

Efecto antiinflamatorio y composición química del aceite de ramas de *Bursera graveolens* Triana & Planch. (palo santo) de Ecuador

Antinflammatory effect and chemical composition of *Bursera graveolens* Triana & Planch. branch oil (palo santo) from Ecuador

Patricia Manzano Santana^I; Migdalia Miranda^{II}; Yamilet Gutiérrez^{III}; Gastón García^{II}; Tulio Orellana^{IV}; Andrea Orellana^V

^I Máster en Ciencias. Centro de Investigaciones Biotecnológicas de la ESPOL (CIBE). Instituto de Ciencias Químicas y Ambientales (ICQA). Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Guayaquil, Ecuador.

^{II} Doctora en Ciencias. Departamento de Farmacia. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Ciudad de La Habana. Cuba.

^{III} Máster en Ciencias. Departamento de Farmacia. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Ciudad de La Habana. Cuba.

^{IV} Químico Farmacéutico. Centro de Investigaciones Biotecnológicas de la ESPOL (CIBE). Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Guayaquil. Ecuador.

^V Estudiante. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Chile. Chile.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: la especie *Bursera graveolens* Triana & Planch, comúnmente llamada palo santo, es una planta nativa de las costas ecuatorianas y peruanas.

OBJETIVOS: contribuir al estudio fitoquímico y farmacológico de la especie *B. graveolens*, nativa de San José de Ancón, provincia de Santa Elena, Ecuador.

MÉTODOS: se empleó el extracto hidroalcohólico 50 % de ramas secas. Se realizó un estudio fitoquímico a través del sistema acoplado de cromatografía gaseosa-espectrometría de masas y se determinó el efecto antiinflamatorio en el modelo de edema de la oreja inducido por aceite de Crotón en ratones albinos de la línea OF1.

RESULTADOS: el tamizaje fitoquímico mostró presencia de aceites esenciales, triterpenos-esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, antocianidinas, saponinas y compuestos reductores. Se determinó estructuras a 11 componentes del aceite esencial extraído de las ramas y el sesquiterpeno denominado viridiflorol resultó el componente mayoritario con 70,82 %, este compuesto se informa por

primera vez en esta especie. El extracto hidroalcohólico (25 µL a cada lado de las orejas tratadas) inhibió significativamente la inflamación comparado con la bencidamina.

CONCLUSIONES: los extractos hidroalcohólicos mostraron un efecto antiinflamatorio en las condiciones experimentales del estudio y se determinó la composición química del aceite de ramas de *B. graveolens* de Ecuador.

Palabras clave: *Bursera graveolens*, viridiflorine, sesquiterpenos, antiinflamatorio.

ABSTRACT

INTRODUCTION: *Bursera graveolens* Triana & Planch. species, commonly called *palo santo*, is an indigenous plant from Ecuadorian and Peruvian coasts.

OBJECTIVES: to contribute to the phytochemical and pharmacological study of *B. graveolens* species from San José de Ancon, Santa Elena province, Ecuador.

METHODS: 50 % hydroalcoholic extract from dry branches was used. The phytochemical study was based on a combined system of gas chromatography-mass spectrometry and the antiinflammatory effect was determined in the model of ear edema induced by Croton oil in albino OF1 mice.

RESULTS: phytochemical screening showed the existence of essential oils, triterpen-steroids, phenolic compounds, flavonoids, quinones, antocyanidines, saponins and reducing compounds. The structures of eleven essential oil components from branches were determined whereas sesquiterpene called viridiflorol turned out to be the main component with 70,82%; this is the first time that this compound is reported in this species. The hydroalcoholic extract (25 µL applied at each side of the treated ears) significantly inhibited the inflammation compared with the effect of benzydamine.

CONCLUSIONS: hydroalcoholic extracts showed antiinflammatory effect under experimental study conditions and the chemical composition of branch oil from *B. graveolens* from Ecuador was determined.

Key words: *Bursera graveolens*, viridiflorine, sesquiterpenes, antiinflammatory.

