

Artículo Original / Original Article

# Composición química y actividad AChE-BuChE del aceite esencial de palo santo *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch de Jipijapa, Ecuador

[Chemical composition and AChE-BuChE activities of the essential oil of palo santo *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch from Jipijapa, Ecuador]

Ronald Eduarte Saltos<sup>1</sup>, Nicole Bec<sup>2</sup>, Melissa Salinas Rivera<sup>1</sup>, Jorge Ramírez Robles<sup>1</sup>,  
Christian Larroque<sup>2</sup> y Chabaco Armijos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química y Ciencias Exactas, Universidad Técnica Particular de Loja, San Cayetano Alto, Loja-Ecuador

<sup>2</sup>Institute for Regenerative Medicine and Biotherapy (IRMB), Université de Montpellier, INSERM, Montpellier, France

**Reviewed by:**  
Viviana Bravi  
Universidad de Cordoba  
Argentina

Alejandro Madrid  
Universidad de Playa Ancha  
Chile

Eduardo Dellacasa  
Universidad La Republica  
Uruguay

**Correspondence:**  
Ronald EDUARTE [rduarte@utpl.edu.ec](mailto:rduarte@utpl.edu.ec)  
Chabaco ARMIJOS [cparmijos@utpl.edu.ec](mailto:cparmijos@utpl.edu.ec)

## Section Biological activity

Received: 12 October 2020  
Accepted: 28 April 2019  
Accepted corrected: 11 June 2021  
Published: 30 July 2022

## Citation:

Eduarte-Saltos R, Bec N, Salinas-Rivera M, Ramírez-Robles J, Larroque C, Armijos- Riofrio C. Composición química y actividad AChE-BuChE del aceite esencial de palo santo *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch de Jipijapa, Ecuador **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 21 (4): 455 - 463 (2022).  
<https://doi.org/10.37360/blacpma.22.21.4.28>

**Abstract:** This article describes the chemical composition, physical properties and acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) activity of stem-distilled essential oil (EO) from *Bursera graveolens* wood chips, Burseraceae. The plant material was acquired in Quimis (Bosque de Sancán), city of Jipijapa in the province of Manabí, coastal region of Ecuador. Thirty-six components were identified by CG-MS, which represented 98.54% of the volatile oil. The main components were limonene (68.52%) and mentofuran (20.37%). The hydrocarbon monoterpenes constituted the most abundant fractions. The average yield of the EO was 1.26%. Regarding the physical properties of EO, the following values were obtained: relative density (1.029 g/mL), refractive index (1.477) and specific rotation (+4.567). The EO presented IC<sub>50</sub> inhibition values of 47.2 and 51.9 µg/mL for the enzymes AChE and BuChE, respectively.

**Keywords:** *Bursera graveolens*; Essential oil; Limonene; Mentofuran; GC-MS analysis.

**Resumen:** Este artículo describe la composición química, propiedades físicas y actividad acetilcolinesterasa (AChE) y butirilcolinesterasa (BuChE) del aceite esencial (AE) destilado a vapor de astillas de madera de *Bursera graveolens*, Burseraceae. La materia vegetal fue adquirida en Quimis (Bosque de Sancán), ciudad de Jipijapa en la provincia de Manabí, región costera de Ecuador. Treinta y seis componentes fueron identificados por CG-MS, que representaron al 98.54% del aceite volátil. Los componentes principales fueron limoneno (68.52%) y mentofurano (20.37%). Los monoterpenos hidrocarburos constituyeron las fracciones más abundantes. El rendimiento medio del AE fue de 1.26%. Con respecto a las propiedades físicas del AE se obtuvo los siguientes valores, densidad relativa (1.029 g/mL), índice de refracción (1.477) y rotación específica (+4.567). El AE presentó valores de inhibición IC<sub>50</sub> de 47.2 y 51.9 µg/mL para las enzimas AChE y BuChE, respectivamente.

**Palabras clave:** *Bursera graveolens*; Aceite esencial; Limoneno; Mentofurano; Análisis CG-MS.

## INTRODUCCIÓN

La especie *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch es una planta nativa del Ecuador y endémica de las Islas Galápagos, pertenece a la familia botánica Burseraceae y se caracteriza por ser un árbol caducifolio que puede crecer entre 3 a 15 metros de altura, con hojas presentes en la época húmeda. Las hojas son alternas y pecioladas, presenta una corteza de color rojizo, flores unisexuales en panícula y su fruto es una drupa (Young *et al.*, 2007; Muñoz-Acevedo *et al.*, 2013). Esta especie aromática suele estar distribuida por toda América Latina y su madera presenta un olor dulce, amaderado y balsámico (Rey-Valeirón *et al.*, 2017), motivo por el cual se la utiliza como incienso y en medicina natural como analgésico, sedante, sudorífico y para tratar el reumatismo (Young *et al.*, 2007).

En Ecuador la planta se encuentra en bosques de clima tropical seco y en especial en la costa del Pacífico, siendo posible encontrar *B. graveolens* en altitudes de hasta 1500 m s.n.m. (Jørgesen y León-Yáñez, 1999), se conoce de su existencia en el Archipiélago de Galápagos y las provincias de Guayas, Imbabura, Manabí y Loja. Al ser una especie protegida en el país, es en el Parque Nacional Machalilla, localizado en la Provincia de Manabí, con un rango altitudinal de 0 a 400 m s.n.m, donde se encuentra la máxima concentración de palo santo (*Bursera graveolens*) que hay en América del Sur.

