



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO QUÍMICO DE UNA MUESTRA DE PROPÓLEO
RECOLECTADA EN LA DELEGACIÓN TLALPAN, CIUDAD
DE MÉXICO**

T E S I S

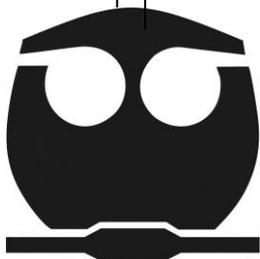
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

Marco Tulio Alducin Téllez

DIRECTOR DE TESIS

Dr. José Fausto Rivero Cruz



Ciudad Universitaria Cd. Mx., 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

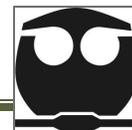


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



JURADO ASIGNADO

- Presidente:** Dra. María Isabel Aguilar Laurents
- Vocal:** Dra. Rachel Mata Essayag
- Secretario:** Dr. José Fausto Rivero Cruz
- 1er. suplente:** Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano
- 2do. suplente:** Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar

Sitio donde se desarrolló el proyecto:

Laboratorio 111, Edificio E

Facultad de Química, UNAM

Dr. Jose Fausto Rivero Cruz
Asesor del tema

M. en C. Jessica Granados Pineda
Asesora técnica

SUSTENTANTE
Marco Tulio Alducin Téllez



Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme realizar los estudios de bachillerato y licenciatura.

Al los Drs. Jessica Granados Pineda y José Fausto Rivero Cruz por su apoyo, tiempo y asesoría brindado para la realización de este trabajo.

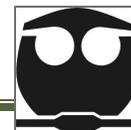
A los MVZ Adriana Correa Benítez y Ángel Ramírez López por proporcionar la muestra de propóleo.

A los miembros del jurado por la revisión del manuscrito y la corrección del mismo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero a través del proyecto de Ciencia Básica 252006 y al proyecto PAIP 5000-9138.

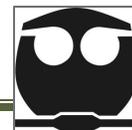


Dedicatoria



ÍNDICE

	1
II. Lista de Cuadros	6
III. Lista de Abreviaturas	7
1. INTRODUCCIÓN	8
2. ANTECEDENTES	10
2.1 <i>El propóleo</i>	10
2.1.1 Definición y generalidades	10
2.3 <i>Especificaciones del propóleo conforme a la NOM-003-SAG/GAN-2017</i>	17
2.5. <i>Actividad biológica y farmacológica</i>	21
2.5.1 Actividad anticancerosa	21
2.5.2 Actividad antitumoral	21
2.5.3 Actividad Inmunológica	22
2.5.4 Actividad antifúngica	22
2.5.5 Actividad antiparasitaria	22
2.5.6 Actividad antimicrobiana	22
2.5.7 Actividad antiviral	23
2.5.8 Actividad antiinflamatoria y cicatrizante	23
2.5.9 Actividad antioxidante	24
4. OBJETIVOS	27
4.1 Objetivo general	27
5. Desarrollo experimental	28
5.1. Recolección del material de estudio	28
5.2 Métodos generales de análisis	28
5.2.1. Análisis cromatográficos	28
5.2.2 Determinación de las constantes espectroscópicas	29
5.3.1. Preparación del extracto etanólico del propóleo	29
5.3.2. Fraccionamiento primario de EEP del propóleo recolectado en la Delegación Tlalpan	29
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
6.1. Caracterización estructural de los metabolitos aislados	36
7. CONCLUSIONES	42
8. PERSPECTIVAS	43
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
10. REFERENCIAS ELECTRÓNICAS	54
ANEXO	57



I. Lista de Figuras

Figura 1. *Apis mellifera* (Fundación UNAM).

Figura 2. Muestra de propóleo.

Figura 3. Distribución geográfica de los tipos de propóleo (Salatino *et al.*, 2011).

Figura 4. Composición porcentual del propóleo.

Figura 5. Regiones apícolas en México (Tomado de Claridades Agropecuarias)

Figura 6. Flavonoides. Estructura básica y tipos (Martínez, 2002)

Figura 7. Bosque de Tlalpan.

Figura 8. Resumen general del estudio químico de una muestra de propóleo recolectado en la Delegación Tlalpan, ciudad de México.

Figura 9. Climas de México. INEGI 2016.

Figura 9. Espectro de RMN-¹H de la sakuranetina (**1**), CDCl₃ (400 MHz).

Figura 10. Experimento 1D-NOE diferencial de la sakuranetina (**1**), CDCl₃ (400 MHz).

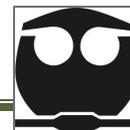
Figura 11. Estructuras de los compuestos aislados del EEP de Tlalpan, CDMX

II. Lista de Cuadros

Cuadro 1. Tipo de propóleo de acuerdo a la región geográfica y a la fuente vegetal (Salatino *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Fraccionamiento Primario de F-CH₂Cl₂-Acetona ya agrupadas por similitud en CCF.

Cuadro 3. RMN-¹H de los compuestos aislados del EEP.



III. Lista de Abreviaturas

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
EEP	Extracto etanólico de propóleo
CCF	Cromatografía en capa fina
CCA	Cromatografía en columna abierta
VLC	Columna a presión reducida
UV	Luz ultravioleta
nm	Nanómetro
°C	Grado centígrado
EV	Electrón-Volts
RMN- ¹ H	Resonancia magnética nuclear protónica
RMN- ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
δ	Desplazamiento químico
MHz	Mega Hertz
ppm	Partes por millón
TMS	Tetrametilsilano
F-hex	Fracción hexánica
F-AcOEt	Fracción de acetato de etilo
g	Gramos
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
FX	Fracción
cm	Centímetro
mg	Miligramos
H ₂ O	Agua
EMIE	Espectrometría de masas por impacto electrónico
EtOH	Etanol
MeOH	Metanol
OMS	Organización Mundial de la Salud
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
ROS	Especies reactivas de oxígeno
O ₂ ⁻	Radical superóxido
COX	Ciclooxigenasa
LOX	Lipooxigenasa
CAPE	Fenil éster del ácido cafeico



1. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional es reconocida hoy como un recurso fundamental para la salud, México cuenta con una rica historia en este tipo de medicina y en los últimos años ha tomado un gran popularidad, debido a las ventajas que presenta frente a los medicamentos alopáticos, como un índice menor de reacciones adversas o la baja resistencia generada.

Es importante mencionar que México posee una riqueza de flora y fauna, por lo que no es de sorprender que las plantas medicinales y otros productos de origen natural formen parte esencial de las estrategias generadas por la población para enfrentar sus enfermedades cotidianas. Esto no solo se da en el medio indígena rural, sino entre poblaciones mestizas en zonas urbanas y suburbanas, como resultado de la diversidad biológica del país y de la necesidad de recursos accesibles frente a los diversos padecimientos (Martínez, 2010).

Actualmente, los consumidores y la industria han fijado más su atención hacia los productos naturales, lo cual genera una necesidad de buscar nuevas fuentes de los mismos o nuevos usos. Los productos apícolas y sus propiedades biológicas, como es el caso del propóleo, son algunos de los más estudiados durante la última década.

El propóleo es un producto de la colmena formado por resinas que las abejas recolectan de ciertas plantas, en particular de flores y brotes de hojas, las cuales mezclan con la saliva, enzimas y otras secreciones propias de las abejas (Farré *et al.*, 2004). Esta resina es usada como un protector natural contra microorganismos patógenos y hongos, protege contra el frío durante el invierno y actúa como material de sellado en las paredes externas e internas de la colmena para reducir la entrada de insectos (Marcucci *et al.*, 2001; Papotti *et al.*, 2012).



Este producto es muy apreciado por sus diversas actividades biológicas las cuales están relacionadas con su origen botánico, época de recolección y la especie de abeja recolectora (Manrique y Santana, 2008; Gregoris *et al.*, 2011).

El propóleo es un producto del cual se han identificado más de 300 compuestos diferentes hasta el momento. Su capacidad antibacteriana, antiséptica, antiinflamatoria, antifúngica, anestésica y propiedades curativas han sido evaluadas en modelos *in vitro* e *in vivo*. El propóleo ha sido utilizado con eficacia en afecciones dermatológicas, problemas ginecológicos, enfermedades neurodegenerativas, en la cicatrización de heridas y en el tratamiento de quemaduras y úlceras (Kuropatnicki *et al.*, 2013).

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes como los rayos ultravioleta, la contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos, de ahí la importancia para su estudio (Martínez, 2002). Entre los componentes del propóleo se encuentran las flavononas, flavonas, ácidos fenólicos y sus ésteres, los cuales se han recolectado en zonas templadas (Bankova 2005).

Como se ha demostrado, el propóleo tiene muchos usos, sin embargo el estudio de esta resina en México es escaso a comparación de otros países como Brasil. Si tomamos en consideración que cada propóleo cambia en composición dependiendo del tipo de abeja y de la zona climática de donde se recolecta, eso nos brinda un nuevo panorama para el estudio del propóleo en México.

2. ANTECEDENTES

2.1 El propóleo

2.1.1 Definición y generalidades

El propóleo es una mezcla resinosa natural producida por las abejas, a partir de las sustancias recogidas de las plantas de brote y de exudados. La palabra propóleo se deriva del griego *pro* que significa “en frente de” y *polis* que significa “comunidad o ciudad” lo que se puede interpretar como “defensa de colmena” (Wagh, 2013).

También conocido como “pegamento de la abejas”, es aromático y de color variable desde amarillo-verdoso hasta café, es suave y pegajoso a temperaturas elevadas, en cambio a temperaturas bajas y con el paso del tiempo se endurece (Lotfy, 2006).

La especie *Apis mellifera* (**Figura 1**) forma parte de la familia *Apidae*, es la abeja que produce el propóleo y es común en América del Norte, con especial prevalencia en algunas partes desérticas tales como matorrales y desiertos de Sonora, Coahuila, Durango y Zacatecas (Colección Nacional de Insectos, Instituto de Biología, UNAM).



Figura 1. *Apis mellifera* posada sobre un tronco (Colección Nacional de Insectos, Instituto de Biología UNAM).

El propóleo es un material pegajoso de color oscuro que las abejas fabrican a partir de los exudados o secreciones de las plantas vivas, lo mezclan con cera y lo utilizan en la construcción y adaptación de sus colmenas, principalmente para rellenar grietas (Burdock, 1998). Es también usado para embalsamar pequeños animales muertos

evitando su putrefacción cuando no pueden ser retirados de la colmena (Niraldo, 2005).

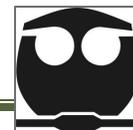


Figura 2. Muestra de propóleo. Tomada por José Fausto Rivero Cruz, en laboratorio 111.

El hombre le ha dado muchos usos al propóleo al largo de su historia y actualmente es utilizado en los productos destinados a aplicaciones tópicas. Existen bases de datos sobre la actividad biológica y la toxicidad del propóleo que indica que tiene actividad como antibacteriano, antifúngico, antiviral, citotóxico, astringente, colerético espasmolítico, antiinflamatorio, anestésico, antioxidante y otras propiedades (Burdock, 1998).

2.2. Composición Química

Sabemos que el propóleo es un material resinoso consecuencia de la mezcla de exudados de las plantas que las abejas recogen y mezclan con cera, para su uso como un sellador antimicrobiano en la colmena. Esto nos habla que la composición química cualitativa y cuantitativamente es variable (*Bankova et al., 2007; Salatino et al., 2011*). La proporción de éstos es variable y depende de factores como la época de recolección, el origen vegetal de la resina y también es importante la raza de abejas (Chaillou, 2005).



El tipo de planta es el principal determinante de la composición química del propóleo, ya que este factor influye en las propiedades biológicas del propóleo de una región en particular, por lo que es importante la procedencia geográfica, para asegurar una composición coherente de propóleo y lograr la mejor estandarización posible (Sforcin y Bankova, 2011; Papotti *et al.*, 2012).

