppm y 8.04 ppm aparecen señales de Hidrógenos aromáticos y en 13.17ppm, un singlete correspondiente al protón de un fenol.

En el espectro de RMN ^{13}C (figura 27), se observan 19 señales. Al analizar los espectros DEPT 135 (figura 28), DEPT 90 (figura 29) y DEPT 45 (figura 30), se concluye que hay 1 carbono secundario (CH_2), 9 carbonos terciarios (CH), y 9 carbonos cuaternarios.

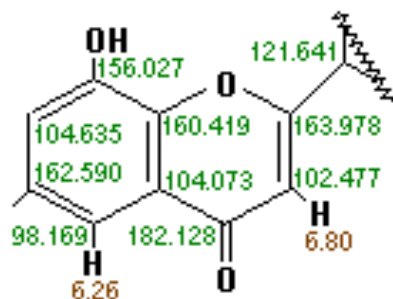
Según datos de los espectros HMQC y HMBC (figuras 31 y 32 y tablas 9 y 10), la señal 4.685 ppm (1H, d, $J = 10$ Hz, H-1'') perteneciente a 73.409 ppm. (1J ; CH), correlaciona con los siguientes carbonos: 70.865 ppm (2J ; CH; C-2''), 78.688 ppm (3J ; CH; C-3''), 81.871 ppm (3J ; CH; C-5''), 104.635 ppm (2J ; C; C-7) y con 156.027 ppm (3J ; C; C-8). El protón 3.84 ppm (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-2'') perteneciente a 70.865 ppm, correlaciona con 104.635 ppm (3J) y

con 73.409 (2J); según COSY (figura 33), este correlaciona con 4.685 ppm. y la señal de 3.25 ppm (2H, m, H-3'' y H-5''), perteneciente a 81.871 ppm y a 78.688 ppm, correlaciona con los protones 3.84 ppm y 3.382 ppm (1H, m, H-4'').

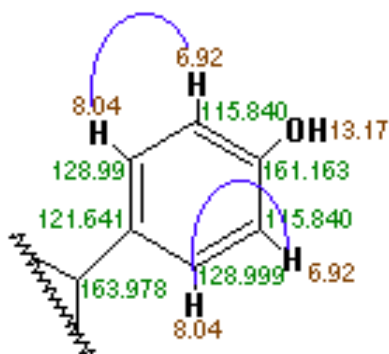


Según el análisis de los datos arrojados por los espectros UV y las pruebas preliminares, se toma como base el hecho de que el compuesto corresponde a una flavona. En 182.128 ppm, aparece una señal típica de cetona, correspondiente a C-4; esta relaciona con el protón 6.80 ppm (s) perteneciente a C-3, en 102.471 ppm. (2J ; CH), y este a su vez correlaciona: con 163.97 ppm (2JC ; C-2), con 104.073 ppm. (3JC ; C-10) y con 121.641 ppm (3JC ; C-1) del anillo B.

C-10, antes mencionado, correlaciona con el protón 6.26 ppm, (1H, s, H-5) perteneciente al carbono terciario 98.169 ppm, del anillo A, y este a su vez, correlaciona con 104.635 ppm (3JC ; C-7) y según HMBC, con 73.409 ppm (4JCH), correspondiente a C-1 de la glucosa.



Por otra parte, aparecen según HMBC (figura 34), 2 señales residuales que relacionan a una unión y a la vez a larga distancia; estas corresponden a 6.92 ppm (2H, d, $J = 8.8$ Hz) y 8.04 ppm (2H, d, $J = 8.8$ Hz) y pertenecen a 115 ppm (C-3) y (C-5) y a 128.99 ppm. (C-2) y (C-6), respectivamente del anillo simétrico B.

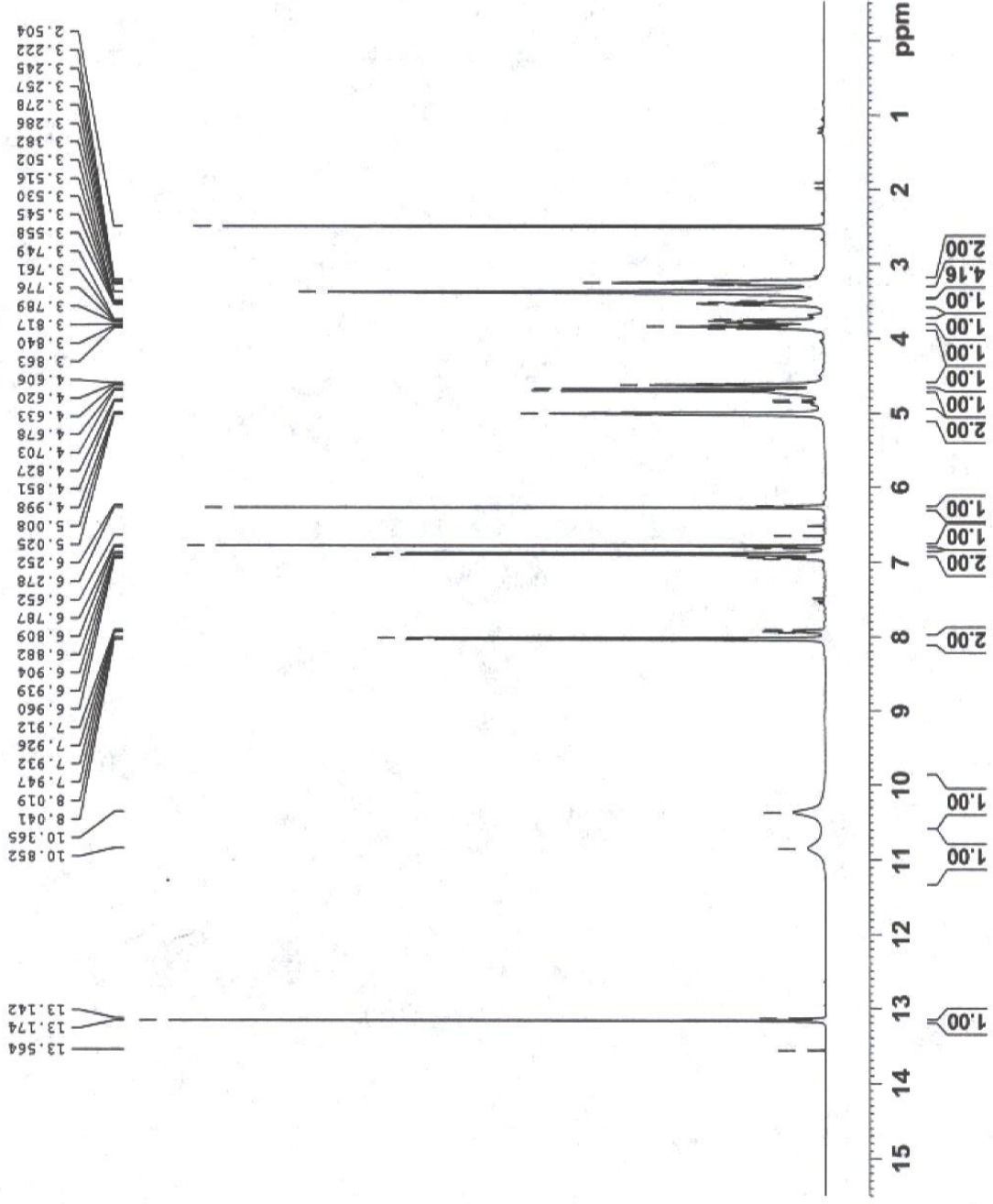


Se evidencia que el fragmento de azúcar está unido al anillo aromático por C-7, por que el protón de 4.685 ppm correlaciona en el espectro HMBC con los carbonos de 104,635 ppm y 156.027 ppm. Es claro que no hay oxígeno de por medio, porque solo se observaría una correlación entre el protón y un carbono del anillo aromático, pero estaría cercano a 150 ppm.

El fragmento de azúcar no se observa en U.V. por que en esa parte de la estructura no hay posibilidad de que ocurran transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ o $\sigma \rightarrow \pi^*$ (típicas de estructuras con dobles enlaces, carbonilos, heteroátomos, etc).

Según el análisis de los datos de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C , la estructura propuesta para el compuesto B-95 es la 2-(4-hidroxifenil)-7-(1-hidroglucopiranosil)-6,8-dihidroxiavona, figura 35.