En Ecuador pequeños trozos de madera, ramas, astillas, así como aserrín de palo santo se queman y el humo producido se emplea como repelente de insectos, en algunas localidades de la provincia del Guayas se le atribuye el mismo efecto, pero como repelente de murciélagos, también se emplea para tratar el acné, granos de la piel, orzuelos, reumatismo, hinchazones, dolor de huesos, tos, tiña y picadura de insectos. En el ámbito social se quema palo santo como sahumero para armonizar ambientes cerrados y ahuyentar malos espíritus (Galápagos, Guayas, Imbabura, Manabí y Loja), siendo ésta una creencia reconocida por la población que habita en las grandes ciudades y compra para dicho fin palo santo en mercados, centros naturistas, ferias comunitarias o vendedores ambulantes. En el plano medicinal en la región de Imbabura se emplea el tallo raspado para calmar dolores de estómago, según creencias, al aplicar la resina de palo santo en el ombligo del recién nacido se logra desprender fácilmente (provincias de Guayas y Manabí). En varias zonas del bosque seco de la provincia de Loja se emplea la especie como cerca viva para dividir terrenos (De la Torre *et al.*, 2008).

En Ecuador, la utilización de la madera del

árbol de palo santo está prohibida y no se puede cortar árboles, por ello ante el interés de una empresa cosmética de Brasil por adquirir aceite esencial (AE) de esta especie, la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL), la empresa brasileña y la ONG (Naturaleza y Cultura), con el apoyo del Ministerio del Ambiente de Ecuador (MAE), emprendieron en el año 2016 un proyecto original y ambientalmente sostenible para obtener AE de los frutos de *Bursera graveolens* sin tener que talar árboles, creando con ello la Asociación comunitaria Bolívar-Tello-Cano, con la iniciativa de conservar la especie y generar empleo e ingresos económicos durante la cosecha de los frutos a familias de campesinos que habitan dentro del “Valle del palo santo” (comunidades de Malvas, Tutumos y Chaquiro) en Zapotillo, provincia de Loja al sur de Ecuador. La composición química y propiedades físicas del AE de los frutos de palo santo han sido investigadas (Valarezo, 2014; Rey-Valeirón *et al.*, 2017), presentando como compuestos volátiles mayoritarios el limoneno 48.5%, felandreno 36.6% y mentofurano 6%, con un índice de refracción de 1.47 y densidad 0.85 g/mL.

Siguiendo el mismo modelo de aprovechamiento sustentable, con el aval del MAE en el año 2014 se crea en la provincia de Manabí, cantón Jipijapa, sitio Quimis, la Asociación de Apicultores 25 de julio con el fin de extraer AE de *B. graveolens* desde la madera de los árboles (troncos y ramas) que de forma natural caen al piso por su peso, edad, factores ambientales, etc., dentro de la reserva natural del Bosque de Sancán. Con la comercialización local del aceite se ha logrado conseguir ingresos económicos para los campesinos que habitan en las inmediaciones del bosque. Sin embargo, el AE de esta zona, a diferencia del que se produce en el Sur de Ecuador no cuenta con estudios sobre composición química y ensayos de actividad biológica que permitan conocer y promover o potenciar su aprovechamiento sustentable, por lo tanto, el presente artículo constituye el primer reporte sobre la composición química, propiedades físicas y actividad AChE y BuChE del AE de palo santo (*Bursera graveolens*) del Bosque de Sancán (sector Quimis) en Jipijapa.

Con respecto a la actividad biológica reportada, el AE extraído desde pequeños cortes del tronco de la especie *B. graveolens* presenta propiedades antitumorales y antiproliferativas (Monzote *et al.*, 2012). El efecto acaricida del AE de los frutos de palo santo (*B. graveolens*) frente a larvas de garrapata del ganado bovino (*Rhipicephalus microplus*) ha sido estudiada (Rey-Valeirón *et al.*, 2017), sin embargo, no existen estudios precedentes

sobre la actividad AChE y BuChE para el AE de *B. graveolens*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

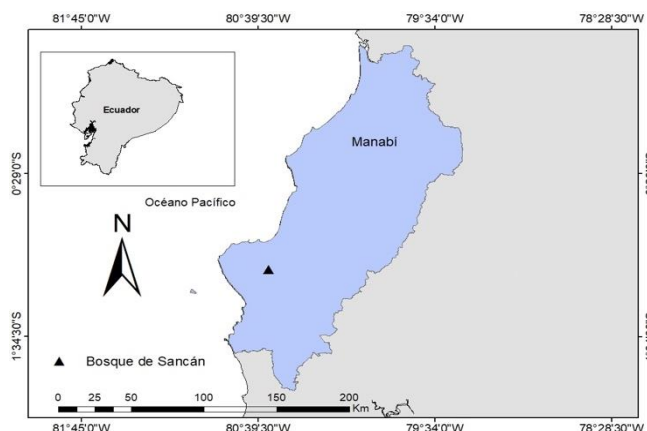
### Material vegetal

Los troncos de la especie *Bursera graveolens* que de forma natural caen al piso por su peso, edad o factores climáticos, fueron recolectados por comuneros de la Asociación de Apicultores 25 de julio dentro del Bosque Sancán (Figura N° 1), sector Quimis, cantón Jipijapa, provincia de Manabí, en las coordenadas geográficas 544765N, 9875732E y una altitud de 300 m s.n.m. La colecta fue realizada en el mes de octubre del año 2019 durante la estación seca. La especie fue

identificada por Bolívar Merino, curador del Herbario de la Universidad Nacional de Loja (HUNL), una muestra de referencia de la especie fue depositada en la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL) con el código de herbario PPN-br-001.