Algunos estudios apuntan que el propóleo posee una composición química aproximada de 55% en resinas y bálsamos aromáticos (compuestos fenólicos como los flavonoides, flavonas, ácidos aromáticos, aldehídos aromáticos, cumarinas, terpenos, triglicéridos fenólicos), 30% ceras, 10% de aceites esenciales y 5% de polen (**Figura 4**). Además de ello, se han identificado otros constituyentes como ácidos orgánicos, aminoácidos, ésteres, alcoholes, aldehídos y terpenos (Silici S., Kutluca S. 2005; Sahinler N., Kaftanoglu O. 2005). Esta resina también contiene pequeñas cantidades de azúcares simples, polisacáridos, vitaminas como la B₁, B₂, B₆, C y E, antioxidantes, además de minerales como la plata, cesio, mercurio, lantano, antimonio, cobre, magnesio, hierro, calcio, aluminio, vanadio y silicio (Marcucci, *et al.*, 1994; Bankova, V *et al.*, 2009; Bernal y Marrero, 2007) Otros estudios se están enfocando en determinar la composición química de los extractos etanólicos (EEP) y acuosos del propóleo, así como la composición de sus compuestos volátiles (Vargas *et al.*, 2014). Los compuestos aislados en forma recurrente de los EEP son polifenoles incluyendo flavonoides y ácidos fenólicos relacionados, los flavonoides son la parte más abundante y efectiva (Volpert y Elstner, 1993). Estos compuestos son los principales responsables de las actividades antibacteriana, antiviral y antioxidante descrita para los EEP. Los principales flavonoides descritos en los EEP son la pinocembrina, galangina, crisina, quercetina, campferol y naringenina (Vargas *et al.*, 2014; Volpert y Elstner, 1993)

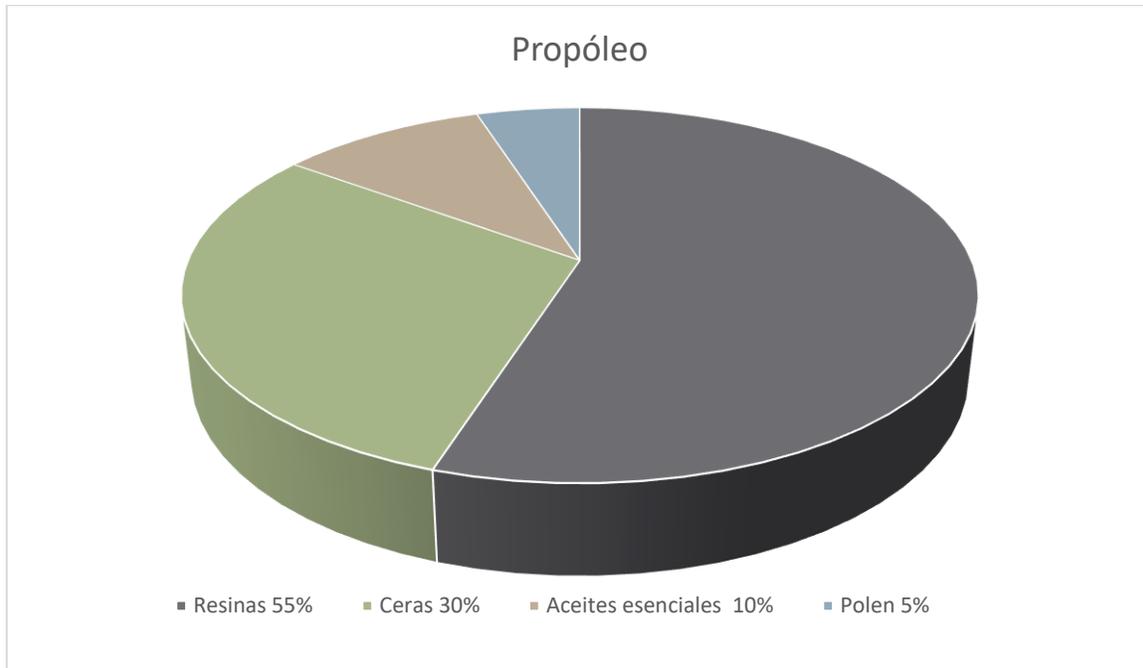


Figura 4. Composición porcentual del propóleo.

Los polifenoles constituyen mezclas complejas que contienen compuestos representativos de diversos grupos estructurales, destacándose entre los mismos los flavonoides y las agliconas, a los cuales se les atribuye las propiedades antibacterianas, fungicidas, antivirales, y antioxidantes, así como también los ácidos fenólicos y sus ésteres (Papotti *et al.*, 2012).

El conocimiento de la actividad biológica de los tipos de propóleo es un estímulo para investigar la química de sus fuentes vegetales con mayor profundidad. Varias sustancias vegetales ganaron amplio interés solamente después de que se han evaluado la actividad de los constituyentes del propóleo. Actualmente es aceptado y químicamente demostrado que, en las zonas templadas como Europa, Norte América y regiones no tropicales de Asia, la principal fuente de propóleo son los exudados de los brotes de las especies *Populus* y sus híbridos (Salatino *et al.*, 2011). En el **Cuadro 1** se resumen algunos de los componentes químicos de acuerdo a la fuente vegetal y región geográfica.



En las zonas templadas la mayor parte del propóleo procede del exudado de brotes de álamos pertenecientes al género *Populus spp.*; en la zona septentrional de Rusia, de los brotes de *Betula verrucosa* y de *Populus tremula*; en las regiones mediterráneas de *Populus nigra* y de las hojas de *Cistus spp.* En Brasil, procede de las hojas de especies de *Baccharis dracunculifolia*; en Venezuela y Cuba de la resina floral del género *Clusia* (Farooqui *et al.*, 2012).

La biodiversidad del propóleo en el mundo es tan basta, que en cada región se pueden encontrar diferentes compuestos que los conforman, como ejemplo en los propóleos europeos, se han encontrado flavanonas, flavonoles, ácidos fenólicos y sus ésteres, así como ácido caféico, ácido ferúlico, los cuales se han recolectado en zonas templadas de los brotes de álamos (Bankova, 2005). En el **Cuadro 1** se resumen los componentes aislados de los propóleos estudiados alrededor del mundo.

Cuadro 1. Tipo de propóleo de acuerdo a la región geográfica y a la fuente vegetal (Salatino *et al.*, 2011).

Región geográfica	Tipo de propóleo	Fuente vegetal probable	Componentes químicos principales	Referencia bibliográfica
Regiones templadas	Álamo	Sección del <i>Populus</i> Aigeiros	Los flavonoides con anillo B sustituido, ésteres de ácido caféico	Bankova <i>et al.</i> , 2000
América del sur				
Sur de Brasil		<i>Araucaria</i> spp	Diterpenoides	Bankova <i>et al.</i> , 1996
Brasil, centro y sureste	Verde	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Diterpenos, Fenilpropanoides prenilados	Banskota <i>et al.</i> , 1998; Kumazawa <i>et al.</i> 2003
Brasil, noreste	Rojo	<i>Dalbergia ecastophyllum</i> , <i>Clusia</i> spp.	isoflavonoides, neoflavonoides, Lignanos, poli prenilados Benzofenonas	Trusheva <i>et al.</i> , 2006 Daugusch <i>et al.</i> , 2007
América del Norte y Central				
El Salvador		Coníferas	Glucósidos Labdano, Chalconas	Popova <i>et al.</i> , 2011
México		<i>Populus</i>	Los flavonoides con un anillo no sustituido, ésteres del ácido fenilpropanoico	Li <i>et al.</i> , 2010
Canadá		Álamo	Flavonoides, ésteres fenilpropanoico, <i>p</i> -hidroxiacetofenona	García-Viguera <i>et al.</i> , 1993; Christov <i>et al.</i> , 2006
Estados Unidos		Álamo	Flavonoides	Johnson <i>et al.</i> , 1994

Cuadro 1. Tipo de propóleo de acuerdo a la región geográfica y a la fuente vegetal (Salatino *et al.*, 2011).

Región geográfica	Tipo propóleo	Fuente vegetal probable	Componentes químicos principales	Referencia bibliográfica
África				
Islas Canarias	-		Lignanós	Bankova <i>et al.</i> , 1998
Kenia	-	<i>Macaranga spp.</i>	Lignanós, Flavonoides geranilo	Petrova <i>et al.</i> , 2010
Egipto	Álamo	<i>Macaranga spp.</i>	Flavononas geranilo, Antraquinonas	Bassuony <i>et al.</i> , 2009
Europa				
Mediterráneo (Bulgaria, Grecia, Álamo, Argelia, Turquía)	Álamo	<i>Populus Aigeiros</i>	Los ésteres del ácido caféico, ácido ferúlico, flavonoides con un anillo B sustituido	Velikova <i>et al.</i> , 2000
Turquía	-	<i>Populus alba</i> , <i>P. tremuloides</i> , <i>Salix alba</i>	Flavonoides con anillo B no sustituido, vainillina, crisofanol (antraquinona)	Silici <i>et al.</i> , 2005
Grecia, Chipre, Creta	-	Álamo, <i>Cupressaceae</i>	Flavonoides con anillo B sustituido, antraquinonas, diterpenos	Kalogeropoulos <i>et al.</i> , 2009; Popova <i>et al.</i> , 2010; Popova <i>et al.</i> , 2009
Países Bajos	-	Álamo	Flavonoides con anillo B no sustituido, ésteres de glicerol y ácido cinámicos.	Banskota A. H. <i>et al.</i> , 2002
Asia				
Nepal	-	-	Isoflavonas, neoflavonas, Flavonoles	Shrestha <i>et al.</i> , 2007
Taiwán	-	<i>Macaranga spp.</i>	Flavonoides	Huang <i>et al.</i> , 2007
China	Álamo	Álamo	Flavonoides con el anillo B sustituido	Usia <i>et al.</i> , 2002
Corea	-	-	Ésteres del ácido caféico, Flavonoides con un anillo B sustituido	Ahn <i>et al.</i> , 2004
Japón	-	Álamo	Ésteres de ácido caféico	Hamasaka <i>et al.</i> , 2004

De acuerdo a estos reportes, Salatino y cols. (2011) clasificaron a los propóleos en diferentes tipos según su composición química, la cual, se encuentra ligada a la fuente natural y a la zona geográfica de recolección (**Figura 3**). Los propóleos de tipo I son aquellos de clima templado que se caracterizan por contener flavonoides sin sustitución en el anillo B y ésteres de fenilpropanoides. Los de tipo II están representados por el propóleo verde brasileño que contiene fenilpropanoides prenilados y ácidos cafeoilquínicos. Los tipos IV son los que provienen del género *Macaranga*, contienen geranil flavonoides. Los tipos V son propóleos originarios de Grecia, Creta y Turquía que contienen principalmente diterpenoides o antraquinonas.



Figura 3. Distribución quimio-geográfica de los propóleos. (Salatino *et al.*, 2011).

2.3 Especificaciones del propóleo conforme a la NOM-003-SAG/GAN-2017

Debido a que los beneficios del propóleo dependen de sus componentes, se requiere normalizar la recolección y procesamiento de forma estandarizada para garantizar que su composición química no sea alterada en perjuicio de sus propiedades, los parámetros que plantea esta norma son en función de:

- Estar libre de contaminantes tóxicos.
- Contener porcentaje bajo de cera, materia insoluble y cenizas.

- Tener contenido elevado de principios activos.

La norma mexicana para el manejo del propóleo NOM-003-SAG/GAN-2017, la cual plantea esto y demás parámetros de calidad que requieren cumplir de forma obligatoria los propóleos y sus extractos para ser comercializados en México. En esta norma también se incluyen características organolépticas, las características físicas, químicas y microbiológicas de los extractos.

2.4 Características del propóleo en México

México cuenta con una amplia diversidad de vegetación y ecosistemas, como producto de esta diversidad, el territorio nacional se dividió en cinco regiones apícolas bien definidas. Cada región cuenta con los recursos naturales propios determinando las características de miel como la humedad, color, aroma y sabor. Las regiones apícolas se ilustran en la **Figura 5** y sus características se describen a continuación.

2.4.1. Del norte

Vegetación xerófila con amplias zonas de pastizales, bosque espinoso y de coníferas. Los productos apícolas derivados de esta región son derivados principales de mezquite, son de excelente calidad y las recolecciones se realizan de marzo a mayo de agosto a octubre. Los estados que integran esta región son Baja California norte, Baja California sur, Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León y parte del norte y parte de Tamaulipas y Altiplano de San Luis Potosí.

2.4.2. De la Costa del Pacífico

Predomina el bosque tropical caducifolio y subcaducifolio, además de bosques espinosos y de coníferas. La temporada más importante de floración y producción de miel es de octubre a diciembre. Forman parte de esta región los estados de Sinaloa, Nayarit, poniente de Jalisco y Michoacán, Colima, parte de Guerrero, Oaxaca y Chiapas.



2.4.3. Del Golfo

Predomina el bosque tropical perennifolio y bosque tropical caducifolio; además existen zonas con cultivos de cítricos, los cuales proveen la miel de azahar, Esta región se compone por el estado de Veracruz y parte de los estados de Tabasco, Tamaulipas y la región huasteca de San Luis Potosí, Hidalgo y Querétaro.

2.4.4. Del Altiplano

Su vegetación es muy variada, como bosques espinosos pastizales y bosques de coníferas, hasta bosques subtropicales y zonas agrícolas. La recolección de productos apícolas se da de abril a mayo y de septiembre a noviembre el origen floral predominante es el acahual y la aceitilla. Esta región se compone de Tlaxcala, Puebla, Estado de México, Morelos, Ciudad de México, Guanajuato Aguascalientes, la parte oriente de los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas.

2.4.5. Sureste o Península de Yucatán

Su vegetación comprende bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios con periodos de floración que van desde noviembre hasta julio. En esta región se concentran el mayor número de colmena del país, motivo por el cual su participación en la producción nacional de productos apícolas equivalente al 30-35%. El origen floral son la Dzidzioche y Tajonal. Está formada por los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo y parte de los estados de Chiapas, Yucatán y Quintana Roo y parte de los estados de Chiapas (Noreste) y Tabasco (Oriente).



Figura 5. Regiones apícolas en México (Tomado de Situación actual y perspectiva de la apicultura en México).

No obstante, la importante tradición que la apicultura tiene en el país, en las zonas urbanas o vecinas a la ciudad de México es una actividad que tiende a desaparecer posiblemente afectada por los efectos que la contaminación atmosférica insecticidas y disminución de la flora ejercen sobre las abejas. En la zona peri-urbana, sin embargo, la presencia de las abejas tiende a mejorar porque tales tierras aún preservan el uso agrícola para la producción de maíz y nopal-verdura (Rivera,2002). En esta área, los sistemas de producción apícolas se mantienen fuera de la población con el propósito *ex profeso* de promover la polinización, la cual incluye árboles frutales en los linderos tales como: durazno (*Prunus persica*), ciruela (*Prunus domestica*), capulín (*Prunus laurocerasus*), tejocote (*Crateagus pubescens* Steud), membrillo (*Cydonia vulgaris*), higo (*Ficus carica*). Esta forma de localización física permite que los cajones mantengan a distancia de los pueblos y se facilite la polinización en cultivos (Rivera *et al.*, 2007).