B-95, 1H, DMSO-d6, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```

Current Data Parameters
NAME      B-95
EXPNO     1
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20040522
Time      12.44
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG   zg30
TD         65536
SOLVENT   DMSO
NS         16
DS         2
SWH        6410.256 Hz
FIDRES     0.097813 Hz
AQ         5.1118579 sec
RG         161.3
DW         78.000 usec
DE         6.00 usec
TE         295.9 K
D1         1.00000000 sec

----- CHANNEL f1 -----
NUC1      1H
P1        11.25 usec
PL1       0.00 dB
SFO1      400.1330010 MHz

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         400.1300031 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.00
    
```

Figura 26. RMN ¹H – Sustancia B-95

B-95, 13C, DMSO-d6, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```

Current Data Parameters
NAME      B-95
EXPNO     2
PROCNO    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_     20040522
Time      20.42
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG   zgpg30
TD         65536
SOLVENT   DMSO
NS         8192
DS         4
SWH        24154.590 Hz
FIDRES     0.368570 Hz
AQ         1.3566452 sec
RG         9195.2
DW         20.700 usec
DE         6.00 usec
TE         297.3 K
D1         2.0000000 sec
d11        0.0300000 sec
d12        0.0000200 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1       13C
P1         9.00 usec
PL1        3.00 dB
SFO1       100.6233364 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2    waltz16
NUC2       1H
PCPD2      80.00 usec
PL2        0.00 dB
PL12       17.00 dB
PL13       17.00 dB
SFO2       400.1316005 MHz

F2 - Processing parameters
SI         32768
SF         100.6126131 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         1.00 Hz
GB         0
PC         1.40
  
```

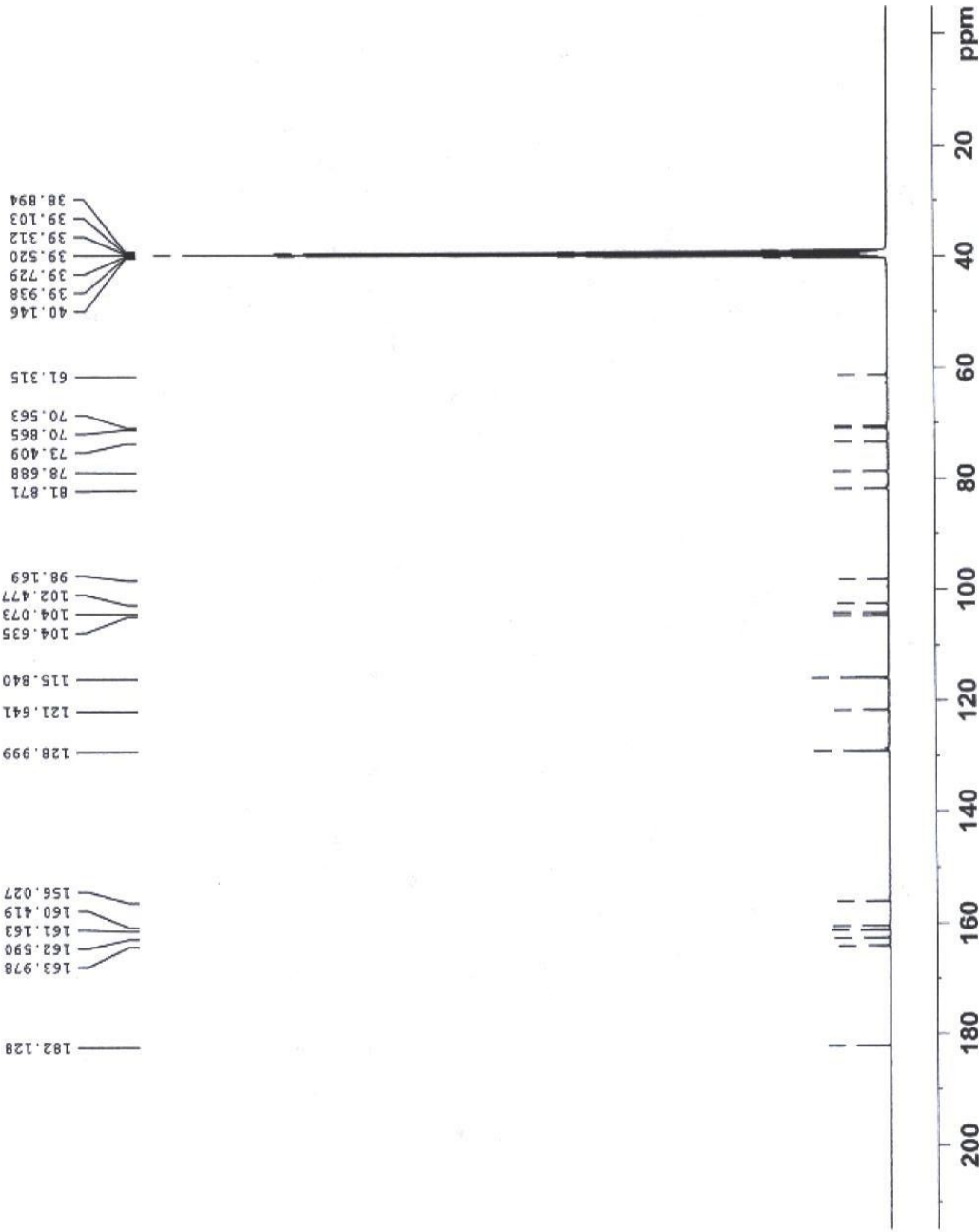


Figura 27. RMN ¹³C – Sustancia B-95

B-95, DEPT135, DMSO-d6, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.