Antes de su transporte, el tronco fue cortado *in situ* hasta obtener pequeños trozos de material en forma de astillas de no más de 0.5-1 cm de longitud, en estas condiciones el material se trasladó al laboratorio de Química de la UTPL para la extracción del AE. Para la presente investigación los trozos de palo santo fueron comprados a los comuneros que la comercializan localmente y la usan para extraer AE.

**Figura N° 1**  
**Bosque de Sancán**



**Nota: Provincia de Manabí, Cantón Jipijapa, Bosque de Sancán lugar de colecta de la especie de *Bursera graveolens***

### Obtención del aceite esencial

El AE puro de *B. graveolens* se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor de agua por un tiempo de 3 horas (Fon-Fay et al., 2019) a partir de 1500 g de trozos pequeños de la madera (astillas). Para el proceso se empleó un destilador tipo Clevenger de 2000 g de capacidad que se encuentre en el laboratorio de química de la Universidad Técnica Particular de Loja. La extracción del AE se realizó por triplicado. Una vez recuperado el AE fue deshidratado adicionando sulfato de sodio anhídrido (99 % de pureza). Durante los análisis realizados, todas las muestras de AE permanecieron almacenadas en viales ámbar a -15°C.

### Cromatografía de gases/Espectrometría de masas (CG-MS)

El análisis químico cualitativo del AE de *B.*

*graveolens* se realizó en un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies serie 6890 N, acoplado a un espectrómetro de masas 5973 (Santa Clara, CA 95051, USA), operado en modo SCAN y ionización de electrones a 70 eV, con un rango de masas de 45-350 m/z. El equipo dispone de un autoinyector Agilent 7683 (Little Falls, DE, USA) y un software MSD-Chemstation D.01.00 SP1.

El análisis mediante CG-MS del AE se realizó en dos columnas cromatográficas. Una columna de fase estacionaria apolar, DB-5MS marca Agilent (5%-phenyl-methylpolysiloxane, 30 m, 0,25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de diámetro interno; J & W Scientific, Folsom, CA, USA) y una columna de fase estacionaria polar HP-INNOWAX marca Agilent (polyethylen glicol, 30 m, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor; J & W Scientific, Folsom, CA, USA), La inyección se realizó en modo

Split (relación 40:1) a una velocidad de 1 mL/min, a una temperatura de 220°C y un con un volumen de inyección de 1 µL, el gas de arrastre empleado fue helio. Para la elución de los compuestos se utilizó el siguiente programa de temperatura: 50°C por 5 minutos, de 50°C a 180°C a 3°C/min; y finalmente de 180°C a 250°C a 15°C/min.

Se inyectó una muestra (1 µL) de cada AE en solución de diclorometano (1:100 v/v). El análisis se realizó por triplicado (Armijos *et al.*, 2020).

### **Cromatografía de gases/Detector de ionización de la flama**

El análisis cuantitativo se realizó empleando un cromatógrafo Agilent Technologies serie 6890 (Santa Clara, CA, USA) acoplado a un detector de ionización de flama (FID), y un autoinyector Agilent 7683 (Little Falls, DE, USA), se utilizaron la columna apolar DB-5MS y polar HP-INNOWAX. Las muestras de AE se analizaron bajo las mismas condiciones que las descritas para CG-MS.

### **Identificación y cuantificación**

La identificación de los compuestos volátiles del AE se realizó mediante la determinación de los índices de retención lineal (IR) de una serie de n-alcanos (C<sub>9</sub>-C<sub>25</sub>), inyectados en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX bajo las mismas condiciones de análisis del AE antes indicadas. Los IR y espectros de masas obtenidos se compararon con diferentes referencias bibliográficas (Adams, 2017), National Institute of Standards and Technology (NIST 05, 2005) y artículos científicos precedentes (Salinas *et al.*, 2020).

La cantidad porcentual de cada compuesto se determinó mediante la comparación del área del compuesto con el área total de los compuestos identificados, sin aplicar factor de corrección.

### **Propiedades físicas**

La densidad relativa se determinó a 20°C por medio de la norma AFNOR NFT 75-111. El índice de refracción se estableció mediante la norma AFNOR NFT 75-112 en un refractómetro marca ABBE. La rotación óptica específica se determinó mediante la norma ISO 592-1998 en un polarímetro Hanon P 810, 1 g de AE se aforó con diclorometano (99 % de pureza marca Merck). Cada ensayo se realizó con tres repeticiones.

### **Ensayo de inhibición de enzimas colinesterasas**

La inhibición de dos enzimas colinesterasas (ChEs), (i) acetilcolinesterasa (AChE, *of Electrophorus electricus*, Sigma-Aldrich, SRE020, St Louis MO.) y (ii) butirilcolinesterasa (BuChE, *of equine serum*, Sigma