Los apicultores llevan a cabo su recolección en dos temporadas bien definidas. La primera se localiza en el mes de mayo a finales de la temporada de sequía. Esta época coincide con la elevada productividad del cultivo de nopal-verdura, cuya caída del precio ocasiona que los productores de nopal no corten los cladiodos (hojas) y permitan la floración del cultivo utilizado para las abejas para producir miel exclusivamente (Rivera, 2002).

2.5. Actividad biológica y farmacológica

En los últimos años se ha publicado un gran número de estudios en relación a las propiedades biológicas presentes en el propóleo, los cuales señalan que la combinación de distintos componentes es esencial para que se presente alguna actividad biológica considerable (Bankova, 2005).

2.5.1 Actividad anticancerosa

Componentes dietéticos como los flavonoides han demostrado consistencia para conferir protección y hasta la remisión del proceso carcinogénico (Ozkul *et al.*, 2005). Se ha reportado que los flavonoides interfieren en la iniciación, promoción y progresión del cáncer modulando diferentes enzimas y receptores en las vías de transducción de señales relacionados con la proliferación celular, diferenciación, apoptosis, inflamación, angiogénesis, metástasis y reversión de la multirresistencia. Los flavonoides inhiben con eficacia enzimas como la xantina oxidasa, ciclooxigenasa (COX) y lipooxigenasa (LOX) que participan en la inflamación y las patologías del cáncer (Ravishankar *et al.*, 2013).

2.5.2 Actividad antitumoral

Varias investigaciones han reportado la propiedad antitumoral del propóleo *in vivo* e *in vitro*, ya que se ha demostrado que presenta actividad antiproliferativa en líneas celulares (Rao *et al.*, 1995; Banskota *et al.*, 2001). La propiedad quimiopreventiva del propóleo se ha analizado en modelos con animales y cultivos celulares, observando su amplia capacidad para inhibir la síntesis de ADN en células tumorales. Se ha aislado una sustancia activa de un propóleo brasileño como quercetina y naringina las cuales han sido caracterizadas y se observa que inhiben el crecimiento de células hepáticas y detiene las células tumorales. Los extractos de propóleo se han examinado en varios estudios para evaluar su actividad citotóxica, comprobando que el CAPE tiene una acción antitumoral (Orsolic, 2010).



2.5.3 Actividad Inmunológica

En los modelos de inmunosupresión, la administración de extractos acuosos de propóleo en ratones previenen los efectos de la ciclofosfamida y mejora la tasa de supervivencia de los animales (Dimov *et al.*, 1991).

2.5.4 Actividad antifúngica

El aumento en la prevalencia de las micosis, la aparición de cepas fúngicas resistentes a los agentes antimicóticos empleados en la actualidad y los efectos secundarios que estos últimos provocan en los pacientes son, sin duda, algunos indicadores de la necesidad de encontrar o desarrollar nuevos compuestos que cumplan con los requerimientos de un antifúngico ideal. De acuerdo a varios autores, el propóleo es el producto apícola que presentó la mayor actividad antifúngica, según un estudio donde se examinaron diferentes productos apícolas frente a 40 cepas de levaduras, de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* y *Trichosporon spp.* (Koc *et al.*, 2011).

2.5.5 Actividad antiparasitaria

El propóleo actúa en contra de muchos parásitos, de esta manera ha llamado la atención de algunos científicos, ya que podría actuar como protector intestinal contra parásitos como *Schistosoma mansoni* y *Giardia duodenalis* (Issa, 2007; Freitas *et al.*, 2006).

2.5.6 Actividad antimicrobiana

Las propiedades antimicrobianas del propóleo han sido estudiadas desde finales de la década de los 40. En ensayos *in vitro* se ha demostrado que los extractos de propóleos son activos frente a numerosos microorganismos, siendo más eficaces en un gran número de bacterias Gram positivas, pero con limitada actividad sobre Gram negativas (Marcucci *et al.*, 2001; Choi *et al.*, 2006). En otros estudios se describe la actividad antimicrobiana de extractos de propóleo de Corea y se encontraron que estos tenían actividad sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella*



typhimurium y *Candida albicans*, atribuyendo esta actividad al contenido de compuestos fenólicos como los flavonoides (Velázquez *et al.*, 2007).

2.5.7 Actividad antiviral

Las propiedades antivirales de propóleos se han conocido durante muchos años. En estudios sobre la infección por Virus de Herpes Simplex (VHS) *in vitro*: la aplicación de una solución al 0.5% del extracto de propóleo provocó una inhibición del 50% de la infección por VHS, mientras que *in vivo* el 5% el propóleo ayudó a prevenir la aparición y el desarrollo de los síntomas de la infección de VHS-1 en los animales. También aplica en el estudio de la infección por herpes genital (VHS tipo 2) para demostrar su eficacia (Kuropatnicki *et al.*, 2013).

2.5.8 Actividad antiinflamatoria y cicatrizante

Diversos autores han considerado que la capacidad de acelerar la epitelización y la división celular en la curación de las heridas, así como la prevención y detención del desarrollo de procesos inflamatorios, son de las propiedades más características de los preparados que contiene propóleo. Investigaciones han probado que la aplicación de soluciones alcohólicas de propóleo aceleran los procesos de regeneración tisular. Por otro lado, algunos de los componentes fenólicos del propóleo como el ácido caféico y el CAPE, así como la quercetina y la naringenina, ejercen un efecto antiinflamatorio a través de diversos mecanismos. Diversos estudios realizados con respecto a la actividad antiinflamatoria de los extractos del propóleo concluyen que este proceso se basa en la acción inhibitoria hacia la enzima COX, precursora del proceso inflamatorio. Los resultados obtenidos en los estudios realizados al propóleo han permitido considerarlo como una excelente alternativa natural en los tratamientos de inflamación crónica y aguda (Araujo *et al.*, 2001).

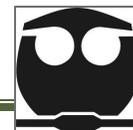


2.5.9 Actividad antioxidante

El propóleo es una fuente natural de antioxidantes, que protege a los aceites y lipoproteínas séricas de la oxidación. Sus propiedades antioxidantes se deben a su actividad antirradicalaria y al efecto inhibitorio sobre el ion cuproso, indicador de la oxidación de las LDL (Farré *et al.*, 2004).

Como antioxidante, el propóleo presenta compuestos que poseen la capacidad de retrasar o prevenir la oxidación de otras moléculas, de hecho, este efecto es atribuido a la presencia de compuestos fenólicos que varía de acuerdo al origen geográfico y botánico del propóleo. CAPE es el típico constituyente de propóleo derivado del álamo y al parecer es el agente antioxidante más poderoso de las sustancias reportadas en estas resinas (Farooqui, 2010).

A su vez la actividad antioxidante ha sido ampliamente estudiada debido a su prometedora aplicación en la medicina preventiva, ya que su consumo podría evitar o reducir los daños causados a la célula por los radicales libres, lo que conlleva al desarrollo de Enfermedades crónico Vasculares (ECV) y neurodegenerativas principalmente (Farré *et al.*, 2004).



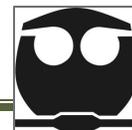
3. Justificación

El uso de la medicina tradicional está muy extendido en los países en vías de desarrollo por la falta alternativas en materia de salud en las comunidades rurales y urbanas. Por otro lado, el uso de medicina complementaria y alternativa se ha incrementado rápidamente en los países desarrollados debido a la falta de eficacia y efectos negativos de los fármacos utilizados en la medicina alopática (OMS, 2005).

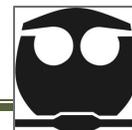
Es importante señalar que parte de la gran popularidad que tiene la medicina alternativa y complementaria (MCA) en países desarrollados, es consecuencia de la preocupación sobre los efectos adversos de los medicamentos sintetizados de cómo farmoquímicos hechos por el hombre. También para pacientes con enfermedades crónicas y debilitantes, como el cáncer, la diabetes y los trastornos mentales los MCA ofrecen medios más amigables y en muchos casos económicamente más viables que los alopáticos (OMS, 2005). Es importante destacar que sólo 25 de los 191 estados miembros de la OMS han desarrollado políticas sobre medicina tradicional y/o MCA. Para la medicina preventiva, los productos naturales también representan una excelente alternativa (Castaldo y Capasso, 2002).

El reto que se enfrenta actualmente consiste en proporcionar las herramientas para que los productos naturales cobren mayor importancia en el mundo. El uso de los productos naturales representa una alternativa atractiva frente a los tratamientos alopáticos, por lo que el desarrollo de marcos legales más robusto, controles de calidad, así como estudios donde se conozca más de estos productos, son requeridos por los organismos regulatorios nacionales y mundiales (OMS, 2005).

El propóleo fue descubierto por el hombre casi a la par que la miel y ha sido utilizado en diferentes culturas con diversas finalidades, entre ellas la medicina. Esta resina ha incrementado su uso y actualmente se investigan sus acciones, efectos y posibles usos en biología y medicina. Entre los usos que se le da, destacan su incorporación en suplementos dietéticos y en la industria farmacéutica para el tratamiento de diversas enfermedades crónicas y degenerativas (Farré *et al.*, 2004; Bogdanov, 2014). Una de las mayores complicaciones para el uso propóleo es la variabilidad de su composición química, ya que ésta depende del lugar donde se recolectó, de la época



del año, el modo de recolección empleado y de las fuentes vegetales de donde las abejas obtienen las resinas (Serra *et al.*, 1994; Burdock, 1998; Bankova *et al.*, 2000). Por las razones antes mencionadas, en los últimos años se han incrementado los estudios conducentes a determinar la composición química del propóleo y sus propiedades farmacológicas. En México, el propóleo es utilizado de foma empírica como auxiliar en el tratamiento de enfermedades y en la literatura existen pocas referencias sobre sus usos y composición química. Por estas razones se planteó el presente proyecto de investigación que tiene como objetivo primordial aislar los compuestos mayoritarios presentes en el extracto del propóleo.



4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Aislar los flavonoides mayoritarios del extracto etanólico preaprado a partir de una muestra de propóleo recolectada en Topilejo, Tlapan.

4.2 Objetivos particulares

1. Realizar la revisión bibliográfica en diferentes bases de datos para recopilar la información referente a las propiedades farmacológicas y la composición química del propóleo.
2. Preparar el extracto etanólico de propóleo recolectado en la Delegación de Tlalpan.
3. Fraccionar el extracto etanólico de propóleo mediante métodos de partición y métodos cromatográficos.
5. Aislar y purificar los compuestos mediante procesos cromatográficos.
6. Establecer la estructura química de los metabolitos secundarios aislados mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

5. Desarrollo experimental

5.1. Recolección del material de estudio

El propóleo fue recolectado en el Bosque de Tlalpan por medio de la técnica de trampa de malla. Cabe mencionar que esta área se clasifica como bosque de encinos y matorral xerófilo y cuenta con alrededor de 206 especies vegetales, entre las que hay 51 especies de árboles (**Figura 6**). Sus especies vegetales más abundantes son la siempre viva, el agapanto y el *Ageratum*, aunque también aloja especies protegidas como el colorín (*Erythrina coralloides*), el fresno mexicano (*Fraxinus uhdei*), la palmita (*Furcraea bedinghausii*) y una especie de orquídea (*Bletia urbana*) (Programa de Manejo del Área Natural Protegida Bosque de Tlalpan, 2011).

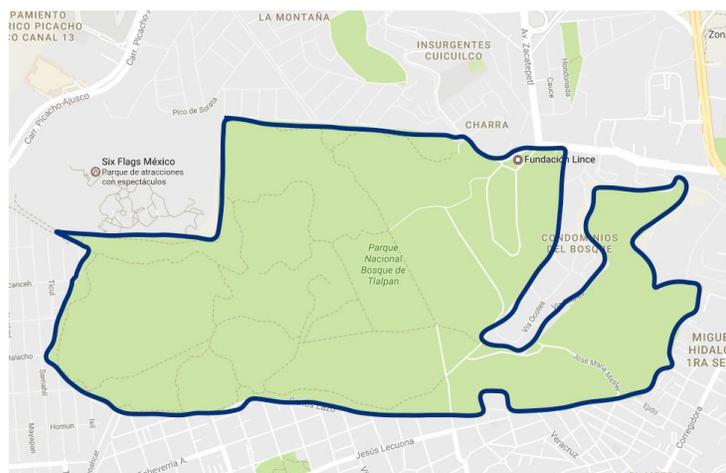
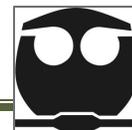


Figura 6. Localización del bosque de Tlalpan. Tomada de la página web del Bosque de Tlalpan.

5.2 Métodos generales de análisis

5.2.1. Análisis cromatográficos

Se utilizó cromatografía en columna abierta (CCA) con Sephadex LH-20 (Fluka) y cromatografía en columna al vacío sobre gel de sílice 60 (Merck).



Los análisis cromatográficos en capa fina (CCF) se realizaron sobre placas de aluminio de diversas dimensiones cubiertas con gel de sílice (60 F₂₅₄ Merck, tamaño de partícula 0.063-0.200 mm) y empleando diversos sistemas de elución. Las placas se observaron bajo la luz ultravioleta (UV) ($\lambda = 254$ nm y 315 nm) posteriormente fueron reveladas con vainillina sulfúrica al 1%, seguido de calentamiento (110°C).