INTRODUCCIÓN

Bursera graveolens Triana & Planch (palo santo), planta nativa que crece en los bordes de quebradas, cercanas al mar, en montañas bajas y medias en la costas ecuatorianas y peruanas, de la región Tumbesina, que la convierten en el lugar propicio para la evolución y adaptación de especies vegetales y animales únicos en el mundo.¹

La especie *B. graveolens* ha sido objeto de estudio por investigadores cuyos resultados obtenidos respecto a la composición de los extractos, del aceite y la actividad farmacológica reportados no son definitivos. Así, en la literatura se encuentran identificados en el aceite esencial, los componentes responsables del aroma, la característica picante, dulce y el olor balsámico;² el limoneno y α -

terpineol en los tallos de la especie de origen ecuatoriano;³ el (-)-dihidro- α -agarofurano, (-)-5,11-epoxi-4 α ,5 β ,10 α -eudesm-1-en o, (-)-4 α -hydroxydihydroagarofuran, (-)-3 β , 4 β -oxidoagarofuran y (-)-10-epi- γ -eudesmol, de las virutas de la madera;⁴ limoneno, óxido de cariofileno y *trans*-cariofileno en las hojas y el limoneno, mirceno y mentofurano en los tallos colectados en la región del Cañón del Chicamocha, Colombia.⁵ Se incluyen además, los compuestos aromáticos activos: cicloteno y la vainillina, evaluados por cromatografía de gases-*olfactometry* (GC-O).⁶

En los estudios realizados a los extractos obtenidos de la corteza de *B. graveolens*, se reporta presencia de triterpenos tetracíclicos: el ácido de 3 oxotirucalla-8,24-dien-21-oic (β -elemonic acid), 3 α -hydroxytirucalla-8,24-dien-21-oic (α -elemolic acid) y 3 α -acid hydroxytirucalla-7,24-dien-21-oic; y la actividad antimicrobiana, en los extractos etanólicos de las cortezas y hojas de *B. graveolens* contra *Bacilo subtilis* y *Staphylococcus aureus*; y antiinflamatoria frente a indometacina, demostradas en especies de Cundinamarca-Colombia.⁷

Con estos antecedentes la presente investigación tuvo como objetivo, contribuir al estudio farmacológico de la especie *B. graveolens*, nativa de San José de Ancón, Provincia de Santa Elena, Ecuador; y sustentar el aprovechamiento de fitofármacos y subproductos elaborados a partir de la madera seca de esta especie.

MÉTODOS

Se trabajó con ramas adultas de *B. graveolens* (palo santo), recolectadas al mediodía en la Parroquia San José de Ancón provincia de Santa Elena, en el mes de junio de 2008. El estado vegetativo de la planta fue floración, herborizada en el Herbario Nacional del Ecuador QCNE Quito, con el código CIBE001.

Los parámetros de calidad de la droga se realizaron siguiendo lo establecido por la OMS, así como *Miranda* y *Cuellar*.⁸ Se determinaron las sustancias solubles en etanol 30, 50 y 80 %, y el contenido de aceite esencial.

A partir de la droga, se elaboraron tinturas a 50 % con etanol 90 %, por contener la droga aceite esencial. El método empleado para la extracción fue la maceración en recipiente cerrado y en ausencia de luz, el tiempo de extracción fue de 14 d.

Para determinar el contenido de aceite esencial de las ramas de la especie, se empleó el método de hidrodestilación cohobación y la planta seca. El tiempo de extracción fue de 3,5 h, se realizaron 5 réplicas. El aceite fue analizado por el sistema acoplado de cromatografía gaseosa por espectrometría de masas, en un equipo Agilent serie 6890N, equipado con un detector selectivo de masas, serie 5973N. La inyección de la muestra se realizó por el modo *split* con una relación de 1:10, con la temperatura del inyector de 280 °C. En los estudios estadísticos, se calcularon la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada determinación. Para las comparaciones se aplicó un análisis de varianza de una vía de clasificación y a posteriori la prueba de Duncan ($p < 0,05$). Los análisis se realizaron ayudados por el paquete estadístico Satatistic for Windows 5.1.

El estudio antiinflamatorio agudo de *B. graveolens* se desarrolló mediante el ensayo que induce a la inflamación por aceite de crotón en la oreja de ratón, según metodología descrita por CYTED (1996),⁹ se emplearon ratones albinos de la línea

OF1, machos, procedentes del CENPALAB (Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, Habana-Cuba), los cuales se mantuvieron en cuarentena. Los ratones cumplieron con los requisitos de calidad que exigen estos estudios, con un peso promedio de 25 a 30 g. El acceso al agua y a la comida fue *ad libitum*, las condiciones de luz y humedad fueron las descritas para la especie. La tintura de *B. graveolens* fue suministrada por la vía tópica (25 µL). Se confeccionaron 3 grupos de 5 animales cada uno. La distribución de los animales en los grupos fue al azar.