Aldrich, SRE020, St. Louis MO.), responsables de hidrolizar la acetilcolina (Bosak *et al.*, 2018), se determinó mediante un procedimiento colorimétrico (Ellman *et al.*, 1961). El volumen usado para el análisis de inhibición contenía, 200 µL de solución salina tamponada con fosfato (pH=7.4), 1.5 mM de DTNB o reactivo de Ellman, y la muestra del AE disuelta en DMSO (1% v/v). Las dos enzimas AChE y BuChE fueron disueltas en la solución salina tamponada con fosfato (pH=7.4) y se tomaron 24 mU/mL para cada ensayo realizado, luego de 10 minutos de preincubación se añade el sustrato de yoduro de acetilcoline (1.5 mM) para iniciar la reacción. Transcurridos 30 minutos a 30°C, las microplacas de 96 pocillos fueron leídas en un equipo de detección Varioskan Flash (Thermofisher). Las mediciones se realizaron por triplicado para cada muestra de AE. Los valores de IC<sub>50</sub> se calcularon empleando el programa en línea GNUPLOT ([www.ic50.tk](http://www.ic50.tk), [www.gnuplot.info](http://www.gnuplot.info)). El inhibidor de referencia empleado fue donepezil, con IC<sub>50</sub> = 100 nM para AChE y 8500 nM para BuChE. Para el análisis se excluyeron los resultados falsos positivos (>100 µg/mL) que se pueden dar debido a la presencia de compuestos de tipo amina o aldehído (Rhee *et al.*, 2003).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El rendimiento promedio de AE de la especie *Bursera graveolens* (palo santo) fue 1.26% ± 0.081, densidad relativa a 20°C (1.029 ± 0.006), índice de refracción (1477 ± 0.001) y actividad óptica (+4.567 ± 0.323).

En la Tabla N° 1, se detalla los resultados del análisis cualitativo y cuantitativo de la composición química del AE estudiado en las columnas DB-5MS y HP-INNOWAX. Se lograron identificar 36 compuestos que representan el 98.54% del AE, la clase de compuestos volátiles más significativos fueron monoterpenos hidrocarbonados (70.01%), seguido de monoterpenos oxigenados (23.41%), en menor proporción se encuentran sesquiterpenos hidrocarbonados (4.95%) y en baja cantidad los sesquiterpenos oxigenados (0.10%). De estos resultados se puede inferir que la especie *B. graveolens* presenta preferencia para la biosíntesis de compuestos monoterpénicos, siendo los mayoritarios en el AE el limoneno (68.52%) y mentofurano (20.37%). El cromatograma del AE de *B. graveolens* se muestra en la Figura N° 2.

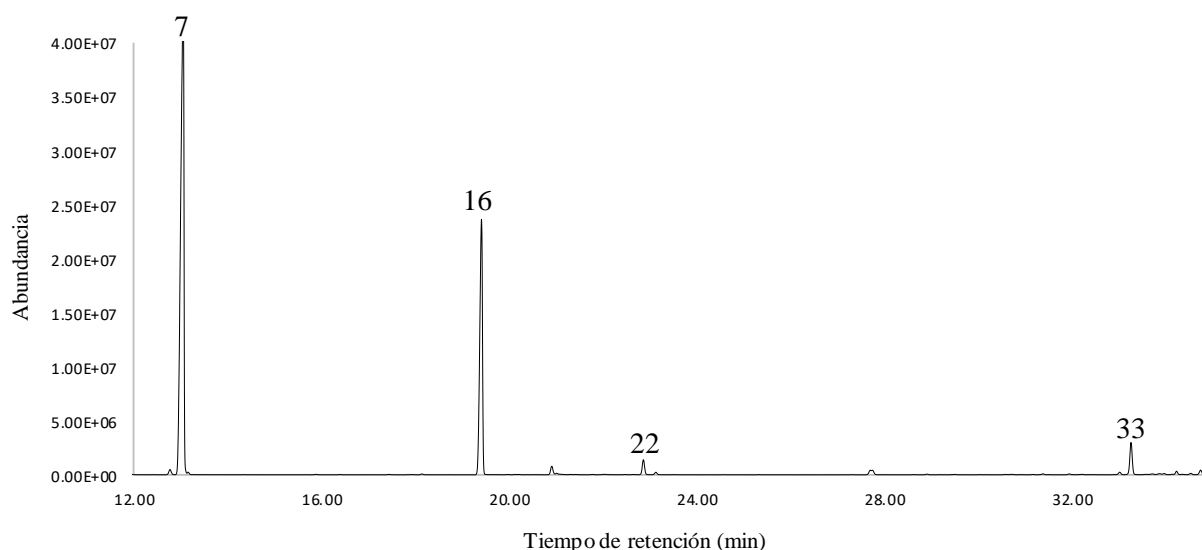
En la Tabla N° 2 se presenta la composición química de varios AEs de la especie *B. graveolens* colectadas en diferentes localidades de la costa oeste de Ecuador, en su composición se reporta el limoneno

como compuesto mayoritario.

Con respecto a la actividad inhibitoria, el valor de la concentración de inhibición  $IC_{50}$  frente a AChE fue 47.2  $\mu\text{g/mL}$  y para BuChE de 51.9  $\mu\text{g/mL}$ , estos resultados fueron comparados con los valores de inhibición del compuesto de control Donopezil, que presento una  $IC_{50}$  de 0.04  $\mu\text{g/mL}$  sobre AChE y 3.6  $\mu\text{g/mL}$  sobre BuChE, lo cual indica que el AE de *B. graveolens* resultó ser medianamente activo para inhibir ambas enzimas. El hecho de que el AE de *B. graveolens* no presente un mecanismo selectivo de inhibición sobre una de las dos enzimas tal como ocurre con otros AEs, podría estar vinculado con su composición química y el efecto sinérgico o

antagónico que ejercen entre si dichos componentes para lograr o no un mecanismo específico de inhibición (Espinosa *et al.*, 2019; Armijos *et al.*, 2020). La inhibición de BuChE y AChE es de gran interés para el estudio del tratamiento o relentización de la enfermedad del Alzheimer (Dhivya *et al.*, 2014) y otras enfermedades neurodegenerativas. La actividad inhibitoria del AE de palo santo para las dos enzimas no ha sido descrita previamente en la literatura y nuevos estudios son necesarios para establecer su potencial uso farmacológico o como agente de biocontrol (Abdelgaleil *et al.*, 2009; López y Pascual-Villalobos, 2010).