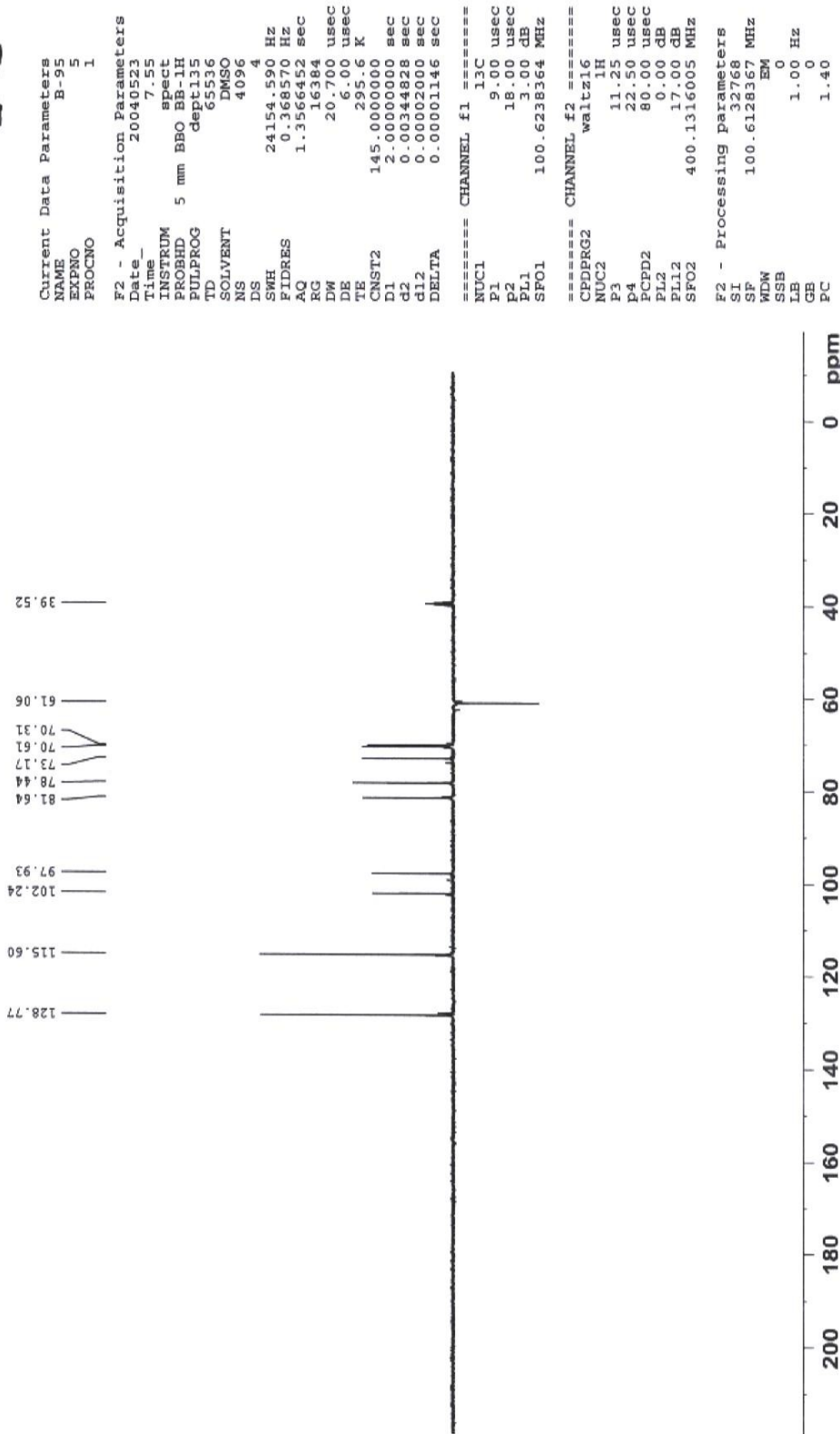


Figura 28. DEPT 135 - Sustancia B-95

B-95, DEPT90, DMSO-d6, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```

Current Data Parameters
NAME      B-95
EXPNO    4
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20040523
Time     4.04
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm BBO BB-LH
PULPROG  dept90
TD        65536
SOLVENT  DMSO
NS        4096
DS        4
SWH       24154.590 Hz
FIDRES    0.368220 Hz
AQ        1.356642 sec
RG         6384
SFO1      20.700 usec
DM         5.00 usec
TE        295.7 K
CNST1     145.0000000
D1        2.0000000 sec
d2        0.00344828 sec
d12       0.0002000 sec
DELTA     0.00001145 sec

----- CHANNEL f1 -----
NUC1      13C
P1        9.00 usec
P2        18.00 usec
PL1       3.00 dB
SFO1      100.6238364 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2   waltz16
NUC2      13C
P3        11.25 usec
P4        22.50 usec
PCPD2     80.00 usec
PL2       0.00 dB
PL12      17.00 dB
SFO2      400.1316005 MHz

F2 - Processing parameters
SI        32768
SF        100.6128367 MHz
WDW       EM
SSB       0
LB        1.00 Hz
GB        0
PC        1.40
    
