

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Estudio de la diversidad química de aceites esenciales y extractos etanólicos de diez especies de Lauraceae colombiana

Wilman Antonio Delgado Avila

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia

2017

Estudio de la diversidad química de aceites esenciales y extractos etanólicos de diez especies de Lauraceae colombiana

Wilman Antonio Delgado Avila

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctor en Ciencias Química

Director:

Doctor Luis Enrique Cuca Suárez

Línea de Investigación:

Productos Naturales Vegetales

Grupo de Investigación:

Estudio químico y actividad biológica de Rutaceae y Myristicaceae colombiana

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química

Bogotá, Colombia

2017

Dedicatoria

De manera muy especial dedico este trabajo a mis hijos, esposa y padres, pues gran parte del tiempo invertido les pertenecía a ellos.

Agradecimientos

El autor expresa sus agradecimientos al profesor Luis Enrique Cuca por la dirección y continuo apoyo para la realización de este trabajo. A mi esposa Doris por el apoyo moral y colaboración en la revisión y edición del documento final.

A Mónica Ávila, Yasmin Valero y Elizabeth Gil por su inmensa colaboración en la realización del trabajo y revisión del documento.

Así mismo, agradezco a los Profesores Massuo J. Kato y Lydia Yamaguchi de la USP (Brasil) por su amistad, consejo, por recibirme en su grupo de investigación facilitandome los medios para la realización de algunos experimentos

A todos los integrantes del grupo de investigación por su compañía, apoyo y consejo durante los últimos (Oscar, Erika, Angie, Tatiana A. Diego, Jorge Parra, Jorga Perez, Laura Iliá, Marly, Fabian, Victor, Juan Manuel, Juan Carlos, Carolina).

A la Universidad Nacional de Colombia y sus directivas por concederme la comisión y medios para realizar este doctorado.

Resumen

En esta investigación se realizó el estudio de la diversidad química de los metabolitos presentes en los aceites esenciales y extractos etanólicos de especies de la familia Lauraceae encontradas en el territorio colombiano. La caracterización química se realizó mediante técnicas analíticas como CG-EM, HPLC-DAD-EM, CCD-2D y RMN ^1H y ^{13}C con las cuales se obtuvieron los perfiles metabólicos de las partes aéreas de las especies estudiadas. Los datos de los perfiles metabólicos fueron analizados con herramientas estadísticas con el propósito de identificar la presencia de quimiomarcadores que puedan ser útiles en la identificación taxonómica de las especies de Lauraceae; así como, encontrar las relaciones filogenéticas existentes entre las especies estudiadas a partir de los datos moleculares y su comparación con la información generada por el perfilado metabólico. Se determinó que compuestos de tipo furanoeudesmano son característicos para la especie *Ocotea longifolia*; benzoatos y α -pironas son compuestos característicos de las especies *Aniba robusta* y *Aniba coto*; para las especies del género *Cinnamomum* los compuestos predominantes son sesquiterpenos y sesquiterpenoides acíclicos como nerolidol en *C. cinnamomifolium* y farnesol en una de las muestras de *C. triplinerve*, mientras que en otras dos muestras de *C. triplinerve* el compuesto predominante fue α -Bisabolol. En cuanto a las relaciones filogenéticas se estableció que el análisis estadístico de la información química conduce a agrupaciones a nivel de género y con ello se puede inferir que algunas de las especies fueron mal determinadas y ha sido posible corregir algunas. Las agrupaciones coinciden en algunos casos con los resultados obtenidos a partir de la información molecular. Con lo anterior se evidenció que el estudio de la diversidad química presente en los aceites esenciales y extractos etanólicos es una herramienta útil en la taxonomía de la familia Lauraceae.

Palabras clave: Lauraceae, diversidad química, aceites esenciales, perfiles metabólicos, marcadores quimiotaxonómicos.

