

Luna Mendoza

PROYECTO DE REDES: “ESTUDIO FITOQUÍMICO, FARMACOLÓGICO Y BIOTECNOLÓGICO DE PLANTAS DE LA FAMILIA BURSERACEAE”

Luna Mendoza, S. Mamadou Moustapha, B. Facultad de Ciencias Químicas Universidad Autónoma de Querétaro

RESUMEN

La actividad durante esta estancia de investigación se centró en la separación de los metabolitos secundarios de una fracción butanólica resultante de la partición del extracto metanólico de la planta medicinal *Bursera simaruba*, la cual forma parte del proyecto de redes. Como herramientas, se utilizaron técnicas de partición, cromatografías en columna sobre gel de sílice y sobre Sephadex LH-20, así como la cromatografía en capa fina y la de líquidos de alta resolución (CLAR o HPLC de sus siglas en inglés: High Performance Liquid Chromatography). De esta última, se investigaron condiciones de mejor resolución de los constituyentes individuales utilizando diversas fases estacionarias (columnas) y móviles. Una vez encontradas esas condiciones, se llevó a cabo un escalamiento a nivel semipreparativo y se recolectaron los picos que se mostraban más definidos para posteriormente llevar a cabo una purificación.

INTRODUCCIÓN Los productos naturales representan la fuente primaria de principios activos y como fuentes de inspiración para la síntesis de prototipos, los cuales son el interés principal del sector farmacéutico en el desarrollo de medicamentos. Una etapa importante en el descubrimiento de los principios activos consiste en identificar remedios tradicionales de uso reconocido por criterios etnomédicos para el tratamiento de padecimientos determinados. *Bursera simaruba*, de amplia distribución en el mundo, es una de las plantas medicinales que tienen reputación tradicional para tratar diversas enfermedades relacionadas con el cáncer y la inflamación. Dado que el perfil químico de una planta es muy dependiente de las condiciones ambientales de crecimiento de sus especímenes, se consideró conveniente investigar la naturaleza de los metabolitos secundarios de *Bursera simaruba* recolectada en la Sierra de Querétaro. Para llevar a cabo estos estudios se prepararon diversos extractos, separando posteriormente el extracto metanólico, que mostró un mayor rendimiento en comparación de los demás extractos, por diferentes métodos buscando el aislamiento, la purificación y la caracterización de la estructura química de algunos de sus constituyentes individuales mayoritarios.

EXPERIMENTAL

La planta objeto de estudio fue la corteza seca de *B. simaruba* colectada en Jalpan de Serra, Querétaro. Se llevó a cabo la extracción de la corteza molida y de manera consecutiva con hexano, metanol y una mezcla de metanol agua (70:30). Se seleccionó el extracto metanólico que posteriormente fue sometido a una columna abierta de gel de sílice (malla de 60-200). La elución se llevó a cabo con un gradiente de hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol como se indica en la Tabla 1. Se recolectaron 407 fracciones de 225 mL cada una. Tabla 1. Resumen de los

sistemas de elución y de las fracciones recolectadas de la cromatografía en columna del extracto metanólico de *Bursera simaruba* (Columna I). Sistema de elución Proporción (%) Fracciones recolectadas

Fracciones agrupadas	Denominación	Pesos (g)
Hexano	100	112.5
Hexano-AcOEt	95:52-82-80	603
Hexano-AcOEt	90:109-499-223	223-4910.443
Hexano-AcOEt	80:2050-10050-682	469-10030.266
Hexano-AcOEt	60:40101-131101-12840	230129-15453.5
Hexano-AcOEt	40:60132-154	Hexano-AcOEt20:80155-187155-16260.190163-19571.3
AcOEt	100188-234196-21981220-23490.808	AcOEt-MeOH95:5235-300235-27610 + 113277-30012 + 132.8
AcOEt-MeOH	85:15301-321301-321143	5AcOEt-MeOH60:40322-382322-354156.5355-375161.1376-407173.8
AcOEt-MeOH	40:60383-394	MeOH100395-407
MeOH-H ₂ O	97:3408-418408-418180	288