```

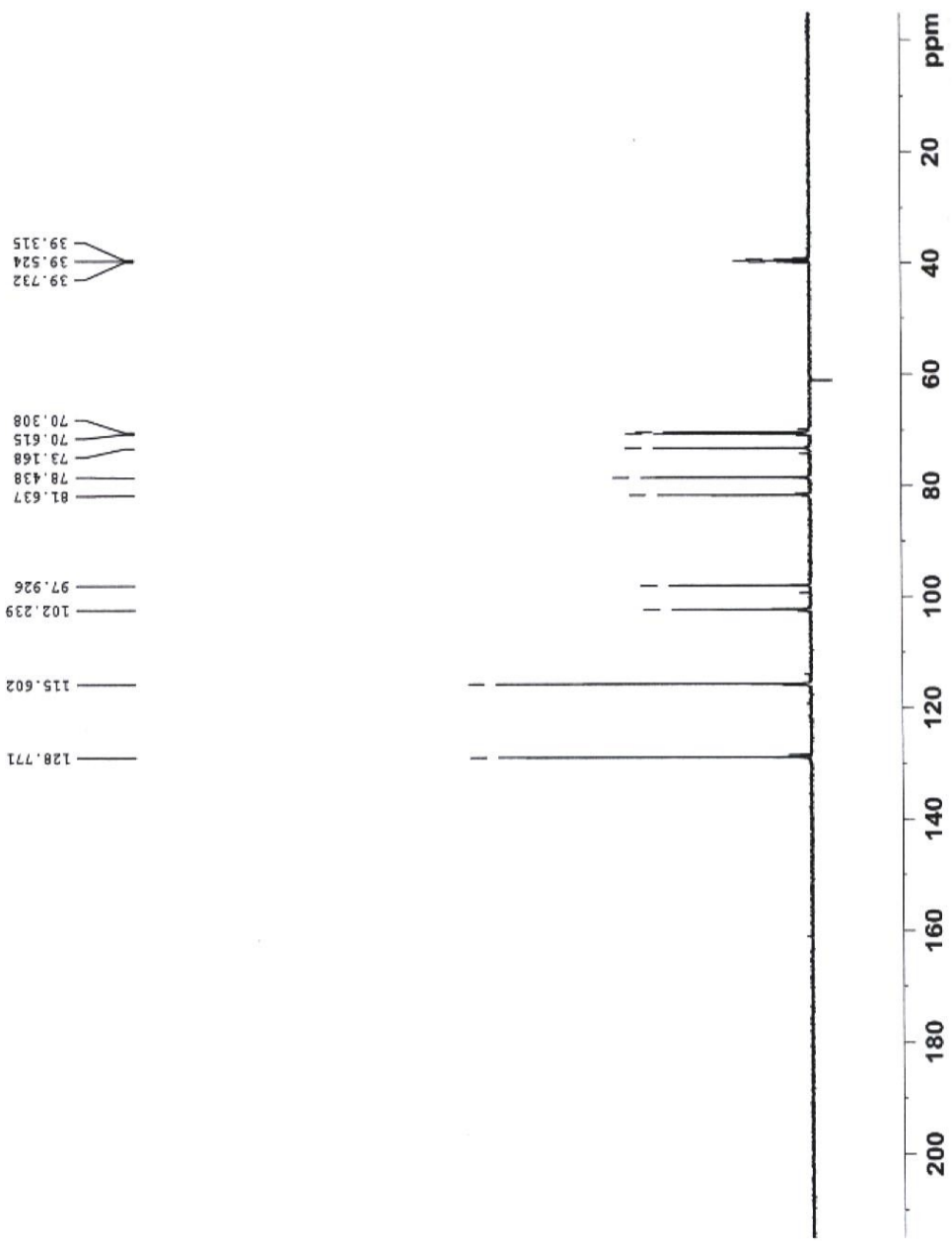


Figura 29. DEPT 90 - Sustancia B-95

B-95, DEPT45, DMSO-d6, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.

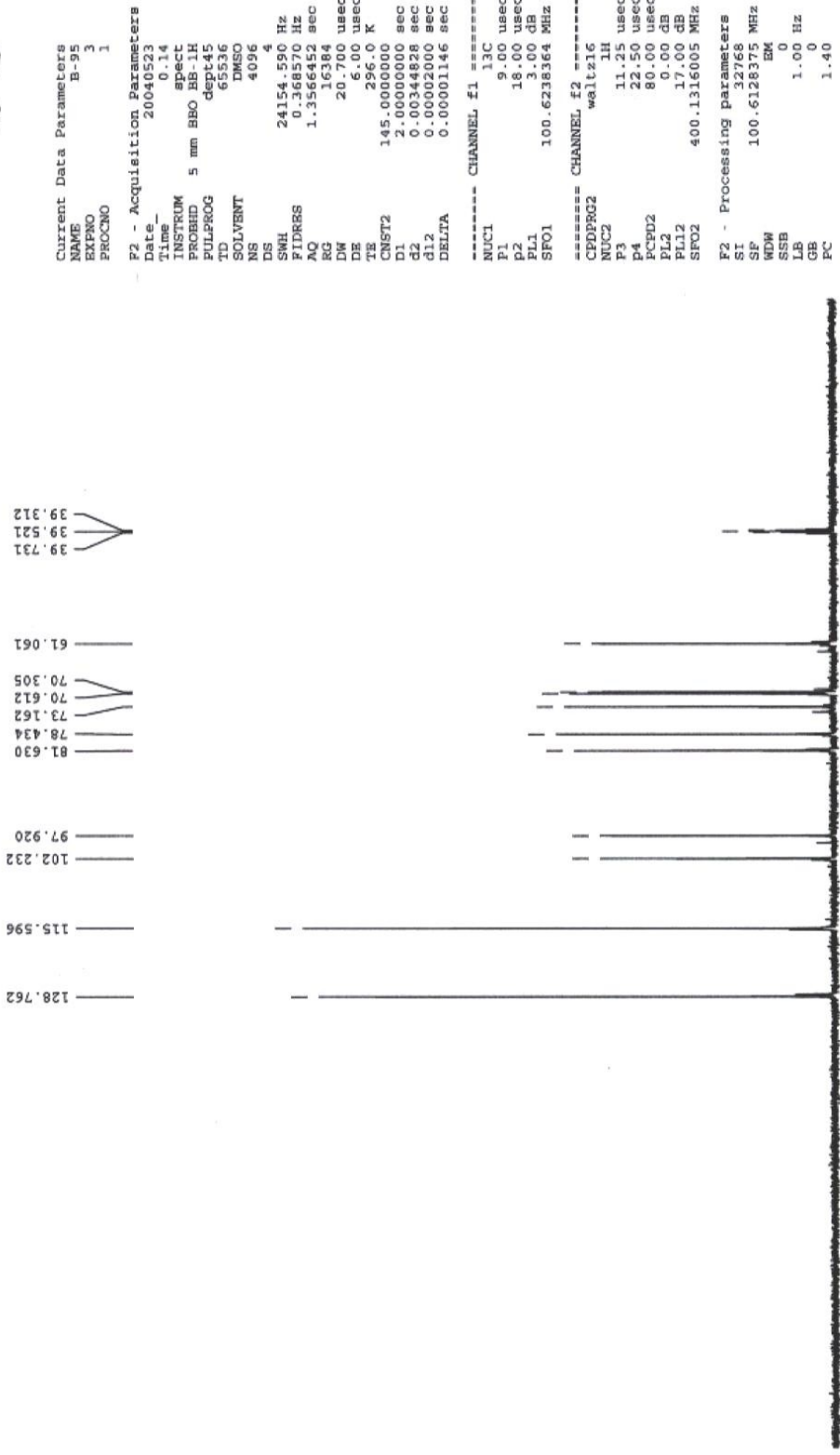


Figura 30. DEPT 45 - Sustancia B-95

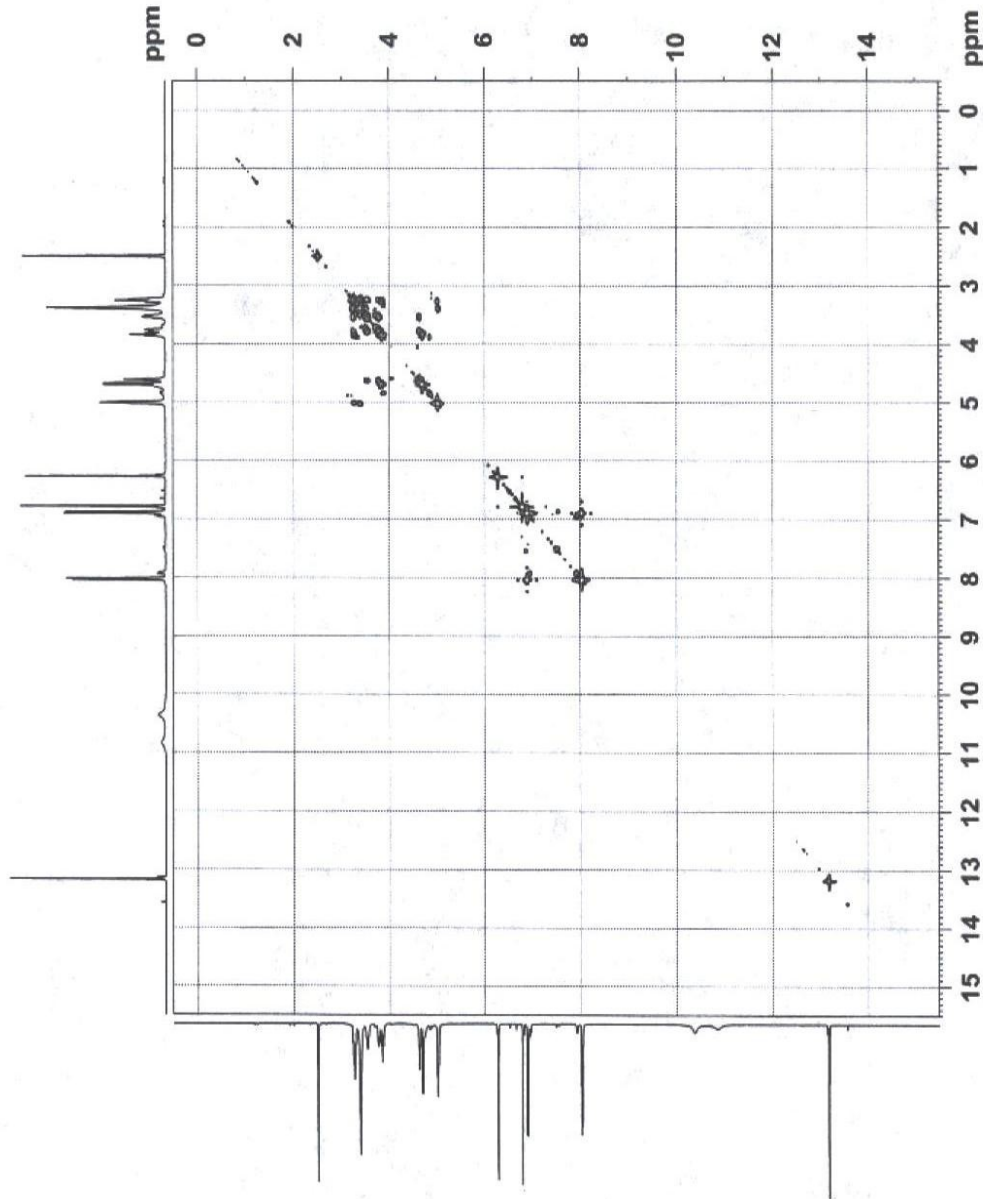
Tabla 10. Datos de RMN ¹H de B-95 obtenidos del espectro unidimensional y sus correlaciones con la RMN ¹³C obtenidas de espectros bidimensionales.

No H	δH ppm	Multiplicidad	Número H	COSY H – H	Correlación ¹ JH – C HMQC	Correlación ³ JH – C HMBC
3'', 5''	3.25	Multiplete	2		81.871; 78.688	70.563; 70.865
4''	3.382	Multiplete	4	3.25	70.563	78.688
Metilén a	3.530	Multiplete	1	3.25	61.13	N.P
Metilén b	3.77	Doble doblete	1	3.53	61.13	N.P
2''	3.84	Triplete	1	3.25	70.865	73.409; 104.635
1''	4.685	Doblete	1	3.84	73.409	70.56; 70.865; 78.688; 81.87; 104.63; 156.027
OH de 4'' y metilén	5.00	Multiplete	2	3.25; 3.382	N.P	81.871
5	6.26	Singlete	1		98.169	73.409; 104.07; 104.635 160.419; 162.59; 161.163
3	6.80	Singlete	1		102.477	104.073; 121.641; 163.978 182.128; 115.840
3', 5'	6.92	Doblete	2		115.840	121.641; 161.163
2', 6'	8.04	Doblete	2	6.92	128.99	115.840; 161.136; 163.978
OH de 4'	13.17	Singlete	1		N.P	161.163

Tabla 11. Datos de RMN ¹³C de B-95 y sus correlaciones con la RMN ¹H obtenidas de espectros bidimensionales

No. C	δC ppm	Tipo de C	Correlación ¹ JC – H HMQC	Correlación ³ JC – H HMBC
Metileno	61.315	CH ₂	3.77; 3.530	N.P
4''	70.563	CH	3.382	3.25; 4.685
2''	70.865	CH	3.84	3.25; 4.685
1''	73.409	CH	4.685	3.84; 6.26
3''	78.688	CH	3.25	4.685; 3.804; 3.382
5''	81.871	CH	3.25	4.681; 5.00
5	98.169	CH	6.26	N.P
3	102.477	CH	6.80	N.P
10	104.073	C	N.P	6.80; 6.26
7	104.635	C	N.P	6.26; 4.685; 3.84
3', 5'	115.840	CH	6.92	8.04
1'	121.641	C	N.P	6.92; 6.80
2', 6'	128.999	CH	8.04	8.04?
8	156.027	C	N.P	4.685
9	160.419	C	N.P	6.26
4'	161.163	C	N.P	8.04; 6.92; 6.26; 13.17
6	162.590	C	N.P	6.26; 4.685
2	163.978	C	N.P	8.04; 6.80
4	182.128	C	N.P	6.80

B-95, COSY, DMSO-d6, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.