**Figura N° 2**  
**Cromatograma del aceite esencial de la especie *B. graveolens***



**Nota:** Cromatograma típico de la especie *B. graveolens* colectada en Jipijapa en la columna DB-5MS, los números indicados en los picos corresponden a los compuestos que se detallan en la Tabla N° 1

**Tabla N° 1**  
**Composición química del AE de la especie *B. graveolens* de Jipijapa en la columna DB-5MS y HP-INNOWAX.**

| Picos | Componentes          | IR A <sup>a</sup> | IR <sup>ref</sup> A | A <sup>b</sup>                   | IR P        | IR <sup>ref</sup> P     | P <sup>b</sup>                   |
|-------|----------------------|-------------------|---------------------|----------------------------------|-------------|-------------------------|----------------------------------|
| 1     | Canfeno              | 954               | 946                 | <i>t</i>                         | -           | -                       | -                                |
| 2     | $\alpha$ -Pineno     | -                 | -                   | -                                | 1067        | 1075 <sup>c</sup>       | 0.06 $\pm$ 0.06                  |
| 3     | Mirceno              | 997               | 988                 | 0.69 $\pm$ 0.01                  | -           | -                       | -                                |
| 4     | $\alpha$ -Felandreno | -                 | -                   | -                                | 1163        | 1150 <sup>d</sup>       | 1.10 $\pm$ 0.02                  |
| 5     | $\delta$ -3-Careno   | 1013              | 1008                | 0.39 $\pm$ 0.02                  | -           | -                       | -                                |
| 6     | o-Cimeno             | 1031              | 1022                | 0.34 $\pm$ 0.01                  | -           | -                       | -                                |
| 7     | <b>Limoneno</b>      | <b>1036</b>       | <b>1024</b>         | <b>68.52<math>\pm</math>0.08</b> | <b>1203</b> | <b>1205<sup>d</sup></b> | <b>69.18<math>\pm</math>1.10</b> |
| 8     | $\beta$ -Felandreno  | -                 | -                   | -                                | 1210        | 1215 <sup>e</sup>       | 0.91 $\pm$ 0.49                  |

