

CONTENIDO GENERAL

	Página
1.- INTRODUCCIÓN	13
1.1.- Composición química y origen botánico del propóleo	13
1.2.- Actividad biológica	20
1.3.- Propóleo en Bolivia	21
1.4.- Propóleo en Chile	22
1.5.- Hipótesis	24
1.6.- Objetivos	25
1.6.1.- Objetivo general	25
1.6.2.- Objetivo específico	25
2.- MATERIALES Y MÉTODOS	25
2.1.- Reactivos	25
2.2.- Propóleos de Bolivia	26
2.2.1.- Muestras	26
2.2.2.- Preparación de extractos	26
2.2.3.- Análisis por TLC y NMR	27
2.2.4.- Análisis por HPLC-DAD	28
2.2.5.- Análisis por HPLC-ESI-MS/MS	28
2.2.6.- Aislamientos de compuestos	29
2.2.6.1.- Separación por columna cromatográfica	29
2.2.6.2.- Cromatografía en contracorriente de alta velocidad (HSCCC)	31
2.3.- Propóleos de Chile	33
2.3.1.- Muestras	33
2.3.2.- Preparación de extractos	33
2.3.3.- Análisis por HPLC-DAD-ESI-MS/MS	33
2.3.4.- Aislamientos de compuestos	34
2.3.4.1.- Separación por columna cromatográfica	34
2.3.4.1.- Cromatografía en contracorriente de alta velocidad (HSCCC)	35
2.4.- Identificación y elucidación estructural	36
2.4.1.- Análisis por espectroscopia infrarroja (FT-IR)	36
2.4.1.- Análisis por espectrometría de masas QTOF	36
2.4.2.- Análisis por resonancia magnética nuclear (^1H -RMN y ^{13}C -RMN)	37
2.5.- Determinación de fenoles y flavonoides totales	37
2.6.- Ensayos de capacidad antioxidante	37
2.6.1.- Decoloración del radical DPPH	37

2.6.2.- Ensayo de FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	38
2.6.3.- Ensayo de TEAC (Trolox equivalente antioxidant activity)	38
2.7.- Análisis estadístico	39
3.- RESULTADOS	39
3.1.- Propóleos de Bolivia	39
3.1.1.- Análisis por TLC y RMN	39
3.1.2.- Análisis por HPLC	40
3.1.3.- Identificación de compuestos fenólicos por HPLC-ESI-MS/MS	40
3.1.4.- Identificación de compuestos triterpénicos	41
3.1.5.- Contenido de fenoles y flavonoides totales	42
3.1.6.- Actividad antioxidante	42
3.2.- Propóleos de Chile	51
3.2.2.- Análisis por HPLC	51
3.2.3.- Identificación de compuestos fenólicos por HPLC-ESI-MS/MS	51
3.1.4.- Identificación de compuestos	52
3.1.5.- Contenido de fenoles y flavonoides totales	53
3.1.6.- Actividad antioxidante	55
4.- DISCUSIÓN	63
4.1.- Propóleos de Bolivia	63
4.1.1.- Propóleos ricos en compuestos fenólicos	63
4.1.2.- Propóleos ricos en triterpenos	64
4.2.- Propóleos de Chile	66
5.- CONCLUSIÓN	69
BIBLIOGRAFÍA	70
ANEXOS	81