La solución irritante que provocó el edema auricular en el pabellón auditivo del ratón fue el aceite de crotón, este se utilizó a 5 % en acetona, se aplicó con una micropipeta y se depositó en la oreja derecha del animal.

Los extractos alcohólicos de *Bursera* (25 µL) y crema de bencidamina 5 %, se administraron de igual manera en la oreja derecha de forma tópica, inmediatamente después del agente irritante, de modo que se lograra una capa fina en la zona afectada. Se sacrificaron a los ratones, después de 30 min de la aplicación de la solución y se procedió a cortar las orejas a través de las aristas. Con un sacabocado se cortaron discos de tejido de 6 mm de diámetro y se pesaron en una balanza analítica. A continuación se muestran en la [tabla 1](#), los grupos que se sometieron a este ensayo.

Tabla 1. Esquema del ensayo que induce a la inflamación por aceite de Crotón en la oreja de ratón,⁹ con el extracto hidroalcohólico de *B. graveolens*

Grupo	Tratamiento
1. Control	Se administró aceite de crotón 10 µL por ambas caras de la oreja y no se suministró medicamento alguno
2. Control positivo (Bencidamina 5 %)	Se administró aceite de crotón (10 µL) por ambas caras de la oreja e inmediatamente se aplicó bencidamina crema, de forma que cubriera el pabellón auditivo
3. Extracto hidroalcohólico de <i>B. graveolens</i>	Se administró aceite de crotón 10 µL por ambas caras de la oreja e inmediatamente se aplicaron 25 µL del extracto hidroalcohólico de <i>B. graveolens</i> por cada cara del pabellón auditivo, de la misma forma que el aceite de crotón

Finalmente, se calcularon la media y la desviación estándar para cada grupo, de los pesos de los discos de oreja obtenidos, se utilizó análisis de varianza de una vía de clasificación y a posteriori la prueba de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Los parámetros de calidad realizados a la droga cruda se corresponden con los establecidos para drogas vegetales, que se presentan en la [tabla 2](#).

Tabla 2. Parámetros de calidad de la droga cruda

Parámetros	Resultados ± DE
Humedad residual	8,69 ± 0,28
Sustancias solubles en agua	5,37 ± 0,23
Sustancias solubles en etanol 30 %	3,93 ± 0,11
Sustancias solubles en etanol 50 %	2,56 ± 0,17
Sustancias solubles en etanol 80 % (%)	1,70 ± 0,16
Cenizas totales	5,14 ± 0,08
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico 10 %	1,96 ± 0,17

La droga cruda presentó olor característico aromático y sabor algo picante.

En la determinación cualitativa del principio activo realizado a las ramas de *B. graveolens*, resultaron positivos los metabolitos correspondientes a los grupos químicos siguientes: en el extracto etéreo, aceites y grasas, triterpenos y(o) esteroides; en el extracto alcohólico: resinas, sustancias reductoras, fenoles y taninos; en el extracto acuoso la presencia de fenoles y taninos, flavonoides, sustancias reductoras, saponinas y aminoácidos.

El rendimiento del aceite esencial obtenido de las ramas de *B. graveolens* fue de 0,05 % y los resultados del cromatograma gaseoso analítico se presentan en la [figura 1](#).