Por otra parte, 17.2893 g del extracto metanol-agua (70:30) se trató en una columna Sephadex LH20 (Beadsize de 25-100 μ), usando una columna de vidrio de 65 cm de longitud y 2 cm diámetro. La muestra se disolvió en metanol y se introdujo en la columna recolectando 25 fracciones de 50 ml. Por el momento, ninguna de esas fracciones ha sido analizada por HPLC. En base a sus perfiles cromatográficos en capa fina (CCF), las fracciones 10 y 11 del extracto metanólico obtenido de la columna I, se juntaron y se sometieron a un proceso de partición en un embudo de separación, utilizando sucesivamente hexano, cloroformo, acetato de etilo y butanol; las muestras obtenidas se llevaron a sequedad por medio de un rotoevaporador (BÜCHI). La fracción butanólica, siendo la de mayor rendimiento con 230.8 mg fue la adecuada para ser analizada en el HPLC. Se buscó encontrar las condiciones ideales de resolución, empleando las columnas analíticas Zorbax XDB-C18 y Symmetry C18 (Figura 1). La Symmetry proporcionó la mejor separación de picos (Figura 1). Sin embargo, con el fin de realizar una separación en menor tiempo y procesar mayor volumen, se prefirió reproducir las condiciones en las columnas semipreparativa (Figura 2) y preparativa YMC-Pack ODS-AQ, empleando una fase móvil modificada de H₂O-MeOH (75:25) del minuto 0-12 y de MeOH al 100% del minuto 12 al 25. La preparativa permitió obtener mayor rendimiento de cada uno de los picos debido al volumen que se le puede administrar. Figura 1. Cromatograma de las fracciones primarias 10 y 11. Columna Symmetry C18 (4.6 x 250 mm d.i, 5 μ m), fase móvil: MeOH-H₂O (30:70, Flujo: 0.6 ml/min, Detección 254 nm. Figura 2. Cromatograma de las fracciones primarias 10 y 11. Columna YMC-Pack ODS-AQ semipreparativa (250 x 10 mm d.i 5 μ m), fase móvil: MeOH-H₂O (25:75, de 0 a 12 min, luego MeOH hasta los 25 min), Flujo: 2 ml, Detección 254 nm.

RESULTADOS

Hasta el momento se han logrado concentrar los picos recolectados de la columna YMC-Pack ODS-AQ semipreparativa a partir de 50 mg de muestra inyectados, obteniendo los siguientes pesos: PicoPeso (mg)12.221.130.84152.561.1716.1

CONCLUSIONES

La purificación total de los componentes de los extractos procesados es una tarea compleja, ya que pese a los ensayos que se llevaron a cabo no muestran una separación totalmente definida para poder realizar una elucidación estructural. Se requerirá investigar más condiciones de resolución, ya sea cambiando fases móviles o reciclando cada banda colectada. Se considera necesario realizar más separaciones para lograr obtener compuestos puros y con una masa significativa para continuar con el estudio de la planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arvigo, R., Balik, M.. *Bursera simaruba*. In: Arvigo R, Balik, M. (Eds.), "Rainforest Remedies. One hundred healing herbs of Belize". 2da. ed., Lotus Press, Twin Lakes, WI, USA, 1993. Campos-Soto, L. M., "Estudio fitoquímico de la resina de *Bursera simaruba* (Palo mulato)". Tesis de licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad Autónoma de Querétaro, 2006. Carretero, M. E., Lopez-Perez, J. L., Abad, M. J., Bermejo, P., Tillet, S., Israel, A., Noguera-P, B. "Preliminary study of the anti-inflammatory activity of hexane extract and fractions from *Bursera simaruba* (Linneo) Sarg. (Burseraceae) leaves". *J. Ethnopharmacol*, 116, 11-15, 2008. Dick, J.. "Química Analítica", El Manual Moderno S.A, México, D.F., 651-658, 1979. Skoog, D.. "Análisis Instrumental", Interamericana S.A de C.V, México, D.F, 721-741, 1984.