5.2.2 Determinación de las constantes espectroscópicas

Los espectros de masas se generaron en un equipo Agilent 6890L por impacto electrónico (IE) a 70 EV y el analizador másico de tiempo de vuelo (TOF).

Los espectros de RMN de H¹ y C¹³ se obtuvieron de un equipo Varian, a una radiofrecuencia de 400 MHz y 100 MHz, respectivamente. Las muestras se disolvieron en CDCl₃, DMSO-*d*₆, y acetona-*d*₆, según el caso. Los desplazamientos químicos se expresan en δ (ppm) y están referidos al TMS.

5.3. Estudio fitoquímico

5.3.1. Preparación del extracto etanólico del propóleo

El propóleo se extrajo por maceración a temperatura ambiente utilizando etanol durante un periodo de una semana. El extracto etanólico del propóleo se separó del material insoluble por filtración y se concentró con ayuda de un rotaevaporador. Este proceso permitió obtener un extracto de consistencia viscosa y color ámbar.

5.3.2. Fraccionamiento primario de EEP del propóleo recolectado en la Delegación Tlalpan

El extracto etanólico de propóleo se fraccionó mediante cromatografía en una columna abierta (CCA). El adsorbente utilizado fue gel de sílice y como fase móvil diclorometano y acetona en gradiente de polaridad. Como resultado de este proceso

se obtuvieron un total de 15 fracciones las cuales fueron concentradas al vacío y monitoreadas por CCF. Las fracciones que mostraron similitudes en la CCF se agruparon.

Cuadro 2. Fraccionamiento Primario de F-CH₂Cl₂-Acetona ya agrupadas por similitud en CCF.

Fracción	Disolvente	Proporción %
F-I	CH ₂ Cl ₂	100
F-II	CH ₂ Cl ₂	100
F-III	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	95:5
F-IV	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	98:2
F-V	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	8:20
F-VI	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	70-30
F-VII	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	50-50
F-VIII	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	30-70
F-IX	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	35-65
F-X	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	30-70
F-XI	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	25-75
F-XII	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	20-80
F-XIII	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	15-85
F-XIV	CH ₂ Cl ₂ -Acetona	10-90
F-XV	Acetona	100

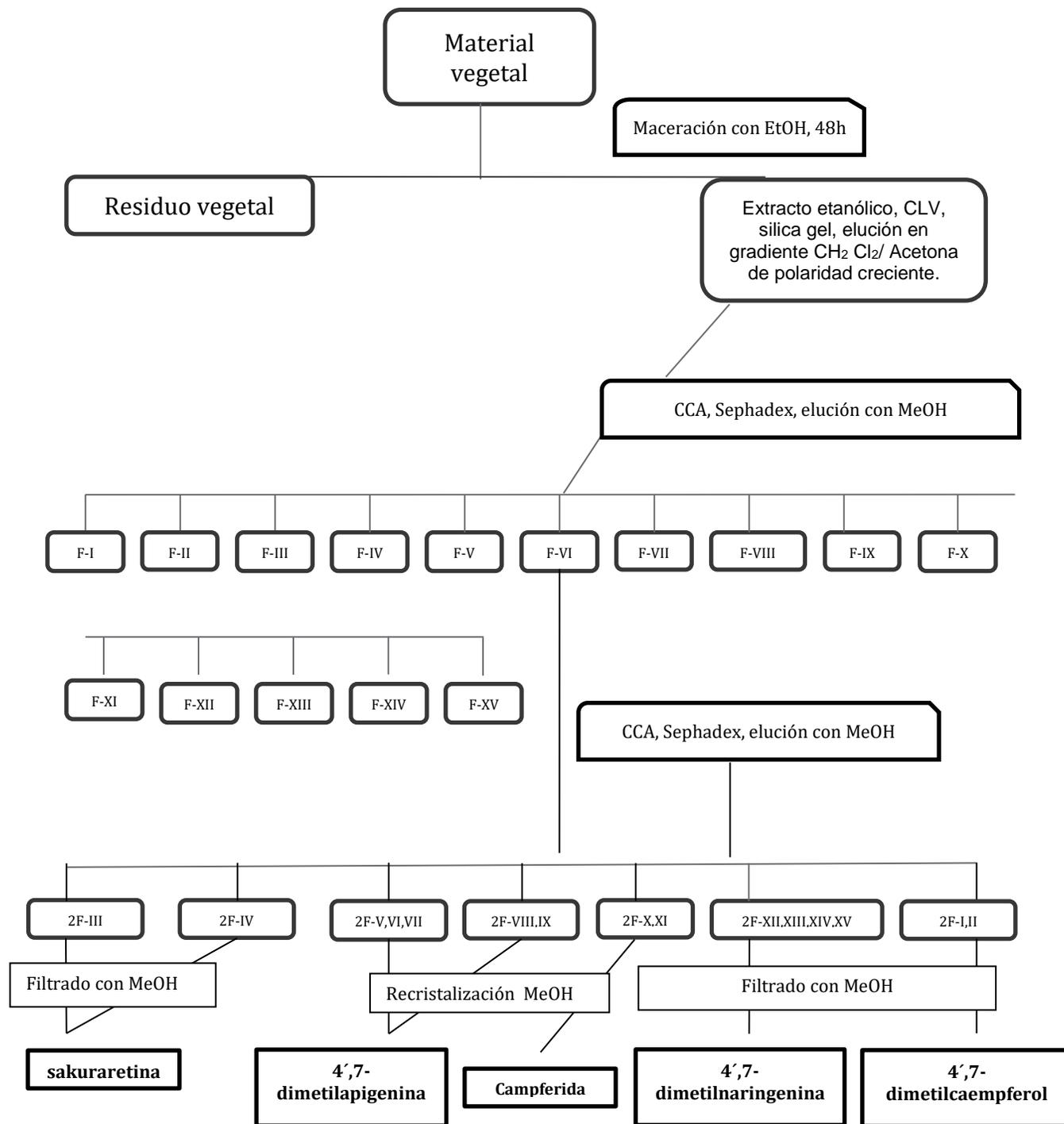
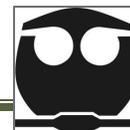


Figura 7. Resumen general del estudio químico del estudio químico de una muestra de propóleo recolectado en la delegación Tlalpan, Ciudad de México.



5.3.3. Fraccionamiento secundario del extracto de propóleo a partir de la fracción 2F-VI.

Después de reunir las fracciones similares por medio de CCF se observó que la fracción F-VI contenía mayor cantidad de compuestos y se decidió continuar con el fraccionamiento utilizando una columna de Sephadex-LH-20 (50 x 2 cm) y como fase móvil etanol/H₂O 1:1. Este proceso permitió la obtención de 15 fracciones las cuales se agruparon por similitud cromatográfica. Posterior al análisis cromatográfico las fracciones se agruparon por similitud y a partir de estas fracciones combinadas se separaron cinco sólidos que fueron posteriormente purificados.

5.3.4 Purificación de 4',7-dimetilnaringenina

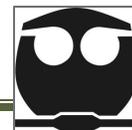
A partir de la fracción 2F12-15 precipitó espontáneamente un sólido color rosa. Este sólido se recrystalizó de acetona y dio origen a un sólido blanco amorfo (0.3033 g) que se caracterizó por RMN-H¹ como la 4',7-dimetilnaringenina.

5.3.5 Purificación de 4',7-dimetilapigenina

Las fracciones 2F12-15 y 2F8-9 presentaron una consistencia aceitosa y un color rosa. Estas fracciones se reunieron y para purificar el compuesto mayoritario se utilizó un proceso de cristalización a partir de metanol. El proceso permitió la obtención de 0.1477g de un polvo amarillo, el cual se caracterizó por RMN-H¹ como la 4',7-dimetilapigenina.

5.3.6 Purificación de 4',7-dimetilcampferol

A partir de la fracción 2F1-2 precipitó de forma espontánea un sólido amarillo que se recrystalizó de metanol. Este proceso permitió la obtención de 0.441g de cristales amarillos el cual se caracterizó por RMN-H¹ como el 4',7-dimetilcampferol.

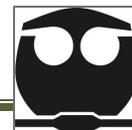


5.3.7 Purificación de la campferida

A partir de la fracción 2F10-11 mediante un proceso de lavado con metanol frío y posterior recristalización de metanol se obtuvieron 0.0701 g de cristales blancos que se caracterizaron por RMN- H^1 como la campferida.

5.3.8 Purificación de la sakuraretina

La fracción 2F3-4 se lavó con metanol frío y como resultado se obtuvo un precipitado blanco, el cual recristalizó de metanol (0.3424 g) y se caracterizó por RMN- H^1 como la sakuraretina.



6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a su amplia gama de propiedades biológicas y farmacológicas, el propóleo se ha convertido en uno de los productos naturales más estudiados en la actualidad. Sin embargo, la mayoría de los estudios con los que contamos son de propóleos provenientes de regiones como Europa, Brasil, China y Cuba. México no cuenta con estudios químicos y farmacológicos extensos, esto debido en parte a uso como auxiliar en el tratamiento de enfermedades. Esta circunstancia dificulta la comprobación de la efectividad medicinal de los propóleos mexicanos (Salatino *et al.*, 2011). Con base en estos antecedentes se decidió estudiar la una muestra de propóleo recolectada en el bosque de Tlalpan, Ciudad de México.

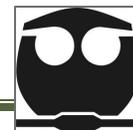
La zona del bosque Tlalpan está ubicada en la delegación con el mismo nombre, que está ubicada en la porción sur de la CDMX, México, colinda al norte con la Avenida Camino a Santa Teresa, la unidad habitacional Villa Olímpica, la colonia Miguel Hidalgo y el fraccionamiento Jardines en la Montaña; al sur con la Colonia Ampliación Miguel Hidalgo; al este con las colonias Miguel Hidalgo y la Fama; y al oeste con las colonias Lomas de Padierna, Ejidos de Padierna y el parque recreativo Six Flags. El “Bosque de Tlalpan” se ubica en la región hidrológica del Río Pánuco, en la Cuenca del Río Moctezuma y en la Subcuenca del Lago de Texcoco-Zumpango. El clima predominante en la Ciudad de México es el templado, específicamente donde se encuentra la zona de recolección se tiene un clima templado subhúmedo (**Figura 8**).



Figura 8. Distribución del clima en la Ciudad de México. INEGI 2016.

Es importante mencionar que la composición química del propóleo es compleja contiene polifenoles, flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, terpenos, esteroides y aminoácidos, pero su composición varía cualitativamente y cuantitativamente conforme al patrón químico-geográfico, esto es, dependiendo de la vegetación en el sitio de la cual se recolectó y el tiempo de colección (Serra *et al.*, 1994; Moreno *et al.*, 2000; Salatino *et al.*, 2011). Salatino y cols. (2011) mencionan que los propóleos mexicanos se localizan en el grupo de clima templado, además mencionan que contienen flavonoides sin sustitución en el anillo B y ésteres de fenilpropanoides, donde las fuentes principales son árboles de las especies del género *Populus* sección *Aigeiros*. Sin embargo, en este estudio se aislaron exclusivamente flavonoides con sustitución en el anillo B, lo que sugiere que las abejas recurrieron a una fuente vegetal diferente.

En la literatura se reporta que la vegetación predominante en Tlalpan es matorral xerófilo y el bosque de encinos y pinos. Algunas especies encontradas en el matorral xerófilo son *Buddleia cordata* (tepozán), *Buddleia parviflora* (tepozancillo), *Dodonaea*



viscosa (chapulixtle), *Pittocaulon praecox* (palo loco). Mientras que el bosque de pinos y encinos está constituido mayoritariamente por *Quercus crassipes*, *Q. rugosa*, *Q. laurina* y *Pinus teocote* (PAOT, 2009).

La composición del propóleo depende de las fuentes vegetales disponibles y esto a su vez determina las sustancias biológicamente activas en el propóleo, así como la zona geográfica. Las especies de plantas silvestres tienen una distribución geográfica con frecuencia características de especies y géneros, y además la distribución de los metabolitos secundarios en las plantas que se muestran frecuentemente no se debe al azar, pero está ligada a la taxonomía de la planta. Otro factor importante son las diferencias genéticas entre las razas de abejas de la misma región que puede provocar que la composición del propóleo sea distinta, debido a que las abejas visitan plantas de diferente especies, pero a menudo parece haber una marcada preferencia por una o varias fuentes de resina (Salatino *et al.*, 2011).

Los compuestos aislados pertenecen al grupo de los flavonoides que son los responsables de la mayoría de las actividades biológicas en el propóleo y la miel (Uzel *et al.*, 2005; Pyrzynska y Biesaga, 2009). Se reconoce que los flavonoides poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antimicrobianas y anticarcinogénicas (Gabor, 1979; Havsteen, 1984; Selway, 1986; Carroll *et al.*, 1998). En el propóleo mexicano se han aislado principalmente flavonoides como pinocembrina, crisina, galangina y pinostrobrina en la región norte y sureste del país (Li *et al.*, 2010; Lotti *et al.*, 2010; Guzmán-Gutiérrez *et al.*, 2018; Rivera-Yáñez *et al.*, 2018; Granados-Pineda *et al.*, 2018). En el propóleo recolectado en Chiapas, Chihuahua y Zacatecas se han aislado flavonoides con sustitución en el anillo B como acacetina, luteolina, quercetina, kaempferol, kaempferide, isoramnetina (Guzmán-Gutiérrez *et al.*, 200; Rivera-Yáñez *et al.*, 2018; Granados-Pineda *et al.*, 2018).