```

Current Data Parameters
NAME      B-95
EXPNO    6
PROCNO   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_    20040523
Time     7:55
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm BBO
PULPROG  zgpg30
COMPROG  compsf
TD       2048
SOLVENT  DMSO
NS       4
DS       4
SWH      6410.256 Hz
FIDRES   3.130008 Hz
AQ       0.1597940 sec
RG       2000
RW       7.000 usec
DE       6.00 usec
TE       295.5 K
D0       0.0000000 sec
DELTA    0.0000000 sec
G1       0.0000000 sec
G11      0.0000000 sec
D16      0.0000000 sec
INDO     0.00015620 sec
MCRET    0.00000000 sec
PCPRK    1.4685195 sec

***** CHANNEL f1 *****
NUC1      1H
P1        11.25 usec
F1        11.25 usec
P11       0.00 dB
SFO1     400.1330010 MHz

***** GRADIENT CHANNEL *****
GPRAMA1  SINE.100
GPRAMA2  SINE.100
GPR1     0.00 %
GPR2     0.00 %
GPR3     0.00 %
GPR4     0.00 %
GPR5     0.00 %
GPR6     0.00 %
GPR7     10.00 %
GPR8     10.00 %
P16      1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
MDO      1
TD        400.1024
SFO1     400.1330010 MHz
FIDRES   6.252001 Hz
SW       16.000 ppm
FWDKDE   OF

F2 - Processing parameters
SI       1024
SF       400.1300029 MHz
WDW      SINE
SSB      0
LB       0.00 Hz
GB       0
FC       1.40