|  |  |             |             |                   |             |                         |                   |
|--|--|-------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------------|-------------------|
| 9                                      | 1,8-Cineol                                     | 1038        | 1026        | 0.09±0.10         | 1213        | 1213 <sup>d</sup>       | 0.11±0.13         |
| 10                                     | p-Cimeno                                       |             |             |                   | 1276        | 1278 <sup>d</sup>       | 0.38±0.01         |
| 11                                     | Cimeneno                                       | 1096        | 1089        | 0.05±0.02         | 1446        | 1450 <sup>d</sup>       | <i>t</i>          |
| 12                                     | <i>trans</i> -Hidrato de sabineno (IPP vs. OH) | 1107        | 1098        | <i>t</i>          | -           | -                       | -                 |
| 13                                     | α-Cubebeno                                     | -           | -           | -                 | 1452        | 1456 <sup>f</sup>       | 0.07±0.00         |
| 14                                     | <i>trans</i> - <i>p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol   | 1129        | 1119        | 0.06±0.02         | -           | -                       | -                 |
| 15                                     | <i>trans</i> -Óxido de limoneno (Me vs. IPP)   | 1144        | 1137        | 0.07±0.00         | 1468        | 1463 <sup>g</sup>       | <i>t</i>          |
| 16                                     | <b>Mentofurano</b>                             | <b>1170</b> | <b>1159</b> | <b>20.37±0.09</b> | <b>1489</b> | <b>1483<sup>h</sup></b> | <b>19.78±0.08</b> |
| 17                                     | <i>trans</i> -Dihidrocarvona                   | 1203        | 1200        | 0.10±0.07         | -           | -                       | -                 |
| 18                                     | α-Cedreno                                      | -           | -           | -                 | 1554        | 1568 <sup>d</sup>       | 0.31±0.48         |
| 19                                     | 2,3-Dimetil-benzofurano                        | 1221        | 1219        | <i>t</i>          |             |                         |                   |
| 20                                     | Linalool                                       | -           | -           | -                 | 1572        | 1553 <sup>i</sup>       | 0.10±0.02         |
| 21                                     | β-Cubebeno                                     | -           | -           | -                 | 1581        | 1568 <sup>i</sup>       | 0.08±0.00         |
| 22                                     | <i>cis</i> -Carveol                            | 1227        | 1226        | 0.12±0.01         | -           | -                       | -                 |
| 23                                     | Pulegona                                       | 1245        | 1233        | 1.46±0.01         | 1656        | 1665 <sup>h</sup>       | 1.61±0.04         |
| 24                                     | Carvona  | 1251        | 1239        | 0.27±0.01         | 1749        | 1751 <sup>j</sup>       | 0.14±0.08         |
| 25                                     | 4αα,7α,7αα-Nepetalactona                       | 1355        | 1357        | 0.80±0.01         | -           | -                       | -                 |
| 26                                     | α-Copaeno                                      | 1382        | 1374        | 0.07±0.00         | -           | -                       | -                 |
| 27                                     | β-Elemeneno                                    | 1396        | 1389        | 0.07±0.01         | 1588        | 1578 <sup>j</sup>       | 0.08±0.00         |
| 28                                     | Antranilato de metilo                          | 1422        | 1414        | 0.05±0.00         | -           | -                       | -                 |
| 29                                     | β-Cedreno                                      | 1425        | 1419        | 0.10±0.09         | -           | -                       | -                 |
| 30                                     | β-Copaeno                                      | 1436        | 1430        | 0.08±0.01         | 1621        | 1613 <sup>k</sup>       | 0.18±0.02         |
| 31                                     | <i>cis</i> -Thujopseno                         | 1441        | 1429        | 0.10±0.00         | -           | -                       | -                 |
| 32                                     | α-Patchouleno                                  | 1455        | 1454        | 0.06±0.05         | -           | -                       | -                 |
| 33                                     | α-Humuleno                                     | 1460        | 1452        | <i>t</i>          | 1661        | 1661 <sup>e</sup>       | 0.08±0.01         |
| 34                                     | <i>E</i> -β Farneseno                          | -           | -           | -                 | 1672        | 1665 <sup>e</sup>       | 0.13±0.01         |
| 35                                     | α-Amorfeno                                     | -           | -           | -                 | 1681        | 1679 <sup>d</sup>       | 0.27±0.01         |
| 36                                     | γ-Muuroleno                                    | 1481        | 1478        | 0.33±0.01         | 1689        | 1682 <sup>k</sup>       | 0.08±0.01         |
| 37                                     | Germacreno D                                   | 1487        | 1480        | 2.65±0.01         | 1701        | 1700 <sup>e</sup>       | 1.95±0.04         |
| 38                                     | γ-Himachaleno                                  | 1495        | 1481        | 0.06±0.02         | -           | -                       | -                 |
| 39                                     | α-Terpineol                                    | -           | -           | -                 | 1719        | 1706 <sup>d</sup>       | 1.09±0.02         |
| 40                                     | Biciclogermacreno                              | 1502        | 1500        | 0.11±0.10         | -           | -                       | -                 |
| 41                                     | α-Muuroleno                                    | 1503        | 1500        | 0.21±0.05         | -           | -                       | -                 |
| 42                                     | α-Cupreneno                                    | 1509        | 1505        | <i>t</i>          | -           | -                       | -                 |
| 43                                     | ( <i>E,Z</i> )-α-Farneseno                     | -           | -           | -                 | 1727        | 1725 <sup>e</sup>       | 0.29±0.02         |
| 44                                     | γ-Cadineno                                     | -           | -           | -                 | 1752        | 1748 <sup>e</sup>       | 0.62±0.35         |
| 45                                     | ( <i>E,E</i> )-α-Farneseno                     | 1512        | 1505        | 0.65±0.04         | 1754        | 1758 <sup>d</sup>       | 0.29±0.49         |
| 46                                     | δ-Cadineno                                     | 1525        | 1522        | 0.39±0.03         | -           | -                       | -                 |
| 47                                     | Espatuleno                                     | 1583        | 1577        | 0.06±0.02         | -           | -                       | -                 |
| 48                                     | Carveol  | -           | -           | -                 | 1861        | 1861 <sup>j</sup>       | 0.11±0.02         |
| 49                                     | 4,6-Dimetoxi-5-vinil-1,2-benzodioxido          | 1650        | 1653        | <i>t</i>          | -           | -                       | -                 |
| 50                                     | α-Cadinol                                      | 1661        | 1652        | <i>t</i>          | -           | -                       | -                 |
| <b>Monoterpenos Hidrocarbonados</b>    |  |             |             | 70.01             |             |                         | 71.69             |
| <b>Monoterpenos Oxigenados</b>         |  |             |             | 23.41             |             |                         | 22.97             |
| <b>Sesquiterpenos Hidrocarbonados</b>  |  |             |             | 4.95              |             |                         | 4.43              |
| <b>Sesquiterpenos Oxigenados</b>       |  |             |             | 0.10              |             |                         | 0.00              |
| <b>Otros compuestos</b>                |  |             |             | 0.08              |             |                         | 0.00              |
| <b>Total, compuestos identificados</b> |  |             |             | 98.55             |             |                         | 99.09             |



**Notas: IR A, IR P, índices de retención en columnas apolar DB-5MS y polar HP-INNOWAX respectivamente**

<sup>a</sup>, Los componentes se enumeran en orden de elución de una comuna DB-5MS

<sup>b</sup>, Valores porcentuales promedio de las tres destilaciones en columna apolar DB-5MS y polar HP-INNOWAX respectivamente; *t*, trazas % < a 0,05; -, no identificado

IR<sup>ref</sup> A; índice de retención lineal acorde con (Adams, 2017).

IR<sup>ref</sup> P; índice de retención lineal acorde a la literatura: <sup>c</sup>ref (Formisano *et al.*, 2010), <sup>d</sup>ref (Maggio *et al.*, 2016), <sup>e</sup>ref (Paolini *et al.*, 2007), <sup>f</sup>ref (Couladis *et al.*, 2001), <sup>g</sup>ref (Laribi *et al.*, 2012), <sup>h</sup>ref (Pino *et al.*, 2019), <sup>i</sup>ref (Carroll *et al.*, 2011), <sup>j</sup>ref (Feng *et al.*, 2011), <sup>k</sup>ref (Solis-Quispe *et al.*, 2016).