6.1. Caracterización estructural de los metabolitos aislados

El estudio químico del EEP recolectado en Topilejo, Delegación Tlalpan condujo al aislamiento de cinco flavonoides conocidos: sakuranetina (1), 4',7-dimetilapigenina (2), campferida (3), 4',7-dimetilnaringenina (4) y 4',7-dimetilcampferol (5). En la

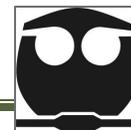


Figura 11 se muestran las estructuras de los compuestos aislados. Para la caracterización de las estructuras químicas de los compuestos aislados se usaron métodos espectroscópicos y espectrométricos. A continuación se discutirá, a modo de ejemplo, la caracterización estructural de la sakuranetina (**1**). Los datos de RMN-¹H de este compuesto y del resto de los flavonoides se muestran en el **Cuadro 4** y en el **Anexo**.

La sakuranetina (**1**) cristalizó en forma de agujas largas de color blanco y presentó una alta solubilidad en CH₂Cl₂. Los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento corresponden con las reportadas en la literatura (Jerz *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006). A continuación se describen las características más importantes de su espectro de RMN-¹H:

1. En la región de los protones aromáticos, sistema AA'-BB' constituido por un doblete centrado en δ_H 7.33 ppm se observa un doblete (1H, $J = 8.0$ Hz) y otro doblete en δ_H 6.82 ppm (1H, $J = 8.0$ Hz). Estas señales son asignables a los protones H-2', H-6' y H-3', H-5' del anillo B del flavonoide.
2. En δ_H 6.05 ppm (1H) y δ_H 6.04 ppm (1H) se observaron dos dobletes con una constante de acoplamiento característico de una sustitución meta ($J = 2$ Hz) asignables a los protones H-6 y H-8 del anillo A del flavonoide.
3. En la región de los protones alifáticos se observaron tres dobles de dobles en δ_H 5.37 ppm, δ_H 3.14 ppm y δ_H 2.74 ppm pertenecientes a un sistema ABX ($J_{AX} = 13$ Hz; $J_{AB} = 17.0$ Hz; $J_{BX} = 3$ Hz).
4. En δ_H 3.81 ppm se localizó un singulete que integró para tres protones, asignable a un grupo metoxilo. Para asignar la posición de este grupo se realizó un experimento 1D-NOE diferencial, donde se irradió la señal en δ_H 3.81 ppm y se encontró un efecto NOE con los protones en δ_H 5.37 ppm, por lo que se asignó la posición del metoxilo en C-7 (**Figura 9**).

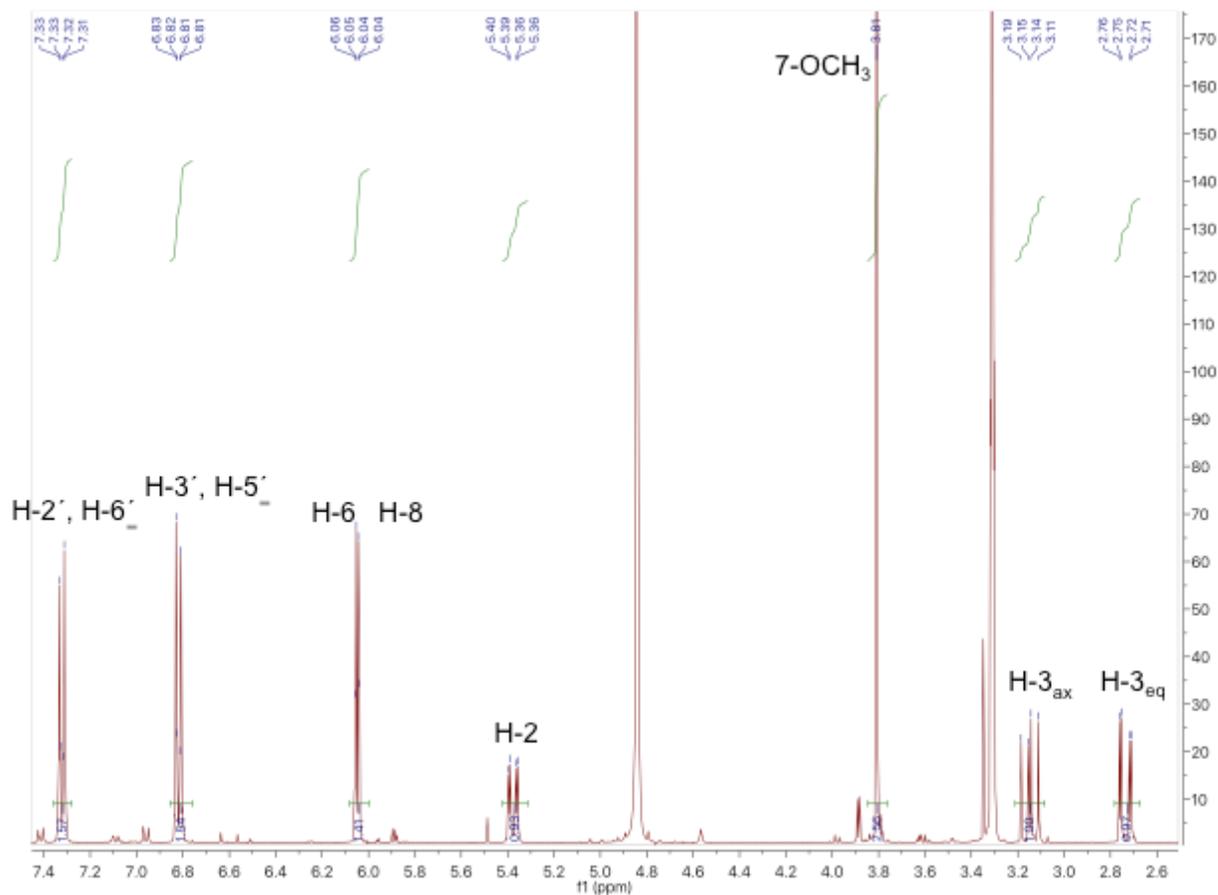


Figura 9. Espectro de RMN-¹H de la sakuranetina (1), CDCl₃ (400 MHz).

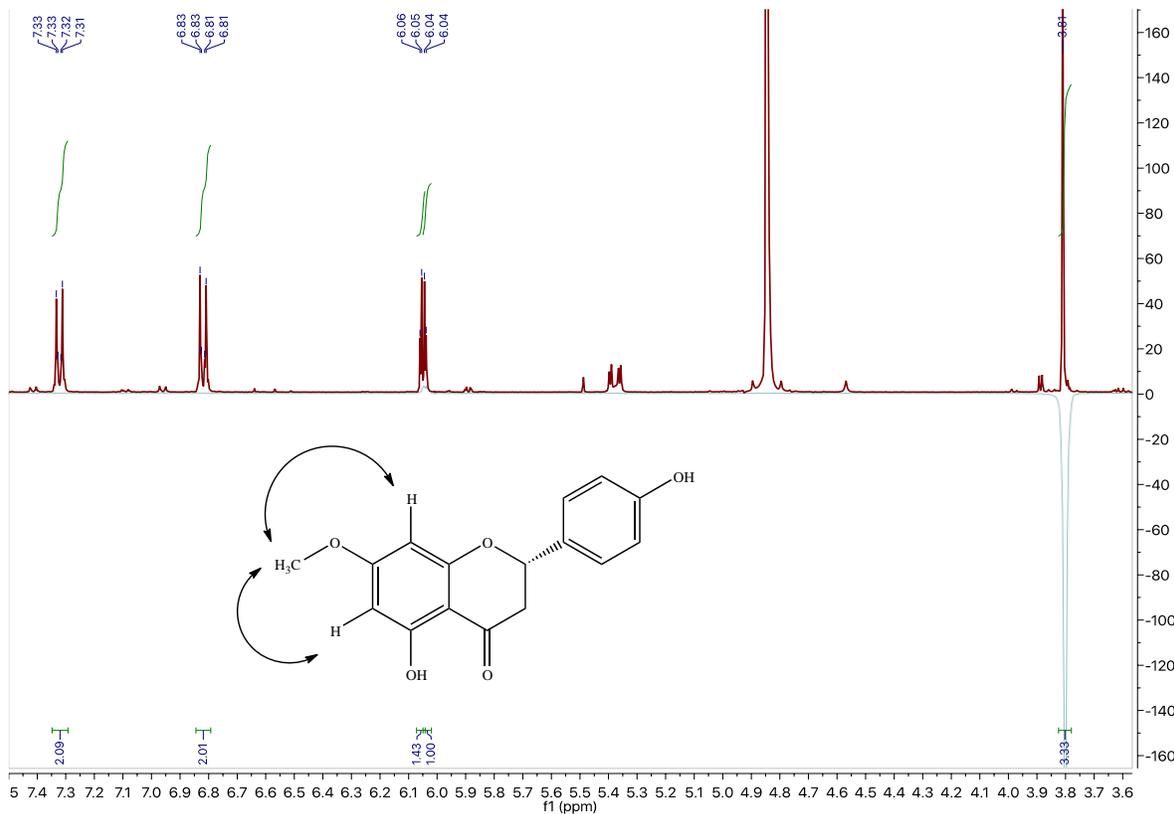


Figura 10. Experimento 1D-NOE diferencial de la sakuranetina (1), CDCl_3 (400 MHz).

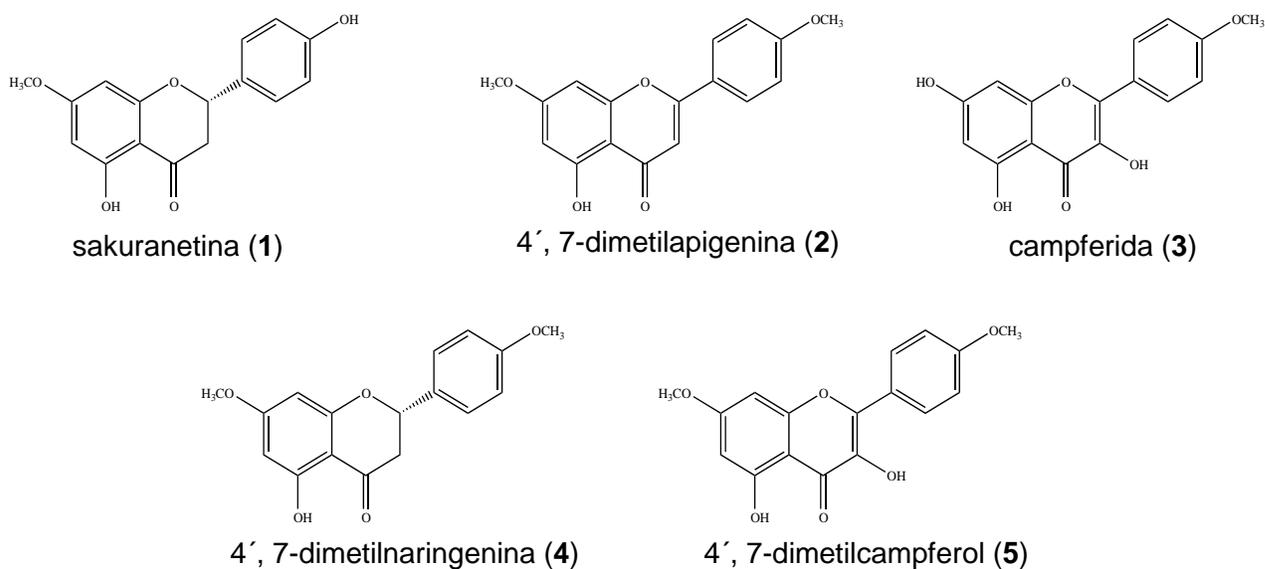


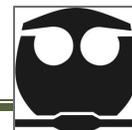
Figura 11. Estructuras de los compuestos aislados del EEP de Tlalpan, CDMX.

Cuadro 3. RMN-¹H de los compuestos aislados del EEP.