F1 - Processing parameters
SI       1024
OF
MC2
SF       400.1300042 MHz
WDW      SINE
SSB      0
LB       0.00 Hz
GB       0
  
```

Figura 33. COSY ¹H - ¹H. Sustancia B-95

B-95, HMBC, DMSO-d6, Laboratorio de RMN, Universidad Nacional de Colombia.

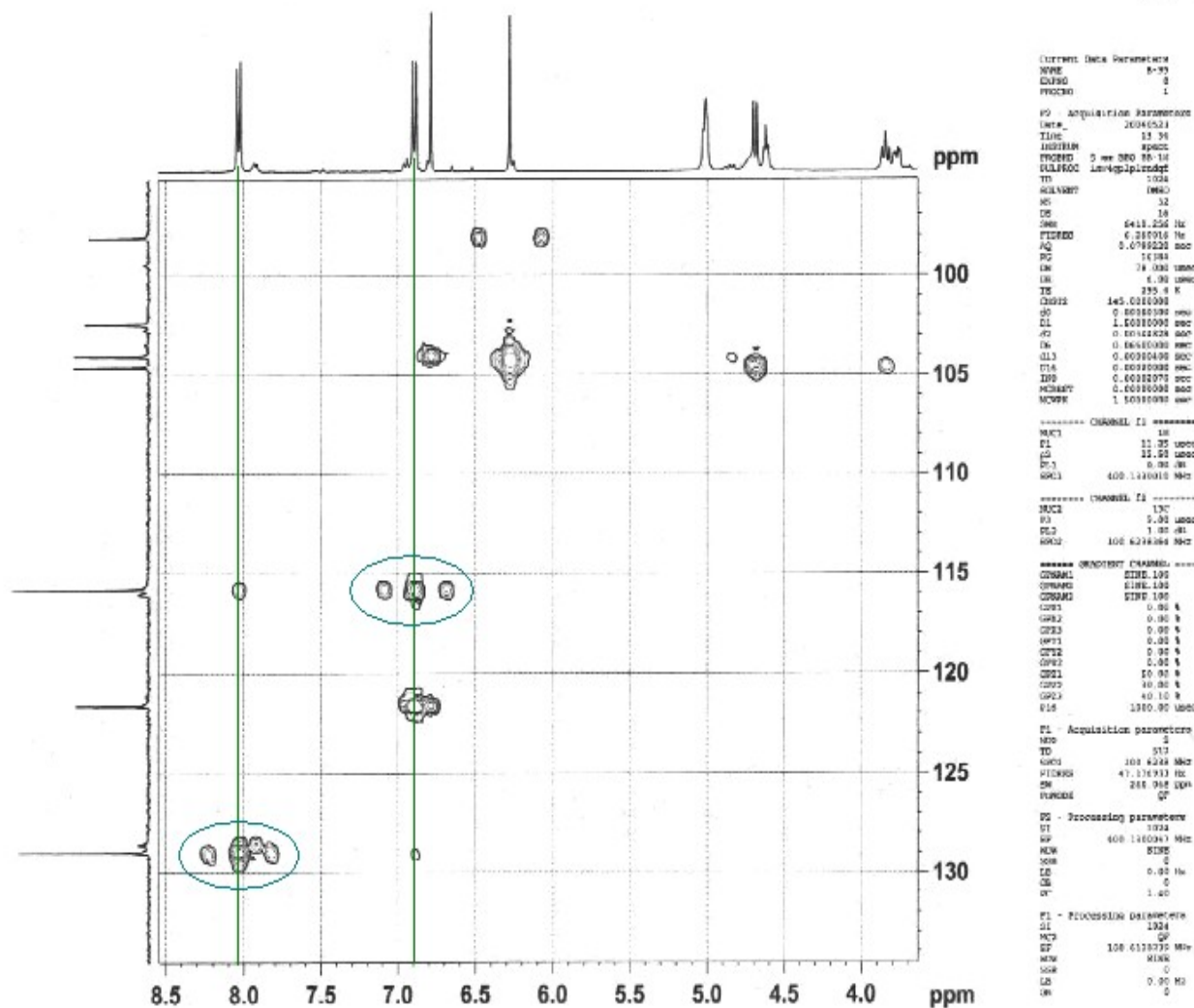


Figura 34. HMBC de B-95. Señales residuales en δ 6.92 y δ 8.04

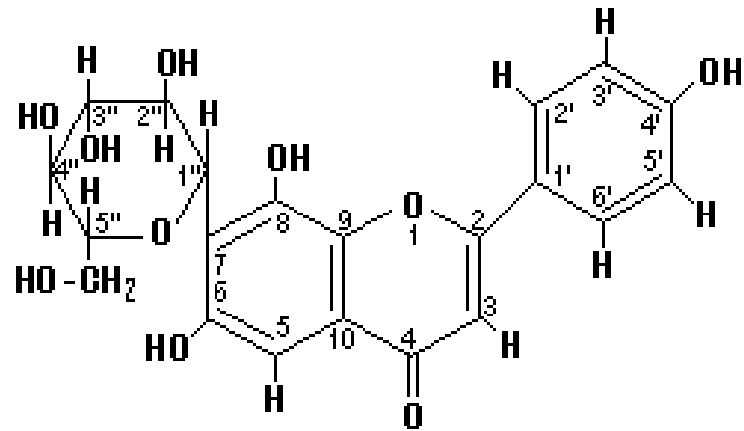


Figura 35. 2-(4-hidroxifenil)-7-(1-hidroglucopiranosil)-6,8-dihidroxiflavona

4.4. Compuesto B X:

Este compuesto forma parte de un sólido de color blanco que lo constituye una mezcla de sustancias, según se muestra en el cromatograma (figura 36) por análisis CG-EM. Se analizó entonces por EM el compuesto correspondiente a un tiempo de retención de 25.267 min. Su espectro (figura 37) indica que tiene un peso molecular de 468 uma, correspondiente a la fórmula $C_{32}H_{52}O_2$, con 7 insaturaciones

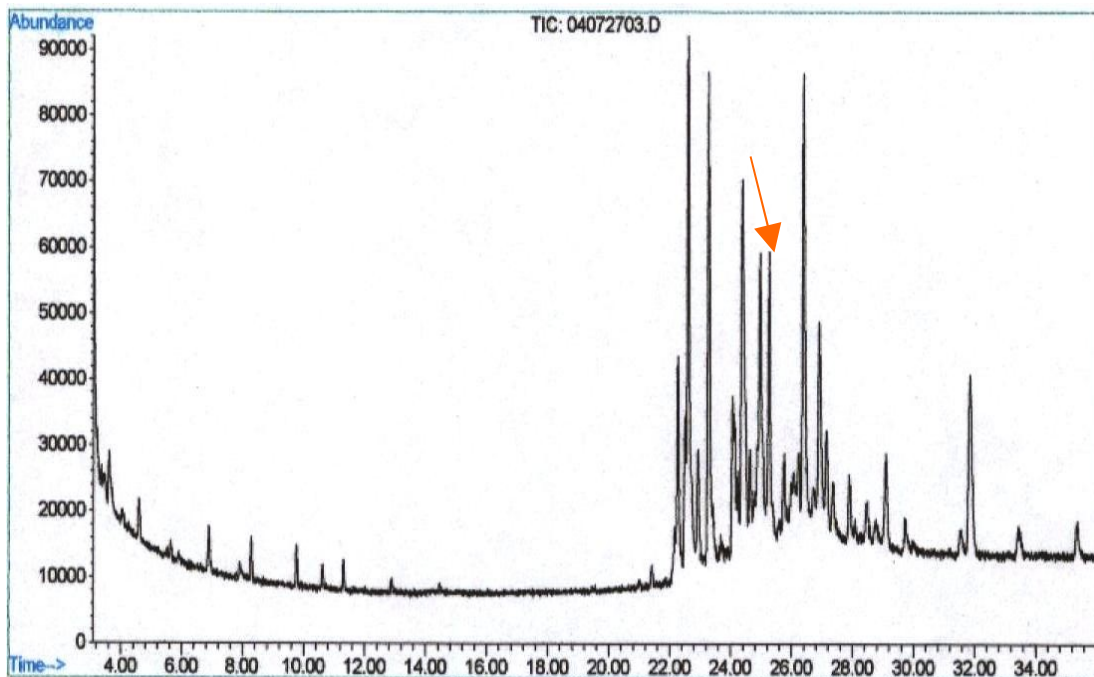


Figura 36. **Cromatograma de la sustancia B X**

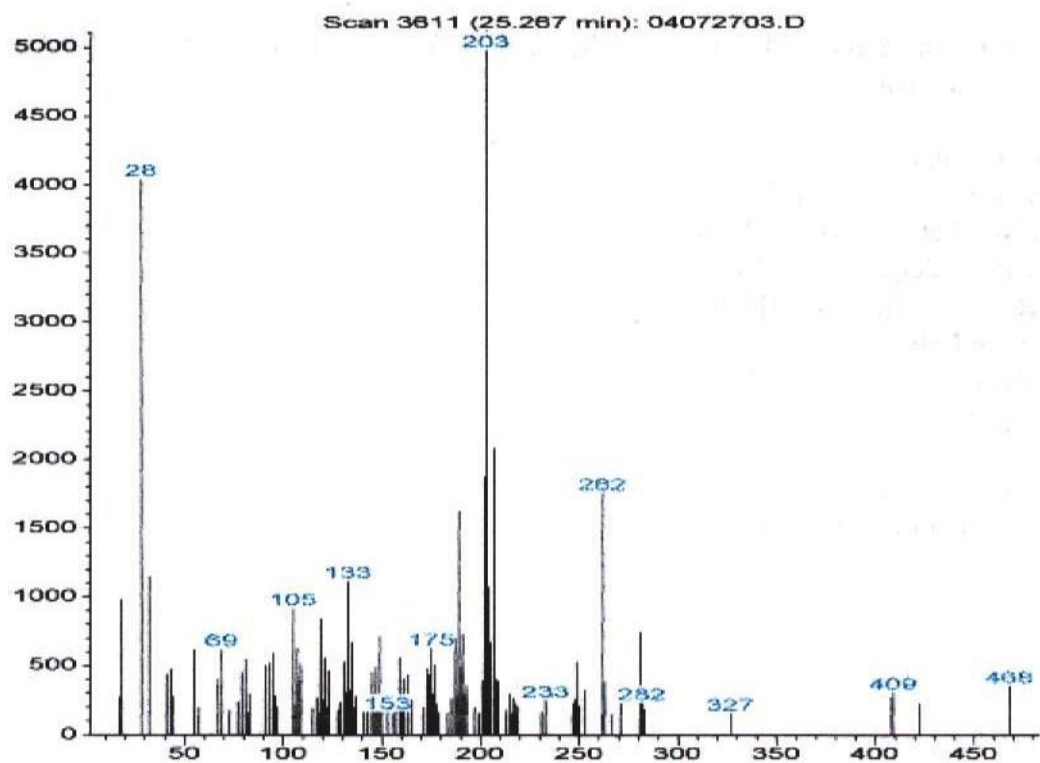


Figura 37. **Espectro masas del compuesto con tiempo de retención 25.267**

El compuesto exhibe iones a m/z 409 ($M^+ - C_2H_3O_2$), por ruptura heterolítica de enlace entre C-28 y un alcóxicarbonilo, y a m/z 203, pico base típico de terpenos (Bieman, K. 1962); este último se obtiene luego de la pérdida $M^+ - C_3H_5O_2$ de C-17 y posteriormente la aplicación de la regla de retrorreacción de Diels-Alder (RDA) al esqueleto triterpénico, en el doble enlace de C-12. Se observan también los iones m/z 262 que se obtiene por pérdida de 30 una del grupo alcóxicarbonilo y la transferencia de un hidrógeno, luego de la fragmentación por RDA del esqueleto terpénico; m/z 175 que se explica a partir de 203, el desplazamiento electrónico y la fragmentación por RDA. Los iones m/z 133, a partir de 175 por desplazamiento electrónico, ruptura heterolítica y transferencia de hidrógeno; m/z 69, por fragmentación del anillo A. Las fragmentaciones respectivas corresponde a la figura 39.

En comparación con los datos arrojados por el espectrómetro, el análisis del espectro, los mecanismos de reacción empleados para la obtención de los iones, el compuesto propuesto corresponde al Olean-12-en-28-ilmetanoato de metilo (figura 38).

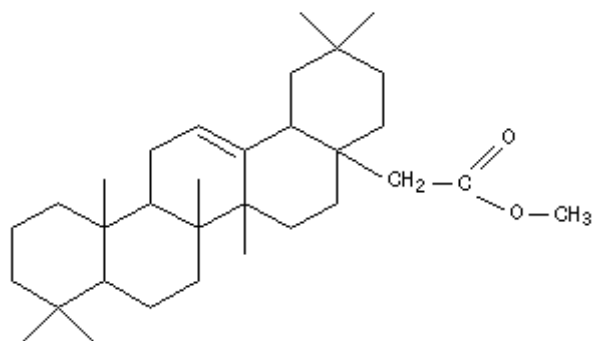
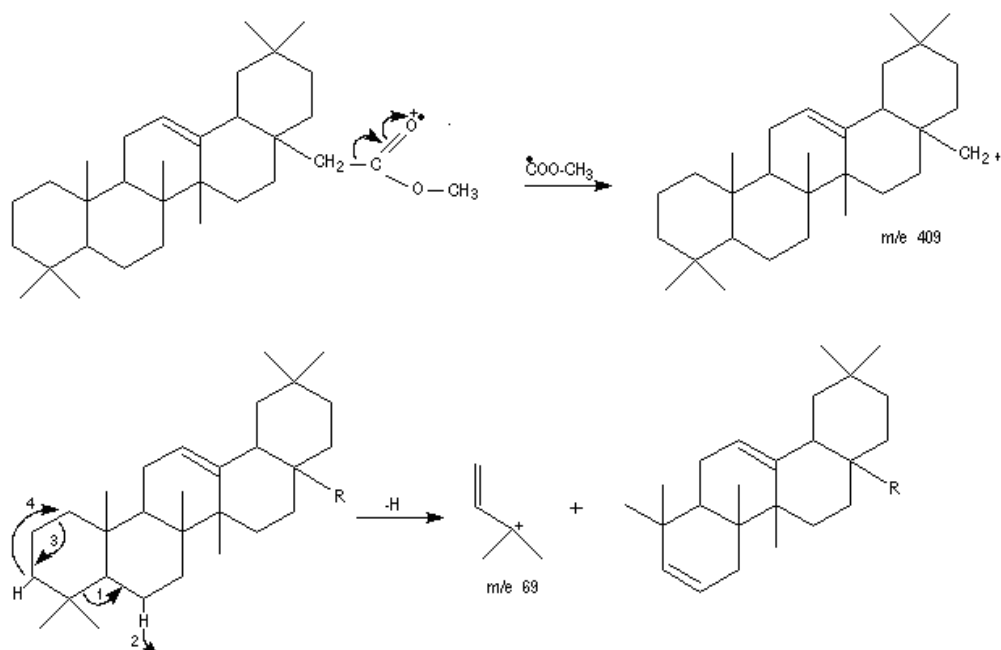


Figura 38. Olean-12-en-28-ilmetanoato de metilo (tr = 25.267)



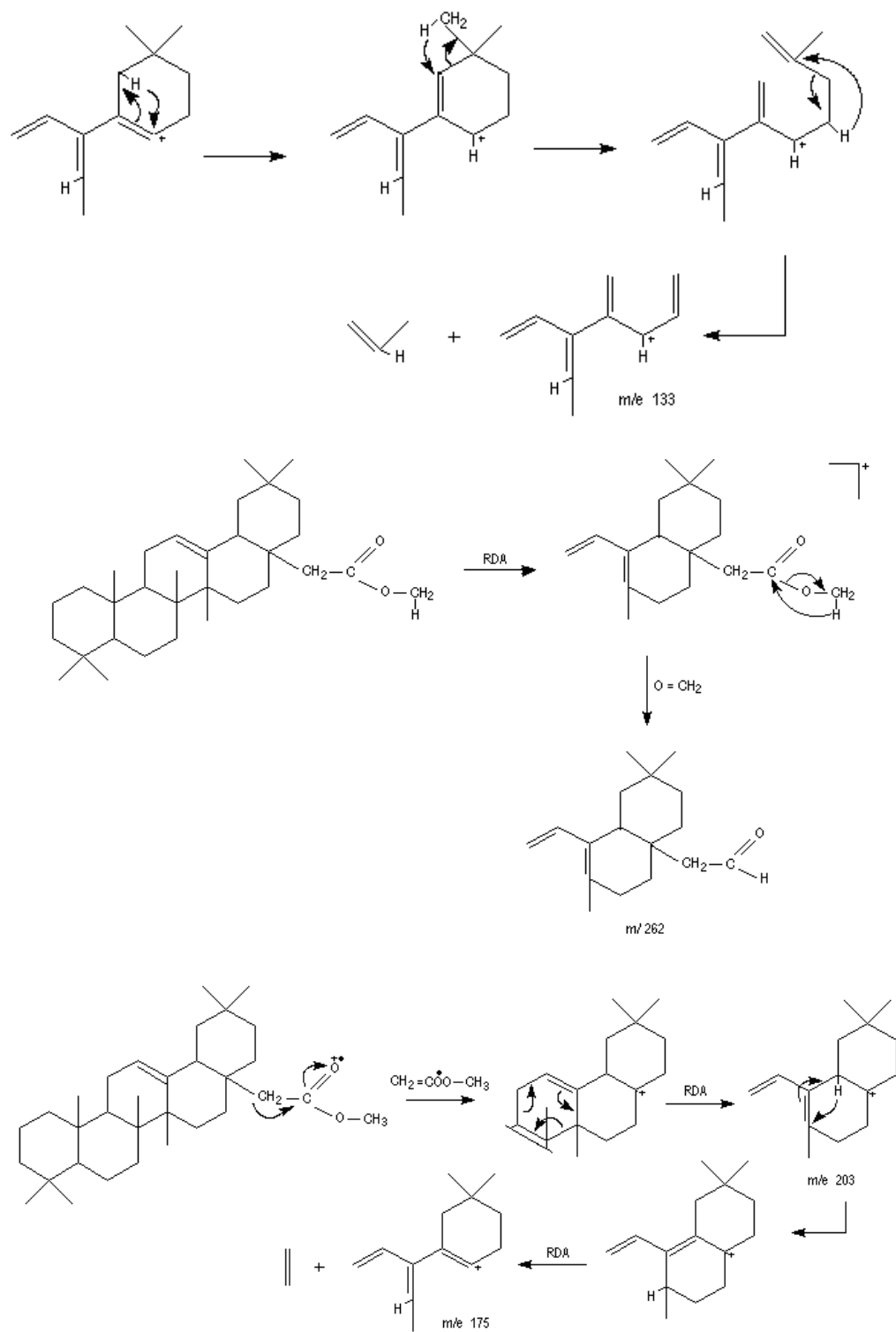


Figura 39. Fragmentación compuesto $tr = 25.267$ min

Para los demás compuestos que forman parte del sólido no se identificaron los respectivos fragmentos, sin embargo vale la pena mencionar algunos fragmentos que exhiben los espectros de masas: los compuestos correspondientes a los picos con tiempos de retención 22.602 min y 23.259 min exhiben el pico base en m/z 218, que corresponde a triterpenos insaturados de tipo Δ^{12} - Oleananos y Δ^{12} - Ursanos (Budzikiewics, H. and Djerassi, C. 1964). Los compuestos correspondientes a los picos con tiempos de retención 26.398 min, 26.901 min y 31.858, exhiben el pico base en m/z 28 y otro pico en m/z 207 de intensidad un poco menor que el anterior; este último correspondiente a triterpenos saturados de tipo Oleanano, Ursano y Lupano (Budzikiewics, H. and Djerassi, C. 1964). El compuesto correspondiente al pico con tiempo de retención 22.258 min además de exhibir un pico en m/z 218, exhibe el pico base en m/z 28. Los compuestos correspondientes a picos con tiempos de retención en 24.395 min y 24.960 min exhiben el pico base en m/z 202.

5. CONCLUSIONES

- De la corteza de *Bursera graveolens* se aislaron e identificaron tres sustancias de naturaleza terpénica: Ácido 3-(metilcetoxi)-12-oleanen-28-oico (compuesto B-61), β -Sitosterol (compuesto LMCB1), Olean-12-en-28-ilmetanoato de metilo (compuesto B X); mientras que de las hojas de esta misma planta se aisló un compuesto perteneciente a los flavonoides: la 2-(4-hidroxifenil)-7-(1-hidroglucopiranosil)-6,8-dihidroxi-flavona (compuesto B-95).
- De los compuestos identificados el que se encuentra en mayor proporción es el B-95 (380 mg; 3.2%), en relación con los demás compuestos; Compuesto B-61 (75 mg; 0.72%), compuesto LMCB1 (17 mg; 0.16%), sólido del cual forma parte el compuesto BX (4.0 mg; 0.08%).
- El compuesto B-95, no reportado en la literatura, es de gran importancia no solo por encontrarse por primera vez en la especie, si no porque el anillo del azúcar se une a la flavona por C-7 en forma directa C-C, sin la presencia de oxígeno, que es lo común en los flavonoides glicosidados.

6. BIBLIOGRAFIA

Al – Reahaily, A., Ahmad, M., Mossa, J., Muhammad, I., 2002. New Axane and oppositane sesquiterpenes from *Teclea nobilis*. *Journal of natural products*. 65: 1374 – 1376.