**Tabla N° 2**

**Composición química y actividad biológica de diferentes AEs de la especie *B. graveolens* de Ecuador**

| Lugar/parte destilada                          | Grupos constituyentes   | Compuestos mayoritarios                        | Actividad                  | Referencia                     |
|--|---|--|----------------------------|--------------------------------|
| Jipijapa, Manabí / madera                      | Monoterpenos hidrocarbonados (70.01%), monoterpenos oxigenados (23.41%), sesquiterpenos hidrocarbonados (4.95%) y sesquiterpenos oxigenados (0.10%)   | Limoneno (68.52%) y mentofurano (20.37%)       | Inhibición de AChE - BuChE | Presente estudio               |
| Puerto López, Manabí / tallos                  | Monoterpenos (78.2%) y sesquiterpenos (9.6%)  | Limoneno (58.6%) y $\alpha$ -terpineol (10.9%) | -                          | (Young <i>et al.</i> , 2007)   |
| Manabí / tallos                                | Monoterpenos hidrocarbonados (35.4%), monoterpenos oxigenados (30.4%), sesquiterpenos hidrocarbonados (11.6%), sesquiterpenos oxigenados (16.3%), compuestos alifáticos (1%) y compuestos aromáticos ( %) | Limoneno (34.9%) y $\alpha$ -terpineol (13.4%) | Antioxidante               | (Fon-Fay <i>et al.</i> , 2019) |
| San José de Ancón, Santa Elena / ramas adultas | -   | Viridiflorol (70.82%)                          | Antiinflamatoria           | (Manzano <i>et al.</i> , 2009) |

**Nota: Estudios de la composición química y actividad biológica de la especie *B. graveolens* en la costa ecuatoriana**

## CONCLUSIONES

La composición química del AE de la especie *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch de Jipijapa, Ecuador, presenta similitud con la de otros estudios desarrollados para la misma especie en la costa (oeste) y la parte andina (sur) del Ecuador. En tal sentido, ha sido posible determinar que los monoterpenos

hidrocarburos constituyen el principal grupo químico de compuestos aromáticos presentes en los AEs de palo santo del Ecuador. Los componentes mayoritarios identificados en el AE fueron limoneno (68.52%) y mentofurano (20.37%). El AE presentó valores de inhibición IC<sub>50</sub> de 47.2 para AChE y 51.9 µg/mL para BuChE.

En Ecuador, la colecta de los frutos (Valle del palo santo, Zapotillo-Loja) y los árboles de palo santo (*B. graveolens*) que de forma natural caen al piso (Bosque de Sancán, Jipijapa-Manabí) para obtener AE, constituyen una fuente de ingresos para la economía de las comunidades que habitan dentro del bosque, basadas exclusivamente en la cría de cabras y obtención de miel de abeja, respectivamente. Promover proyectos de investigación sustentable que permitan conocer la composición química, actividad

biológica, farmacológica y/o posibles aplicaciones agroindustriales del AE, garantiza que dichas comunidades puedan mantener sus emprendimientos durante el tiempo.

### AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a la Universidad Técnica Particular de Loja, por el apoyo para la realización de este trabajo.

### REFERENCIAS

- Abdelgaleil SAM, Mohamed MIE, Mohamed MEI, Badawy MEL, El-Arami SAA. 2009. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. **J Chem Ecol** 35: 518 - 525. <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9635-3>
- Adams RP. 2017. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Allured Pub. Corp., Illinois, USA.
- Armijos C, Matailo A, Bec N, Salinas M, Aguilar G, Solano N, Calva J, Ludeña C, Larroque C, Vidari G. 2020. Chemical composition and selective BuChE inhibitory activity of the essential oils from aromatic plants used to prepare the traditional Ecuadorian beverage *horchata lojana*. **J Ethnopharmacol** 263: 1 - 12. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113162>
- Bosak A, Ramic A, Smidlehner T, Hrenar T, Primožic I, Kovarik Z. 2018. Design and evaluation of selective butyrylcholinesterase inhibitors based on Cinchona alkaloid scaffold. **PLoS One** 13: 1 - 18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205193>
- Carroll JF, Tabanca N, Kramer M, Elejalde NM, Wedge DE, Bernier UR, Coy M, Becnel JJ, Demirci B, Can Başer KH, Zhang J, Zhang S. 2011. Essential oils of *Cupressus funebris*, *Juniperus communis*, and *J. chinensis* (Cupressaceae) as repellents against Ticks (Acari: Ixodidae) and mosquitoes (Diptera: Culicidae) and as toxicants against mosquitoes. **J Vector Ecol** 36: 258 - 268. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00166.x>
- Couladis M, Tzakou O, Stojanovic D, Mimica-Dukic N, Jancic R. 2001. The essential oil composition of *Salvia argentea* L. **Flavour Fragr J** 16: 227 - 229. <https://doi.org/10.1002/ffj.989>
- De la Torre L, Navarrete H, Muriel P, Macía M, Balslev H. 2008. **Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador**. Herbario QCA & Herbario AAU. Quito, Ecuador.
- Dhivya P, Sobiya M, Selvamani P, Latha S. 2014. An approach to Alzheimer's disease treatment with cholinesterase inhibitor activity from various plant species. **Int J PharmTech Res** 6: 1450 - 1467.
- Ellman GL, Courtney KD, Valentino A, Featherstone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochem Pharmacol** 7: 88 - 90. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Espinosa S, Bec N, Larroque C, Ramirez J, Sgorbini B, Bicchi C, Gillardoni G. 2019. Chemical, enantioselective, and sensory analysis of a cholinesterase inhibitor oil from *Coreopsis triloba* S.F. Blake (Asteraceae). **Plants** 8: 448. <https://doi.org/10.3390/plants8110448>
- Feng T, Cui J, Xiao Z, Tian H, Yi F, Ma X. 2011. Chemical composition of essential oil from the peel of chinese *Torreya grandis* Fort. **Org Chem Int** 2011: 1 - 5. <https://doi.org/10.1155/2011/187372>
- Fon-Fay FM, Pino JA, Hernández I, Rodeiro I, Fernández MD. 2019. Chemical composition and antioxidant activity of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana et Planch essential oil from Manabí, Ecuador. **J Essent Oil Res** 31: 211 - 216. <https://doi.org/10.1080/10412905.2018.1564381>
- Formisano C, Senatore F, Bancheva S, Bruno M, Rosselli S. 2010. Volatile components from aerial parts of *Centaurea spinosociliata* Seenus ssp. *cristata* (Bartl.) dostál and *Centaurea spinosociliata* Seenus ssp. *spinosociliata* growing wild in Croatia. **Croat Chem Acta** 83: 403 - 408.
- Jørgesen P, León-Yáñez S. 1999. Catalogue of the vascular plants of Ecuador. **Monogr Syst Bot Missouri Bot Gard** 75: 1 - 1182.