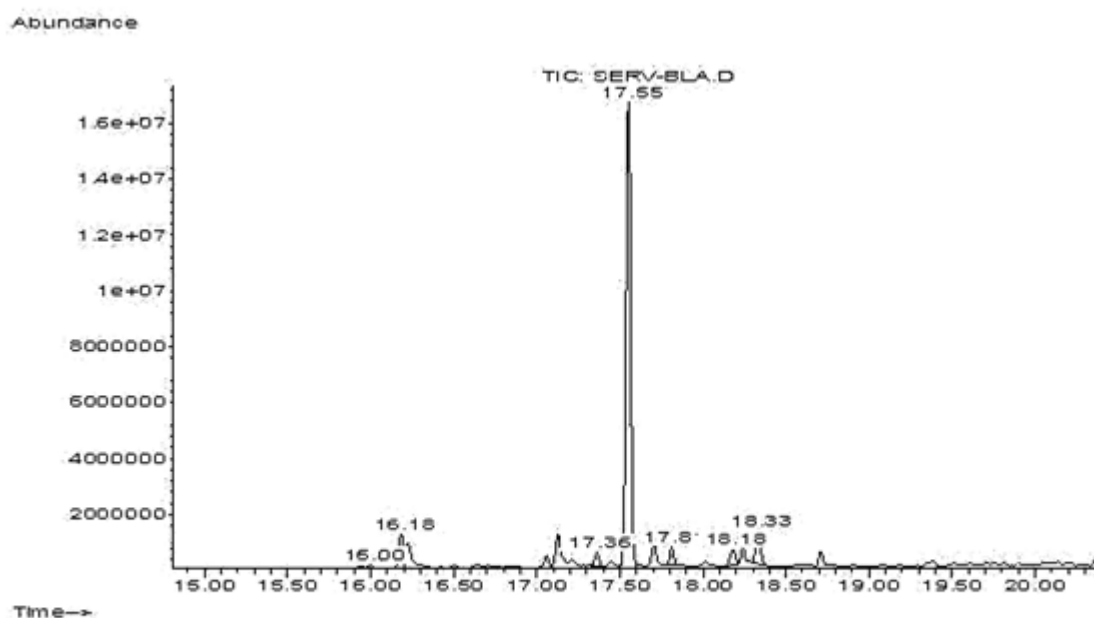


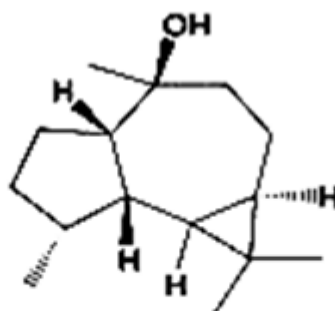
Fig. 1. Cromatograma gaseoso analítico de aceite esencial de tallo de *B. graveolens*.

Se identificaron 11 componentes, los cuales se reflejan en la [tabla 3](#).

Tabla 3. Componentes en el cromatograma del aceite de ramas de *B. graveolens*

Pico No.	Tr	Abundancia (%)	Nombre
1	4,603	4,84	D-Limoneno
2	10,044	0,68	2-Ciclohexen-1-ol,2-metil-5-(1-metiletienil)-
3	10,602	1,06	Fenchona
4	13,483	3,02	1,2-Ciclohexanodiol,1-metil-4-(1-metiletienil)-
5	16,001	0,35	α -Copaeno
6	16,185	6,09	3,4-metilenodioxiacetofenona
7	17,360	1,98	Espatulanol
8	17,552	70,82	Viridiflorol
9	17,811	2,67	6-isopropenil-4,8 α -dimetil-1,2,3,6,7,8,8 α -octahidronaftalen-2-ol
10	18,177	2,91	Naftaleno-1,2,3,5,6,8 α -hexahidro-4-7-dimetil-1
11	18,332	5,53	α -Cadinol

En la [figura 2](#) se presenta la estructura del compuesto mayoritario presente en *B. graveolens*.



Decahidro-1,1 4,7-tetrametil-(1*R*, 4*S*, 4*aS*, 7*R*, 7*AS*, 7*bs*)-1*H*-cycloprop (*e*) azuleno-4-ol

Fig. 2. Estructura del compuesto viridiflorol.

En la [tabla 4](#), se muestran los resultados de los pesos medios de las orejas derecha (tratadas) e izquierda (controles) de los diferentes grupos, en el ensayo del efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico.

Tabla 4. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de tallos de *B. graveolens*

Grupo	Peso medio de las orejas (mg) ($\bar{x} \pm DE$)	
	Derecha	Izquierda
I. Control (Crotón)	18,22 \pm 0,9 a	8,46 \pm 0,93 c
II. Control (Bencidamina)	10,40 \pm 0,39 b	9,42 \pm 0,638 c
III. Extracto hidroalcohólico	10,38 \pm 0,3 b	9,14 \pm 0,879 c

a, b, c significación estadística ($p < 0,05$).

Los porcentajes de inflamación y de inhibición de bencidamina y del extracto hidroalcohólico comparados con el aceite de crotón, se presentan en la [tabla 5](#).

Tabla 5. Porcentajes de inflamación y de inhibición de bencidamina y del extracto hidroalcohólico

Grupo	% de inflamación	% de inhibición
I. Control (Crotón)	115	-
II. Control (Bencidamida)	10,4	90,95
III. Extracto hidroalcohólico	13,57	88,23

DISCUSIÓN

Los resultados de la evaluación antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de *B. graveolens*, en esta investigación, corroboran el uso tradicional que se le asigna a la especie. Además, se logró identificar un nuevo componente mayoritario del aceite esencial de las ramas de la especie: el sesquiterpeno viridiflorol y el compuesto minoritario el α -copaeno; estos difieren de lo reportado por Young y otros³ para los tallos de esta especie de procedencia ecuatoriana; también a lo informado por Leiva y otros,⁵ quienes informan al limoneno como mayoritario, determinados en el aceite de las hojas y en el tallo de *B. graveolens* de procedencia colombiana.