Arciniegas, M. 2003. Contribución al estudio químico del extracto heptánico de las hojas de *Yucca guatemalensis* – Baker (Agavaceae). *Tesis pregrado*. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de química. Bogotá, Colombia. 102 p.

Barriga, H. 1992. Flora Medicinal Colombiana. Tomo II. Tercer Mundo Editores. Colombia. Pg 49

Barreira, E. Quiroz, f. and Braz-filho, R. 1996. A new furanosesquiterpene from *Bursera leptophloeos* Marth. *Natural product letters*. Volume (8): pp. 285-289

Bieman, K. 1962. Mass Spectrometry Organic Chemical Applications. McGraw – Hill Book Company, INC. New York. United Stated of America. pp. 334 – 348.

Bilbao, M. 1997. Análisis Fitoquímico Preliminar. Oficina de Publicaciones Universidad del Quindío. Armenia, Colombia. P.

Bustos, I. y Camargo, M. 1996. Extracción y Caracterización Físicoquímica del Aceite esencial de *Pelargonium graveolens*. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de Farmacia, Bogotá, Colombia. 123 p.

Budzikiewics, H and Djerassi, C. 1964. Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry. Holden – day. Sao Francisco. pp 121 – 139.

Calderón, E. 1963. Guía para análisis de plantas y notas prácticas sobre fitoquímica. Bogotá, Colombia. 34-35, 45.

Calderon, J. 1973. Espectrometría de Masas. Editorial Alhambra. Madrid-1. 328 p.

Chamberlain, N. 1974. The practice of NMR Spectroscopy with Spectra-Structure correlations for Hidrogen-1. Plenum Press. New York and London. pp. 337 – 399.

Chegwin, C. 2004. Estudio químico preliminar de los metabolitos secundarios mayoritarios de tipo esterólico presentes en el extracto en acetato de etilo del hongo macromiceto *Pleurotas sajor – cajú* e inicio en la búsqueda de estatinas en el mismo. Tesis pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de química. Bogotá, Colombia. 77 p.

Correa, J. y Bernal, H. 1990. Especies Vegetales Promisorias de los países del Convenio Andrés Bello. Tomo III. Editorial Guadalupe. Bogotá, Colombia. pg 58-63.

Crews, P., Rodríguez, J. and Jaspars, M. 1998. Organic Structure Analysis. Oxford University Press. New York, United States of America. pg 252 – 314.

De Mena-guerrero, G. 1994. Obtención y Aprovechamiento de los Extractos vegetales de la Flora Salvadoreña. Editorial Universitaria. El Salvador, San Salvador. Pg 114 –117.

Domínguez, X. 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Editorial Limusa. México, México. Pg 45 – 157

Fleming, I., Williams, D. 1968. Métodos Espectroscópicos en Química Orgánica. Ediciones Urmo. Bilbao, España. pg. 83 – 174.

Fox, R. and Powell, W. 2001. Nomenclature of Organic Compounds. Principles and practice. American Chemical Society. pp. 141 – 152 y 329 – 402.

Gottlieb, O. and Braz, R. 1976. Introducción a la Espectrometría de Masa de Sustancias Orgánicas. Eva. V. Chesneau. Washington. 113 p.

Gros, E. Pomilio A., Seldes, A., y Burton, G. 1985. Introducción al estudio de los Productos Naturales. Eva V. Chesneau. Washington, D.C., EE.UU. pg. 89 – 134.

Harborn, J., Mabry, T. Mabry, H. 1975. The flavonoids. Academic Press. New York. Pp. 41- 55

Ikan, R. 1991. Natural Products. A Laboratory Guide. Academic Press, Inc. San Diego, California. pp. 1 – 223.

Khalid, S. 1983. Chemistry of the Burseraceae. **In:** Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales. Waterman, P. and Grundon, M. Academic Press. London. pp. 281 – 297.

Martínez, J. 1992. Utilización de espectros de RMN bidimensionales en la deducción estructural de una piranocumarina. Revista Colombiana de Química 21 (1-2): 15 – 28.

McDoniel, P. and Cole, J. 1992. Antitumor activity of *Bursera schlechtendalii* (Burseraceae): Isolation and Structure Determination of Two New Lignans. Journal of Pharmaceutical Sciences. 61: 1992.

McLafferty. 1969. Interpretación de los Espectros de Masas. W. A. Benjamin, INC. New York, 233 p.

Porter, Q., Baldas, J. 1971. Mass Spectrometry of Heterocyclic Compounds. Arnold Weissberger and Edward C. Taylor, Editors. New York, United States of America. pp. 4 – 224.

Puentes, L. 2005. Estudio químico de algunos de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de madera de *Raputia heptaphylla*. Tesis pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de química. Bogotá, Colombia. 98 p.

Robles, J. 1995. Aislamiento de principios activos antimicrobianos presentes en especies de la familia Burseraceae endémicas en la amazonía Colombiana. Universidad Javeriana. Facultad de ciencias. Departamento de química. Bogotá, Colombia. Pg 30.

Robles, J. 1998. Phytochemical investigations of some Traditional Medicinal Plants used by Indigenous Colombian tribes. Tesis de Doctorado. Strathclyde University, Department of Pharmaceutical Sciences. School of Pharmacy. Glasgow. Scotland. UK.