- Laribi B, Kouki K, Bettaieb T, Mougou A, Marzouk B. 2012. Comparative GC analysis of seed essential oils from tunisian and german caraway (*Carum carvi* L.) ecotypes. **Phcog Commun** 2: 52 - 57.
- López MD, Pascual-Villalobos MJ. 2010. Mode of Inhibition of Acetylcholinesterase by Monoterpenoids and Implications for Pest Control. *Ind Crops Prod* 31: 284 – 88. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.11.005>
- Maggio A, Bruno M, Guarino R, Senatore F, Ilardi V. 2016. Contribution to a taxonomic revision of the Sicilian *Helichrysum taxa* by PCA analysis of their essential-oil compositions. **Chem Biodivers** 13: 151 - 59. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201500052>
- Manzano P, Miranda M, Gutiérrez Y, García G, Orellana T, Orellana A. 2009. Antinflammatory effect and chemical composition of *Bursera graveolens* Triana & Planch. branch oil (palo santo) from Ecuador. **Rev Cuba Plant Med** 14: 45 - 53.
- Monzote L, Hill GM, Cuellar A, Scull R, Setzer WN. 2012. Chemical composition and anti-proliferative properties of *Bursera graveolens* essential oil. **Nat Prod Commun** 7: 1531 - 34. <https://doi.org/10.1177/1934578x1200701130>
- Muñoz-Acevedo A, Serrano-Urbe A, Parra-Navas X, Olivares-Escobar LA, Niño-Porras ME. 2013. Análisis multivariable y variabilidad química de los metabolitos volátiles presentes en las partes aéreas y la resina de *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch. de Soledad (Atlántico, Colombia). **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 12: 332 - 337.
- NIST (National Institute of Science and Technology). 2005. **Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH)**. Data from NIST Standard Reference Database69.
- Paolini J, Muselli A, Bernardini A-F, Bighelli A, Casanova J, Costa J. 2007. Thymol derivatives from essential oil of *Doronicum corsicum* L. **Flavour Fragr J** 22: 479 - 487. <https://doi.org/10.1002/ffj.1824>
- Pino JA, Dueñas-Mendoza MM, Solís-Quispe L. 2019. Chemical composition of the essential oil from *Minthostachys acris* Schmidt-Leb. grown in the Peruvian Andes. **Nat Prod Commun** 14: 1 - 3. <https://doi.org/10.1177/1934578X19857490>
- Rey-Valeirón C, Guzmán L, Saa LR, López-Vargas J, Valarezo E. 2017. Acaricidal activity of essential oils of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch and *Schinus molle* L. on unengorged larvae of cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **J Essent Oil Res** 29: 344 - 350. <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1278405>
- Rhee IK, Van Rijn RM, Verpoorte R. 2003. Qualitative determination of false-positive effects in the acetylcholinesterase assay using thin layer chromatography. **Phytochem Anal** 14: 127 - 131. <https://doi.org/10.1002/pca.675>
- Salinas M, Bec N, Calva J, Ramirez J, Andrade Morocho JM, Larroque C, Vidari G, Armijos C. 2020. Chemical composition and anticholinesterase activity of the essential oil from the Ecuadorian plant *Salvia pichinchensis* Benth. **Rec Nat Prod** 14: 276 - 285. <http://doi.org/10.25135/rnp.164.19.07.1342>
- Solis-Quispe L, Tomaylla-Cruz C, Callo-Choquelvica Y, Solís-Quispe A, Rodeiro I, Hernández I, Fernández MD, Pino JA. 2016. Chemical composition, antioxidant and antiproliferative activities of essential oil from *Schinus areira* L. and *Minthostachys spicata* (Benth.) Epl. grown in Cuzco, Perú. **J Essent Oil Res** 28: 234 - 240. <https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1120691>
- Valarezo B. 2014. Aceite de palo santo, Un modelo de gestión. **Rev Perspectivas Invest** N° de Julio.
- Young DG, Chao S, Casablanca H, Bertrand MC, Minga D. 2007. Essential oil of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana et Planch from Ecuador. **J Essent Oil Res** 19: 525 - 526. <https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699322>