H	Sakuranetina (1) (CDCl ₃) ^a	4',7-dimetil apigenina (2) (CDCl ₃)	4',7-dimetilnaringenina (3) (CDCl ₃) ^a	4',7-dimetilcampferol (4) (acetona- <i>d</i> ₆) ^a	Campferida (5) (DMSO- <i>d</i> ₆) ^a
2	5.37 (dd, <i>J</i> =13, 3 Hz)	-	5.37 (dd, <i>J</i> =10.0, 3.0 Hz)	-	-
3	H-3ax 3.09 (1H, dd, <i>J</i> =17, 13 Hz) H-3eq 2.79 (1H, dd, <i>J</i> =13, 3 Hz)	6.75	H-3a 3.27 (1H, dd, <i>J</i> =13.0, 3.0 Hz) H-3b 2.67 (dd, <i>J</i> =13.0, 10.0 Hz)	-	-
6	6.04 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	6.36 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	6.01 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	6.64 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	6.27 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)
8	6.05 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	6.45 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	6.02 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	6.68 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	6.55 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)
2', 6'	7.33 (2H, d, <i>J</i> =8.0 Hz)	7.83 (2H, d, <i>J</i> =8.0 Hz)	7.40 (2H, d, <i>J</i> =8.0 Hz)		8.22 (2H, dd, <i>J</i> =8.0, 4.0 Hz)
3', 5'	6.82 (2H, d, <i>J</i> =8.0 Hz)	7.01 (2H, d, <i>J</i> =8.0 Hz)	6.98 (2H, d, <i>J</i> =8.0 Hz)	7.12 (2H, d, <i>J</i> =8.0 Hz)	-
5-OH		12.81 (1H, s)	12.01 (1H, s)	-	-
7-OCH ₃	3.81 (3H, s)	3.89 (3H, s)	3.83 (3H, s)	3.92 (3H, s)	-
4'-OCH ₃	-	3.88 (3H, s)	3.81 (3H, s)	3.88 (3H, s)	3.90 (3H, s)

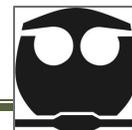
La 4',7-dimetilnaringenina solamente se ha reportado en los propóleos de mexicanos de la misma zona de donde se obtuvo la muestra analizada, tal caso son los propóleos de la delegación Milpa Alta, en los apiarios del "El Búho" y "Don Federico", al igual que en la delegación Xochimilco, como en los estados de Puebla, Zacatecas, Tlaxcala y Guanajuato (Martínez, 2012). Existen registros de este tipo de flavonoide, aislado de otras especies como: *Piper mollicomun* (hojas) y *Piper ihotzkyanum* (Piperaceae) (Lago *et al.*, 2007); *Chromolaena odorata* (Pisutthanan *et al.*, 2006); *Terminalia fagifolia* (Garcez *et al.*, 2006); *Aglaca odorata* (Xiang-Hai *et al.*, 2005); *Artemisa campestris subsp. gluminosa* (Valant *et al.*, 2003); *Baccharis conferta* (Weimann *et al.*, 2002) y *Adenothamnus validus* (Crins y Bohm, 1998). También se ha descrito en algunas especies de los géneros *Aniba* (Rossi *et al.*, 1997), *Garcinia* y *Allabkaja* (Guttiferae) (Duddeck *et al.*, 1978) y se ha identificado en la resina de *Passiflora foetida* (Echeverri *et al.*, 1991). Asimismo, se encontró como uno de los compuestos principales en especies del género *Arnica* como *A. attenuata*, *A. angustifolia* y *A. tomentosa K* (Schmidt y Willuhn, 2000).

El campferol es el compuesto que confiere su color a las flores de *Acacia decurrens* y *Acacia longifolia*. El compuesto tiene propiedades antimicóticas y los reportes de este compuesto provienen de muestras de propóleos de varios países, incluyendo Austria, Ecuador, Alemania, Israel, Reino Unido y Estados Unidos. Se analizó el exudado de brote de álamo y el bálsamo de propóleo derivado de éste, el cual es una mezcla compleja, empleando para ello la técnica de cromatografía de gases (CG) acoplada a espectrometría de masas. En este estudio se aislaron 129 metabolitos entre ellos el 4',7-dimetilcampferol. (Bedascarrasbure, 2004)



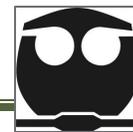
7. CONCLUSIONES

1. El estudio fitoquímico del propóleo recolectado en la zona del bosque de Tlalpan permitió el aislamiento de los flavonoides: 4',7-dimetilnaringenina, 4',7-dimetilcampferol, campferide, sakuraretina y 4',7-dimetilapigenina.
2. La composición de flavonoides del propóleo estudiado es similar a la descrita para otras muestras recolectadas en la misma zona melífera (zona melífera del Altiplano).



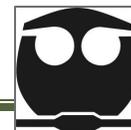
8. PERSPECTIVAS

1. Es importante continuar con el estudio químico del propóleo de la zona rural de Tlalpan para aislar y purificar los componentes que se encuentren en menor cantidad para su posterior estudio biológico. Además el estudio fitoquímico nos puede proporcionar información acerca del entorno vegetal de la colmena.
2. Determinar la actividad antioxidante y antibacteriana de los compuestos aislados a la fecha.
3. Realizar estudios sobre otros propóleos de las regiones colindantes a la delegación Tlalpan para determinar la presencia del flavonoide 4',7-dimetilcampferol, campferide, sakuraretina y 4',7-dimetilapigenina, 4',7-dimetilnaringenina y de igual forma múltiples estudios biológicos a las moléculas, pues la investigación sobre sus propiedades biológicas y farmacológicas son escasas.
4. Cuantificar los compuestos químicos activos utilizando RMN y CL-EM y así establecer una relación cuantitativa de los diferentes propóleos con condiciones similares a las del propóleo del Bosque de Tlalpan.



9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahn, M.R., Kunimasa, K., Ohta, T. (2007). Suppression of tumor-induced angiogenesis by Brazilian propolis: major component artepillin C inhibits in vitro tube formation and endothelial cell proliferation. *Cancer Letters*, 252:235–243.
- Anadero, F. 2000, Curso para Diplomado en Sanidad Animal, Ed. Soria.
- Araujo, M.A., Libério S.A., Guerra, R.N., Ribeiro, M.N., Nascimento, F.R.(2001). Mechanisms of action underlying the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of propolis: a brief review. *Rev. Bras. Farmacogn.* Vol. 22, n.1, 208-219.
- Asís, M. (1993). Apiterapia para todos. Como usar los siete productos de la colmena para curar. Ed. Científico Técnica, 60-96.
- Bankova, V.S., Popov, S.S. Marekov, N.L. (1983). A study on flavonoids of propolis. *Journal of Natural Products*, 46: 471-474.
- Bankova, V.S., Popov, S.S., Marekov, N.L., 1995. Chemical composition and plant origin of propolis. *Bulg. Chem. Commun.* 28, 372-382.
- Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 114-117.
- Bankova, V., Popova, M., Tsusheva, B., Bogdanov, S., Sabatini, A.G., Marcucci, M., (2007). Propolis: from folk medicine to modern preparations. *Mitsubachi Kagaku* 27, 63-70.
- Banskota, A.H., Nagaoka, T., Sumioka, L.Y., Tezuka, Y., Awale, S., Midorikawa, K., Matsushige, K., Kadota, S. (2002). Antiproliferative activity of the

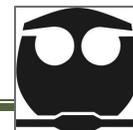


Netherlands 84 propolis and its active principles in cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, 80:67–73.

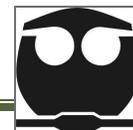
- Banskota, A.H., Tezuka Y., Kadota S. (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy Research* 15(7): 561-571.
- Boisard, S., Le Ray, A., Gatto, J., Aumond, M.C., Blanchard, P., Derbre, S., Flurin, C., Richomme, P. (2014). Chemical Composition, Antioxidant and Anti-AGEs Activities of a French Poplar Type Propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62:1344-1351.
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis). *Food Chemistry and Toxicology*, 36, 347-363.
- Castaldo, S., & Capasso, F. (2002). Propolis an old remedy used in, modern medicine. *Fitoterapia*, 73, 1–6.
- Chaillou, L. (2005). Propóleos de Santiago del Estero. Características físicas y químicas. Actividad antibacteriana y antioxidante. Identificación y cuantificación de flavonoides. Tesis Doctoral. Facultad de Agronomía y Agroindustrias. Universidad Nacional de Santiago del Estero.
- Chang, J., Young, B., Ho-Jae, L., Hwan, S. (2003). Chemical components of propolis and its ethanolic extracts. *Han'guk Sikip'um Yongyang Kwahak Hoechi*, 32:501–505.
- Choi YM, Noh DO, Cho SY, Suh HJ, Kim KM, Kim JM. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *Food Sci. Technol.* 39: 756-761.



- Christov, R., Bankova, V., Tsvetkova, I., Kujumgiev, A., Delgado-Tejera, A. (1999). Antibacterial furofuran lignans from Canary Island propolis. *Fitoterapia*, 70:89–92.
- Dimov, V., Ivanoska, N., Manolova, N., Nikolov N., Popov S. (1991). Inmodulatory action of propolis. Influence on anti-infection and macrophage function. *Apidologie*. 22: 155-162.
- Dominguez, G., (2009). Pulpotomía en dientes de la primera dentición con MTA y propóleo. Tesina de licenciatura.
- Falçao, S.I., Vilas-Boas, M., Estevinho, L. M., Barros, C., Domingues, M.R.M., Cardoso, S.M. (2010). Phenolic characterization of Northeast Portuguese propolis: usual and unusual compounds. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 396:887-897.
- Farooqui, T., Farooqui, A. (2010). Molecular Mechanism Underlying the Therapeutic Activities of propolis: A Critical Review. *Curr Nutr Food Sci*. 6: 188-199.
- Farooqui, T., Farooqui, A.A. (2012). Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases. *Frontiers in Bioscience*, E4: 774-793.
- Farré, R., Frasquet I., Sánchez, A. (2004). El propolis y la salud. *Ars Pharm*. 45: 23-43.
- Freitas, S.F., Shinohara, L., Sforcin J.M., Guimaraes, S. (2006). In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. *Phytomedicine* 13 (3): 170-175.



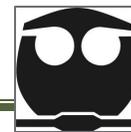
- García-Viguera, C., Ferreres, F., Tomas-Barberan, F.A. (1993). Study of Canadian propolis by GC-MS and HPLC. *Zeitschrift für Naturforschung*, 48:731-735.
- Giralt, T. (2001). Producción, Cosecha, Manejo poscosecha, Caracterización de propóleos y forma de empleo en la terapia de diferentes enfermedades. *Memorias IV Seminario Internacional de abeja africanizada Universidad Nacional de Colombia sede Medellín*, 25-38.
- González, A., y Bernal, R., (2002). *Propóleos: Un Camino hacia la salud*. Editorial Cuarto día, tercera edición, México Jalisco, 8,12,15.
- Granados-Pineda, J., Uribe-Urbe, N., García-López, P., Ramos-Godínez, M.P., Rivero-Cruz, J.F., Pérez-Rojas, J.M. (2018). Effect of pinocembrin isolated from mexican Brown propolis on Diabetic nephropathy. *Molecules*, 23, 852.
- Gregoris, E., Fabris, S., Bertelle, M., Grassato, L., Stevanato, R. (2011). Propolis as potencial cosmeceutical sunscreen agent for its combined photoprotective and antioxidant propertis. *Int J. Pharm*, 405: 97-101.
- Guzmán- Gutiérrez, S.L.; Nieto-Camacho, A.; Castillo-Arellano, J.I.; Huerta-Salazar, E.; Hernández-Pasteur, G.; Silva-Miranda, M.; Argüello-Nájera, O.; Sepúlveda-Robles, O.; Espitia, C.I.; Reyes-Chilpa, R. (2018). Mexican propolis: A source of antioxidants and anti-Inflammatory compounds, and isolation of a novel chalcone and -caprolactone derivative. *Molecules*, 23 (Suppl. 2), 334
- Hernández, I. M., Fernandez, M. C., Cuesta-Rubio, O., Piccinelli A. L., Rastrelli, L. (2005). Polyprenylated benzophenone derivatives from Cuban propolis. *Journal of Natural Products*, 68:931–934.



- Hernandez, J., Goycoolea, F., Quintero, J., Acosta, A., Castañeda, M., Dominguez, Z., Robles, Moreno, L., Velasquez, E. Astiazaran, H., Lugo, E., Velasquez, C. (2007). Sonoran propolis: Chemical Composition and Antiproliferative Activity on Cancer Cells Lines. *Planta Médica*, 73: 1469-1474.
- Hernández, S.M. (2005). Características Organolépticas y Fisicoquímicas de Propóleos de la Provincia de Nuble, VIII Región- Chile.
- Issa, R. (2007). *Schistosoma mansoni*: The prophylactic and curative effects of propolis in experimentally infected mice. *RMJ* 32:2.
- Jian, D., Bo, T., Jingwen, W., Hongtao, S., Xueli, J., Liming, W., Zhongyu W. (2012). Antiproliferative effect of alpinetin in BxPC-3 pancreatic cancer cells. *International Journal of Molecular Medicine*. 29(4):607-12.
- Jerz, G., Waibel, R., Achenbach, H. (2005). Cyclohexanoid protoflavonones from the stem bark and roots of *Ongokea gore*. *Phytochemistry*, 66(14), 1698-1706.
- Koc, A.N., Silici, S., Kasap, F., Hormet-oz, H.T., Mavus-buldu H., Ercal B.D. (2011). Antifungal Activity of the Honeybee Products Against *Candida spp.* and *Trichosporon spp.* *Journal of Medicinal Food* 14 (1-2): 128-134.
- Koo, H., Rosalen, P.L., Cury, J.A., Park, Y.K. (2002). Effects of Compounds Found in Propolis on *Streptococcus mutans* Growth and on Glucosyltransferase Activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46:1302.
- Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepelnjak, S., Knežević, S. (2007). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharmaceutica Nordica*, 54:65–72.