Santafé, G. 2002. Aislamiento y determinación estructural de compuestos marinos bioactivos citotóxicos o antimicrobianos procedentes de los organismos marinos: *Polymastia texax*, *Xenia sp*, *Aulospongos samariensis*, *Dragmaxia undata*, *Melithaea ocracea*, *Placortis angulospiculatus*, *Zoanthus nymphaceus* y *alternaria sp*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de Química. Bogotá, Colombia. 247 p.

Silverstein, R. and Clayton, G. 1991. Spectrometric Identification of Organic Compounds. John Wiley & Sons, INC. New York . United States of America. pp. 3 –287.

Torrenegra, R. 1998. Introducción al Análisis Químico Moderno. Javegraf. Bogotá. Colombia. Pg. 56 – 69, 112 – 116.

Wickramaratne, D., Mar, W., Chai, H., Castillo, J. Farnsworth, N., Soejarto, D., Cordell, G. Pezzuto, J. and Kinghorn, A. 1995. Cytotoxic Constituents of *Bursera permollis*. *Planta med.* 61: 80.

Recursos Electrónicos

Abreu, A., Barbosa, P., Müller, A., Guilhon, G. Constituintes químicos do caule e das cascas do caule de *Croton Pullei* var. *Glabrior* (Euphorbiaceae). **[en línea]**. [Guamá]. Revista virtual de Iniciação Acadêmica de UFPA. Vol 1, No.2 julho 2001. <<http://www.ufpa.br/propesp/Revistaic/atualizacao1/Arquivos/CONSTITUENTES%20QUÍMICOS%20DO%20CAULE%20E%20DAS%20CASCSfinal.pdf>> [consulta: 31 de mayo de 2005].

Ciangherotti, C., Buitrago, D. y Morales, A. Estudio de los componentes químicos de las hojas de las hojas y tallos de *Cestrum buxifolium* Kunth. **[en línea]**. [Mérida]. Revista de la Facultad de Farmacia Vol. 46 (1) 2004. <http://www.saber.ula.ve/db/ssaber/Edocs/pubelectronicas/revistafarmacia/vol46/ciangherotti_carlos.pdf> [Consulta: 28 de mayo de 2005].

David, J., da Silva, E., de Moura, D. Lignanas e triterpenos do extracto citotóxico de *Eriope blanchetii*. **[en línea]**. [Salvador, Bahia]. Quim. Nova, Vol. 24, No. 6, 2001. <<http://www.sbq.org.br/publicacoes/quimicanova/qnol/2001/vol24n6/03.pdf>> [Consulta, 13 de enero de 2005].

FAO. Memoria - Consulta de expertos sobre productos forestales no madereros para América Latina y el Caribe **[en línea]** [santiago, Chile]. Departamento de Montes 4 al 8 de julio de 1994. <<http://www.fao.org/docrep/t2354s/t2354s0w.htm>> [Consulta: Junio de 2003].

Mendes, C. Cruz, F. E David, J. Triterpenos esterificados con ácidos grasos e ácidos triterpênicos isolados de *Byrsonima microphilla*. **[en línea]**. [São Paulo]. Quim. Nova v. 22 No. 2, abril 1999. <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421999000200007&lng=pt&nrm=iso> [Consulta: 01 de junio de 2005].

Mendonça, P., Araújo, A. e da Silva, V. Triterpenos de *Styrax camporum* (styracaceae). **[en línea]**. [Araracuara]. Quim. Nova, Vol. 25, No. 3, 2002. <<http://quimicanova.sbg.org.br/qnol/2002/vol25n3/01>> [Consulta: 26 de febrero de 2005].

Mesoamérica. Estudios rurales y asesoría campesina, A.C. **[en línea]**. [Oaxaca, México]. Servicios Ambientales. Agosto de 2002 <<http://www.mesoamerica.org.mx/sao/pcopal.htm>> [Consulta: 30 de diciembre de 2002].

Nieto, I. Valencia, M. Esteroles, ácidos grasos e hidrocarburos de los cuerpos fructíferos de *Ganoderma Australe*. **[en línea]**. [Concepción]. Voletín de la sociedad Chilena de Química, v. 47, No. 4, dic. De 2002. <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-16442002000400023&lng=es&nrm=iso> [Consulta: 01 de junio de 2005].

Scull, R., Miranda, M., Infante, R. Plantas medicinales de uso tradicional en Pinar del Río. Estudio etnobotánico. I. **[en línea]**. [La Habana, Cuba]. Revista cubana de farmacia. Ene.-abr.1998. <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75151998000100009&script=sci_arttext&lng=es> [consulta: 26 de octubre de 2005]

The Andean Botanical Information System. Flora of the Andes. **[en línea]**
[Chicago, U.S.A]. ABIS. 1997
<http://www.sacha.org/famil/a_to_m/burser.htm>. [Consulta: Junio de 2003].

The New York Botanical Garden. Virtual Herbarium: Vascular Plant Types
Catalog. **[en línea]**. [New York]. The New York Botanical Garden. June 4 –
2003. <<http://www.nybg.org/bsci/hcol/vasc/Burseraceae.html>> [Consulta:
enero 15 de 2004].

Universidad de la República (Uruguay). Compuestos Aromáticos. **[en línea]**.
[Montevideo]. Universidad de la república. 1998
<http://www.bilbo.edu.uy~planta/pdf/FarmacognosiaPE80/>. [Consulta: 10 de
marzo de 2003].

Yukawa, C., Iwabuchi, H., Kamikawa, T. Komemushi, S. Sawabe, A. 2004.
Terpenoids of the volatile oil of *Bursera graveolens*. **[en línea]**. [Osaka,
Japan]. Flavor and fragrance journal. 27 de abril de 2004. Volumen 19. pp.
565-570. <[http://www3.interscience.wiley.com/cgi-
bin/abstract/108561681/ABSTRACT](http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/abstract/108561681/ABSTRACT)>[consulta: 26 octubre de 2005].