La composición química del aceite esencial de la especie *B. graveolens* del Cantón San José de Ancón, de la provincia de Santa Elena, Ecuador, se diferencia por la presencia del compuesto mayoritario viridiflorol, nunca antes reportado para esta especie. Este resultó un compuesto interesante para la industria farmacéutica, por la actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa reportada por Miyazawa.¹¹ Se recomienda continuar los estudios para optimizar su extracción, con el consecuente aprovechamiento sustentable de las especies aromáticas y medicinales autóctonas y cultivables de la región, en la obtención de esencias y extractos como beneficio social, económico y ambiental de los pobladores.

AGRADECIMIENTOS

Al doctor Jorge Calderón, Director del CICYT-ESPOL, por el apoyo financiero brindado por la institución en la ejecución del Proyecto PEC07 043, que permitió realizar la investigación en Ecuador.

Al Máster en Ciencias Justo Huayamave, Director del ICQA-ESPOL, por el respaldo institucional.

A la dirección del CIBE-ESPOL, en el nombre de la doctora Esther Lilia Peralta, PhD, por las revisiones realizadas al artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Borja C, Lasso S. Plantas nativas para reforestación en el Ecuador. Quito: Fundación Natura; 1990. p. 191-6. Disponible en: <http://siris-libraries.si.edu/ipac20/ipac.jsp?uri=full=3100001~!604458!0#focus>
2. Yukama Ch, Iwabuchi H. Terpenoids in Volatile Oil from *Bursera graveolens*. J Oleo Sci. 2003; 52(9): 483-9.
3. Gary Young, Chao S. Essential oil of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana et Planch from Ecuador. J Essen. Oil Res. 2007; 19(6): 525-6.
4. Yukawa Ch, Hisakatsu I, Tadao K, Sadao K, Akiyoshi S. Terpenoids of the volatile oil of *Bursera graveolens*. Flavour Fragr J. 2004; 19(6): 565-70.
5. Leyva M, Martínez JR, Stashenko E. Composición química del aceite esencial de hojas y tallos de *Bursera graveolens* (Burseraceae) de Colombia 2007. J Sci Tech. 2007; 131(33): 201-2.
6. Yukawa Ch, Imayoshi Y, Iwabuchi H, Komemushi S, Sawabw A. Chemical composition of three extracts of *Bursera graveolens*. Flavour Fragrance J. 2006; 21(2): 234-8.
7. Robles Robles TR, Gray A, Piñeros C, Ortiz L, Sierra M. Triterpenos aislados de corteza de *Bursera graveolens* (Burseraceae) y su actividad biológica. Rev. Brasileña Farmacogn. 2005; 15(4): 283-6. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-95X2005000400003&script=sci_arttext
8. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de La Habana: Editorial Félix Varela; 2000. p. 44-9.
9. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Edema Auricular. Curso para Investigadores en el descubrimiento de nuevos medicamentos. Subprograma X: Química Fina Farmacéutica. Proyecto X-2: Síntesis de Moléculas bioactivas Análogos de productos naturales de origen Iberoamericano. Lima: Editorial CYTED; 1996. p. 83.
10. Wikipedia. Enciclopedia virtual. Disponible en: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Viridiflorol.png>
11. Miyazawa M, Watanabe H, Umemoto K, Kameoka H. Inhibition of acetyl cholinesterase activity by essential oils of *Mentha* species. Japan J Agric Food Chem. 1998; 46(9): 3431-4.

Recibido: 23 de mayo de 2009.
Aprobado: 10 de agosto de 2009.

MSc. *Patricia Manzano Santana*. Centro de Investigaciones Biotecnológicas de la ESPOL (CIBE). Instituto de Ciencias Químicas y Ambientales. Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Km. 30.5, Vía Perimetral, Campus Prosperina, Apartado: 09-01-5863. Fax: (593-4) 2 854629. Guayaquil, Ecuador. Correos electrónicos: pmanzano@espol.edu.ec; manzanopatricia@hotmail.com