- Krol, W., Bankova, V., Sforcin, J.M., Szliszka, E., Czuba, Z., Kuropatnicki, A.K.(2013). Propolis: properties, application, and its potential. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM 2013, 807578.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T. (2004). Antioxidant Properties and Phenolic Composition of Greek Propolis Extracts. *International Journal of Food Properties*, 17(3): 511-522.
- Kuropatnicki, A.K., Szliszka, E., Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM 2013, 964149.
- Lagouri, V., Prasianaki, D., Krysta, F. (2014). Antioxidant Properties and Phenolic Composition of Greek Propolis Extracts. *International Journal of Food Properties*, 17(3):511–522.
- Li, F.; Awale, S.; Tezuka, Y.; Esumi, H.; Kadota, S. (2010). Study of the constituents of mexican propolis and their cytotoxic activity against PANC-1 human pancreatic cancer cells. *J. Nat. Prod.* 73, 623–627.
- Lima, B., Tapia, A., Luna, L., Fabani, M.P., Schmeda-Hirschmann, G., Podio, N.S., Wunderlin, D.A., Feresin, G.E. (2009). Main Flavonoids, DPPH Activity, and Metal Content Allow Determination of the Geographical Origin of Propolis from the Province of San Juan (Argentina). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:2691–2698.
- Lotfy, M. (2006). Biological Activity of Bee Propolis in Health and Disease. *AsianPacific Journal of Cancer Prevention*, 7:22–31.



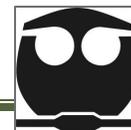
- Lotti, C.; Campo Fernandez, M.; Piccinelli, A.L.; Cuesta-Rubio, O.; Márquez-Hernández, I.; Rastrelli, L. (2010) Chemical constituents of red Mexican propolis. *J. Agric. Food Chem.*, 58 (Suppl. 4), 2209–2213. [L]
[SEP]
- Luo, Z., Dong, J., Zhao, L., Zhang, H. (2013). Analysis of polyphenolics in propolis from Henan province. *Shipin Kexue* (Beijing, China), 34:139-143.
- Manrique, A.J., Santana, W.C. (2008). Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp de Brasil y Venezuela. *Zootecnia Trop.* 26: 157-166.
- Marcucci, M.C. (1996). Propiedades biológicas y terapéuticas de dos constituyentes químicos del propóleo. *Química Nova*, 19, 529-536.
- Marcucci, M.C., Ferreres, F., Garcia-Viguera C., Bankova, V.S., De Castro, S.L., Dantas, A.P. (2001). Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol.* 74: 105-112.
- Marghitas, L., Laslo, L., Dezmiorean, D., Moise, A., Maghear, O. (2013). *Total phenolics and antioxidant activity of Romanian propolis*, International Conference Agricultural and Food Sciences, Progresses and Technologies, Sibiu.
- Markham, K.R., Mitchel, K. A., Wilkins, A. L., Daldy, J.A., Lu, Y. (1996). HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. *Phytochemistry*, 42:205–211.
- Martínez, Flores S., González, Gallego, J., Tuñón, M.J. (2010). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Revisión. Nutr. Hosp* 8: 271-278.



- Martínez, L., Delgado., M. Rojas, N., Casillas, R. (2010). El propóleo y las técnicas para su colecta, Notiabeja. Núm 6.
- Niraldo, P., Avaliacao,(2005). Da actividade antiinflamatória do extracto padronizado de própolis P1 e de seu principal constituinte activo, Artepillin C. Tesis Doctorado, Florianópolis, Universidad Federal de Santa Catarina. Brasil.
- Orsolich, N. (2010). A review of propolis antitumour action in vivo and in vitro. JAAS 2 (1): 1-20.
- Pan, W., Liu, K., Guan, Y., Tan, G.T., Nguyen, V., Nguyen, M., Soejarto, D.D., Pezzuto, J.M., Fong, H. S., Zhang, H. (2014). Bioactive compounds of *Vitex leptobotrys*, *Journal of Natural products*, 77 (3):663-667.
- Papotti, G., Bertelli, D., Bortolotti, L., Plessi M. (2012). Chemical and functional characterization of Italian propolis obtained by different harvesting methods. *J. Agric food Chem.* 60: 2852-2862.
- Piccinelli, A.L., Mencherini, T., Celano, R., Mouhoubi, Z., Tamendjari, A., Aquino, R.P., Rastrelli, L. (2013). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Algerian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61:5080–5088.
- Popova, M.P., Bankova, V.S. Bogdanov, S. Tsvetkova, I., Naydenski, C., Marcazzan, G.L., Sabatini, A.G. (2007). Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. *Apidologie*, 38:306-311.
- Popova, M., Trusheva, B., Cutajar, S., Antonova, D., Mifsud, D., Farrugia, C., Bankova, V., (2012). Identification of the plant origin of the botanical biomarkers of Mediterranean type propolis. *Natural product communications* 7, 569-570.



- Rao, C.V., Desai, D., Riverson A., Simi, B., Amin, S., Reddy B.S. (1995). Chemoprevention of colon carcinogenesis by phenethyl 1-3-methylcaffeate. *Cancer research*. 55, 310-315.
- Reyna, W., (2013). Efecto de la zona y la época de colecta sobre la producción de marcadores químicos en propóleos de la region del altiplano mexicano. Tesis UNAM, México D.F.
- Ribeiro, L.R., Salvadori, D.M. (2003). Dietary components may prevent mutation-related diseases in human. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research* 544 (2-3): 195-201.
- Rivera- Yáñez, N.; Rodríguez-Canales, M.; Nieto-Yáñez, O.; Jiménez-Estrada, M.; Ibarra-Barajas, M.; Canales-Martínez, M.M.; Rodríguez-Monroy, M.A. Hypoglycaemic and antioxidant effects of propolis of Chihuahua in a model of experimental diabetes. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2018, 4360356.
- Sahinler, N., Gul, A. (2005). The Effects of Propolis Production Methods and Honeybee Genotypes on Propolis Yield. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 1212-1214.
- Salatino, A., Fernandes Silva, C.C., Righi, A.A., Salatino, M.L.F. (2011). Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural Products Reports*, 28:925-936.
- Salatino, A., Teixeira, E.W., Negri, G. & Message. D. (2005). Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2:33-38.



- Sforcin, J.M., Bankova, V., 2011. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *Journal of ethnopharmacology* 133, 253-260.
- Shaheen, S.A., Abu-Zarga, M., Nazer, I., Darwish, R., Hala I.A. (2011). Chemical constituents of Jordanian propolis. *Natural Product Research, Formerly Natural Product Letters*, 25:1312–1318.
- Valcic, S., Montenegro, G. Timmermann, B.N. (1998). Lignanos from Chilean propolis. *Journal of Natural Products*, 61:771-775.
- Valencia, D., Alday, E., Robles-Zepeda, R., Garibay-Escobar, A., Galvez-Ruiz, J.C., Salas-Reyes, M., Jimenez-Estrada, M., Velazquez-Contreras, E., Hernandez, J., Velazquez, C. (2012). Seasonal effect on chemical composition and biological activities of Sonoran propolis. *Food Chemistry*, 131:645-651.
- Velázquez, C., Navarro, M., Acosta, A., Angulo, A., Domínguez, Z., Robles R., Robles-Zepeda, R., Lugo, E., Goycoolea, FM., Velázquez, EF., Astiazaran, H., Hernández, J. (2007). Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis. *J. Appl. Microbiol.* 103: 1747-1756.
- Volpi, N., Bergonzini, G. (2006). Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC electrospray mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42:354–361.
- Wang, X., Wang, H., Wang, Q. (2000). Chemical constituents of male inflorescence of *Populus Canadensis* Moench. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, 31:171-173.
- Wagh, V.D. (2013). Propolis: A Wonder Bees Product and its pharmacological Potentials, *Advances in Pharmacological Sciences*.



- Bedascarrasbure, Maldonado, Alvarez, Rodríguez (2004). Contenido de Fenoles y Flavonoides del Propoleos Argentino
- Yang, H., Huang, Z., Huang, Y., Dong, W., Pan, Z., Wang, L. (2015). Characterization of chinese crude propolis by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 113, 158-164.
- Zhang, X., Hung, T.M., Phuong, P.T., Ngoc, T.M., Min, B.S., Song, K.S., Seong, Y.H., Bae, K. (2006). Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Populus davidiana*. *Arch Pharm Res*, 29(12), 1102-1108.
- Zhou, S., Lin, M., Wang, Y., Liu, X., Yu-Kaifa, Y. (2002). Study on the chemical constituents of *Populus davidiana* Dode. *Zhongcaoyao*, 14:43-45.
- Silici S., Kutluca S. (2005): Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 69–73.
- Sahinler N., Kaftanoglu O. (2005): Natural product propolis: chemical composition. *Natural Product Research*, 19: 183–188.
- M Biesaga, K Pyrzynska. (2009): *Journal of Chromatography A*.
- M Gabor. (1979): Anti-inflammatory drugs.
- N Guthrie, KK Carroll. (1998): *Flavonoids in the Living System*.
- Pisutthanan, N., Liawruangrath, B., Liawruangrath, S., Baramée, A., Apisariyakul, A., Korth, J., & Bremner, J. B. (2006). Constituents of the essential oil from aerial parts of *Chromolaena odorata* from Thailand. *Natural product research*, 20(06), 636-640.10.



- Cai, X. H., Wang, Y. Y., Zhao, P. J., Li, Y., & Luo, X. D. (2010). Dolabellane diterpenoids from *Aglaia odorata*. *Phytochemistry*, 71(8), 1020-1024.
- Valant-Vetschera, K. M., Fischer, R., & Wollenweber, E. (2003). Exudate flavonoids in species of *Artemisia* (Asteraceae—Anthemideae): new results and chemosystematic interpretation. *Biochemical systematics and ecology*, 31(5), 487-498.
- Rossi, M. H., Yoshida, M., & Maia, J. G. S. (1997). Neolignans, styrylpyrones and flavonoids from an *Aniba* species. *Phytochemistry*, 45(6), 1263-1269.
- Duddeck, H., Snatzke, G., & Yemul, S. S. (1978). ¹³C NMR and CD of some 3, 8 " -biflavanoids from *Garcinia* species and of related flavanones. *Phytochemistry*, 17(8), 1369-1373.
- Downie, S. R. (1988). Morphological, cytological, and flavonoid variability of the *Arnica angustifolia* aggregate (Asteraceae). *Canadian journal of botany*, 66(1), 24-39.

REFERENCIAS ELECTRÓNICAS

- Biblioteca Digital de las Plantas Medicinales de México, 2012.
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/presenta.html> Consultada el 20 de agosto del 2015.
- Colección Nacional de Insectos, Instituto de Biología, UNAM.
http://www.ibiologia.unam.mx/colecciones/insectos/centro_insec.htm#
Consultada el 28 de agosto del 2015.
- Fundación UNAM <http://www.fundacionunam.org.mx/ecologia/colapso-en-las-colmenas-de-abejas/> Consultada el 15 de septiembre del 2015.



- Organización Mundial de la Salud, 2013.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/index.html> Consultada el 1 de octubre del 2015.

- Portal Apícola, 2011.
<http://www.apicultura.entupc.com/nuestrarevista/nueva/notas/14-09-11-Principal.html> Consultada el 18 de noviembre del 2015.

- Situación actual y perspectiva de la apicultura en México (SAGARPA)
<http://www.infoaserca.gob.mx> consultada el 11 de octubre del 2015.

- Mapa del bosque de Tlapan <http://www.defe.mx/mexico-df/parques/bosque-de-tlalpan> consulta 11 de noviembre del 2016.

ANEXO

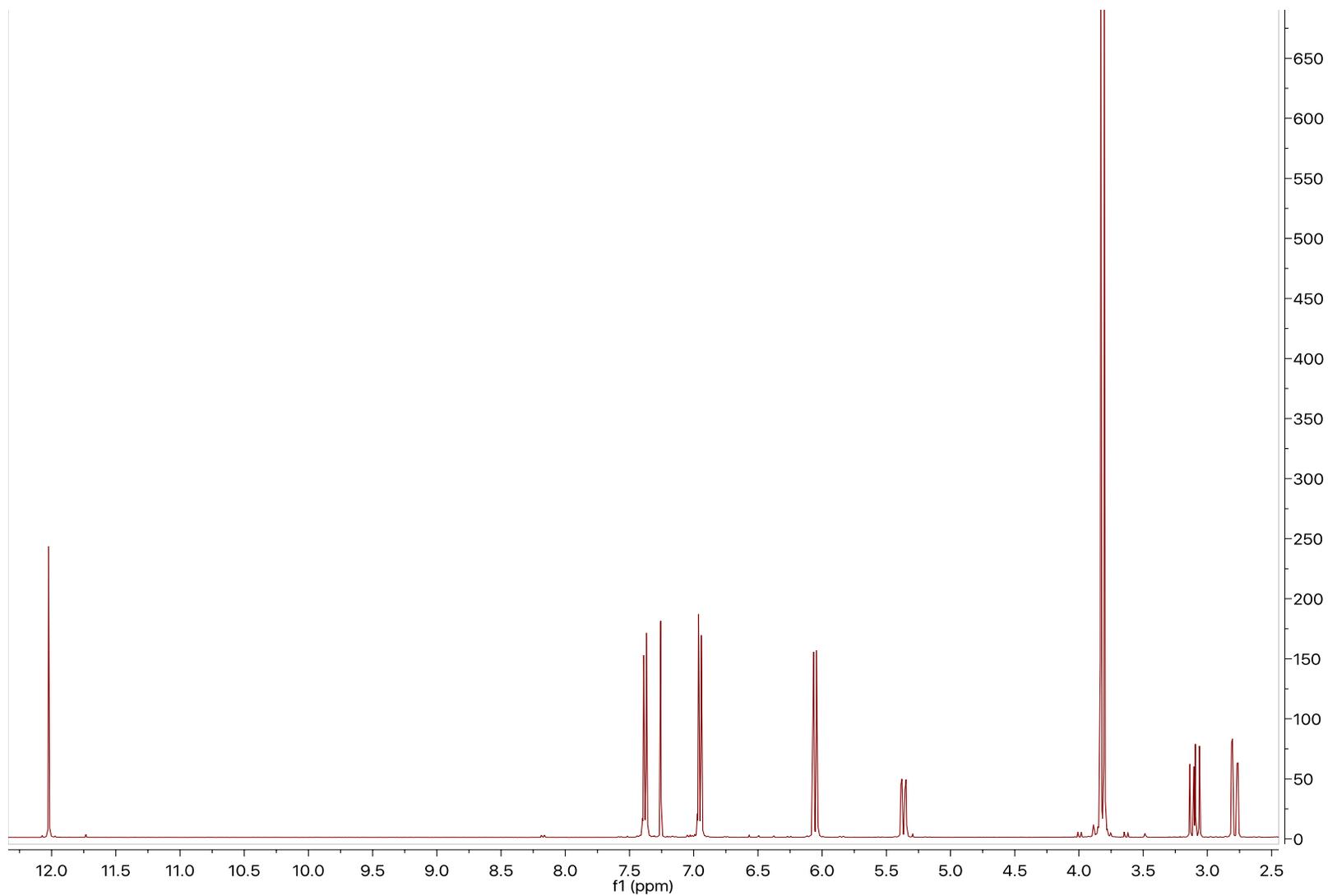
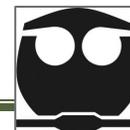


Figura S1. Espectro RMN-1H de la 4',7-dimetilnaringenina (**2**), CDCl₃, 400 MHz.