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Localización, fuente botánica y composición química de propóleos.	16
Tabla 2. Lugares de recolección de propóleos en Bolivia.	26
Tabla 3. Lugares de recolección de propóleos en la Región del Maule, Chile.	33
Tabla 3. Identificación de compuestos fenólicos en propóleos de Bolivia por análisis de HPLC-ESI-MS/MS.	45
Tabla 5. Rendimiento de extracción, contenido total de fenoles (TP), flavonoides (TF) y actividad antioxidante (DPPH, FRAP y TEAC) en propóleos de Bolivia.	50
Tabla 6. Identificación de compuestos fenólicos en propóleos de La Región del Maule por análisis de HPLC-ESI-MS/MS.	59
Tabla 7. Listado de señales de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de diarilheptanoides 28 y 29 (400 MHz para ^1H y 100 MHz para ^{13}C , CDCl_3 , valores δ , J en Hz).	60
Tabla 8. Listado de señales de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN del diterpeno, ácido poilaneico 34 . (400 MHz para ^1H y 100 MHz para ^{13}C , CDCl_3 , valores δ , J en Hz).	61
Tabla 9. Rendimiento de extracción, contenido total de fenoles (TP), flavonoides (TF) y actividad antioxidante (DPPH, FRAP y TEAC) en propóleos de la Región del Maule.	62

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

	Página
Figura 1. Principales compuestos reportados en propóleos.	18
Figura 2. Mapa de Bolivia con los puntos de recolección de propóleo: La Paz (A: El Sillar; B: Villa Coroico); Cochabamba (C: Chapare; D: Valle Alto); Chuquisaca (E: Sucre); Tarija (F, San Andres); Santa Cruz (G: Camiri; H: Okinawa).	27
Figura 3. Mapa Región del Maule mostrando los lugares de recolección de propóleo: Vilches (A); Cumpeo (B); Romeral (C); San Clemente (D); San Javier (E); Curepto (F)	34
Figura 4. Perfiles cromatográficos de HPLC-DAD, propóleos de Bolivia ricos en compuestos fenólicos. Detección UV a 254 nm.	43
Figura 5. Perfiles cromatográficos de HPLC-DAD, propóleos de Bolivia ricos en triterpenos.	44
Figura 6. Estructura de compuestos fenólicos identificados en propóleos de Bolivia.	46
Figura 7. Estructura de triterpenos identificados en propóleos de Bolivia.	49
Figura 8. Perfiles cromatográficos de propóleos de la Región del Maule. Detección UV a 254 nm.	54
Figura 9. Estructura de compuestos fenólicos identificados en propóleos de la Región del Maule.	56
Figura 10. Estructura de compuestos nuevos identificados en propóleos de la Región del Maule.	58

ABREVIATURAS

° C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico
α -TNF	Factor de necrosis tumoral
BF ₄	Tetrafluoruro de boro
cAMP	Adenosin monofosfato cíclico
CAPE	Caffeic acid phenetyl ester (ácido cafeico fenetil ester)
CC	Cromatografía en columna
cm	Centímetro
<i>d</i>	Doblete (en conexión con datos de RMN)
<i>dd</i>	Doble doblete (en conexión con datos de RMN)
<i>ddd</i>	Triple doblete (en conexión con datos de RMN)
DAD	Detector con arreglo de diodos
EtOAc	Acetato de etilo
GC-MS	Cromatografía de gases acoplado a Espectrometría de Masas
HMBC	Hetero nuclear multiple bond correlation
HSCCC	Cromatografía en contra corriente de alta velocidad
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
LPS	Lipopolisacárido
MeOH	Metanol
MHz	Mega Hertz
<i>m</i>	Multiplete (en conexión con datos de RMN)
m.s.n.m	metros sobre el nivel del mar
nm	nanómetros
NO	Óxido nítrico
NPR	Natural product reagent
O ₂ ^{·-}	Anión superóxido
PE	Éter de petróleo
ppm	Partes por millón
PTFE	Politetrafluoroetileno
R _f	Coefficiente de reparto
RMN	Resonancia magnética nuclear
R _t	Tiempo de retención
ROS	Especies reactivas del oxígeno
RNS	Especies reactivas del nitrógeno
<i>s</i>	Singlete (en conexión con datos de RMN)
SC ₅₀	Concentración atrapadora al 50 %
<i>t</i>	Triplete (en conexión con datos de RMN)
TLC	Cromatografía en capa fina
UV	Ultravioleta