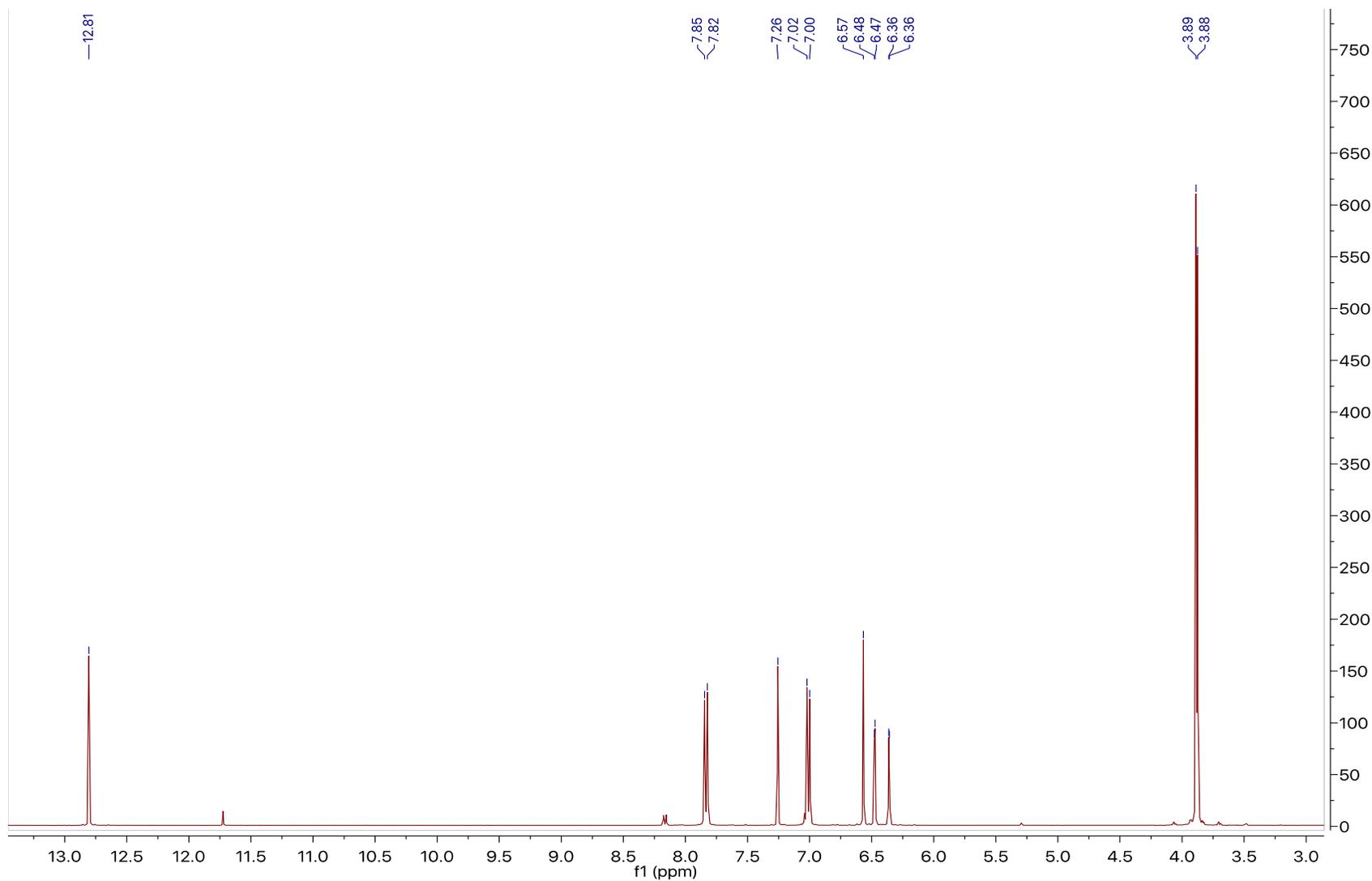


Figura S2. Espectro RMN-1H de la 4',7-dimetilapigenina (**3**), CDCl₃, 400 MHz.

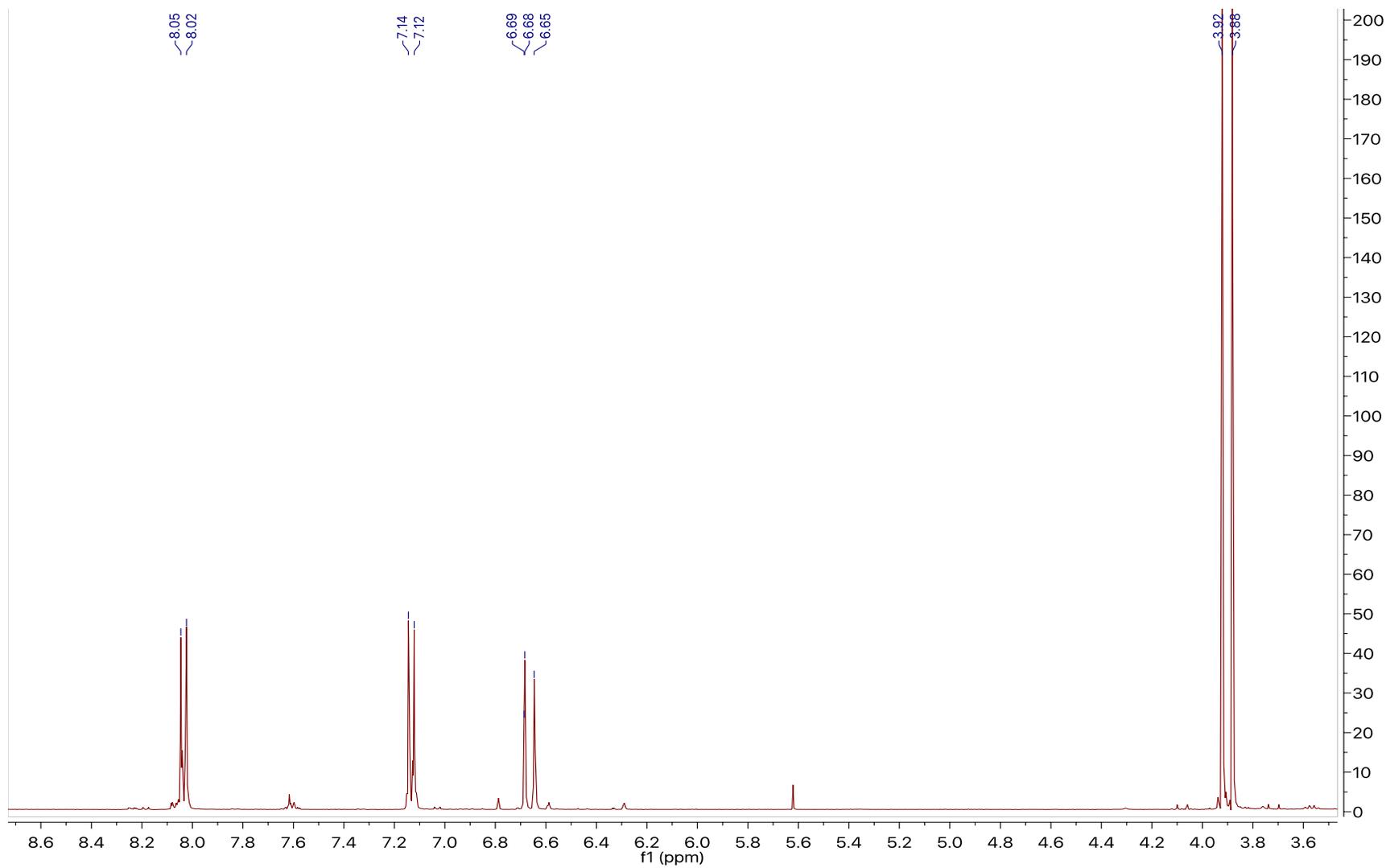


Figura S3. Espectro RMN-1H del 4',7-dimetilcampherol (**4**), CDCl₃, 400 MHz.

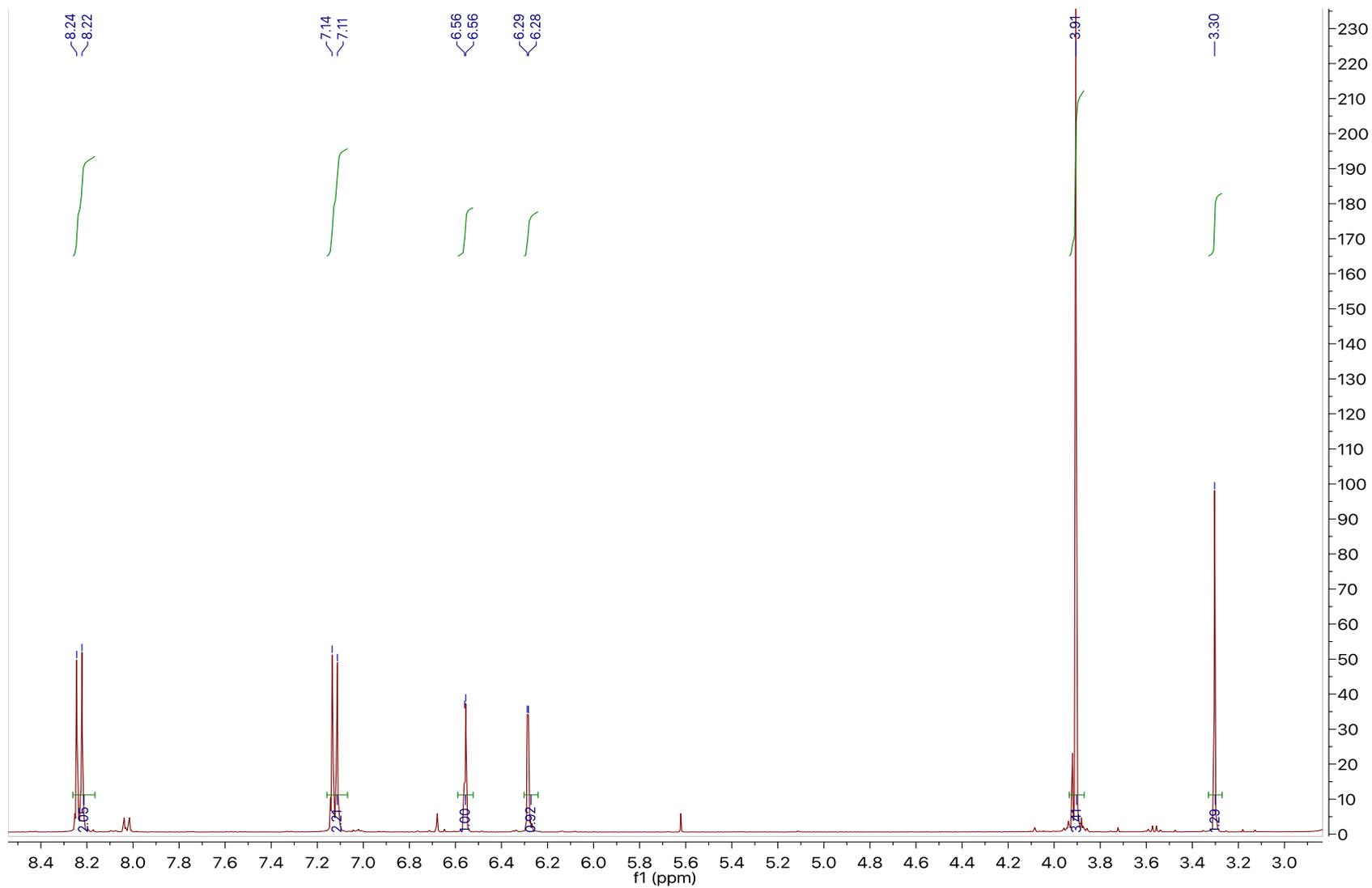


Figura S4. Espectro RMN-1H de la camferida (5), CDCl₃, 400 MHz.