Abstract

This research was the study of the chemical diversity of the metabolites presents in the essential oils and ethanolic extracts from species of Lauraceae family founded in Colombia. The metabolic profiles of aerial parts of the studied species were obtained by analytical techniques such as GC-MS, HPLC-DAD-MS, TLC-2D and ^1H and ^{13}C NMR. The data of metabolic profiles were analyzed using statistical programs to identify chemomarkers for taxonomic determination of Lauraceae species; as well as, determining phylogenetic relationships among the species in study from the molecular data and theirs comparison with metabolic profiles. Furanoedesmane compounds type were characteristic in *Ocotea longifolia*; benzoates and α -pyrones were predominant in *Aniba robusta* and *Aniba coto* while sesquiterpenes and sesquiterpenoids were majority in genus *Cinnamomum* being nerolidol and farnesol the majority compounds in *C. cinnamomifolium* and *C. triplinerve*, respectively and α -Bisabolol in other species of *C. triplinerve*. About phylogenetic relationships, the statistical analysis of chemical information leads to clusters of genera which suggest mistakes in the determinations of some species and some of them have been corrected. These clusters are in agreement with molecular data. The study of chemical diversity of the essential oils and ethanolic extracts of Lauraceae species is a tool that helps in the taxonomy of the Lauraceae family.

Keywords: Lauraceae, chemical diversity, essential oils, metabolics profile, chemotaxonomic markers.

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Abstract	X
Lista de figuras.....	XIV
Lista de tablas.....	XIX
Introducción	1
1. Sistemática de Lauraceae	4
1.1 Desarrollo histórico	4
1.2 Posición de la familia Lauraceae dentro de las Angiospermas	12
2. La familia Lauraceae en la actualidad.....	15
2.1 Origen de la familia Lauraceae.....	15
2.2 Distribución geográfica y habitats de la familia Lauraceae	17
2.3 La familia Lauraceae en Colombia.....	20
2.4 Características morfológicas	22
2.4.1 Características morfológicas de los principales géneros presentes en Colombia.....	23
2.5 Características fitoquímicas de la familia Lauraceae.....	24
2.6 Quimiotaxonomía de la familia Lauraceae.....	40
3. Metodología	49
3.1 Colecta de material e identificación del material vegetal	49
3.2 Obtención de los aceites esenciales	50
3.3 Obtención de los aceites de cascarillo y sasafrás	50
3.4 Obtención de los extractos etanólicos	51

3.5 Determinación de la composición química relativa de los aceites esenciales	
51	
3.6 Caracterización de aceites esenciales mediante resonancia magnética nuclear RMN ^1H y ^{13}C	52
3.7 Caracterización de aceites esenciales mediante CG-EM posterior a la hidrogenación catalítica de los aceites	57
3.7.1 Hidrogenación de aceites esenciales	57
3.7.2 Caracterización de los aceites esenciales hidrogenados	58
3.8 Procesamiento de datos de RMN de ^1H y ^{13}C	58
3.9 Caracterización de extractos etanólicos de hojas	59
3.9.1 Cromatografía CCD-2D	59
3.9.2 Caracterización mediante (CL-ESI-EM)	60
3.9.3 Análisis empleando marcadores moleculares	61
4 Resultados y Discusión	63
4.1 Colecta	63
4.2 Contenido de aceites esenciales y extractos etanólicos	64
4.9 Diversidad química de los aceites esenciales	73
4.3.1 Aceites esenciales de especies de Ocotea (Lauraceae)	73
4.3.2 Aceites esenciales de las especies de Aniba (Lauraceae)	84
4.3.3 Aceites esenciales de las especies de Nectandra (Lauraceae)	97
4.3.4 Aceites esenciales de las especies de Cinnamomum (Lauraceae)	99
4.3.5 Aceites esenciales de las especies de Endlicheria (Lauraceae)	105
4.3.6 Aceites esenciales de las especies de Persea (Lauraceae)	106
4.3.7 Aceites esenciales de la especie de Rhodostemonodaphne laxa (Lauraceae)	107
4.3.8 Características de los aceites esenciales obtenidos de la especie de Beilschmiedia costaricensis (Lauraceae)	108
4.3.9 Características de los aceites de Ocotea cymbarum (Cascarillo y Sasafrás)	109
4.4 Caracterización de aceites esenciales por técnicas espectroscópicas	118
4.4.1 Análisis de los aceites esenciales mediante RMN ^1H	118
4.4.2 Análisis de los aceites esenciales mediante RMN ^{13}C	119

4.5 Análisis de extractos etanólicos mediante cromatografía en placa delgada bidimensional (CCD-2D)	120
4.5 Análisis de las rutas biosintéticas de compuestos terpénicos	123
4.5.1 Rutas biosintéticas de compuestos monoterpénicos	123
4.5.2 Rutas biosintéticas de compuestos sesquiterpénicos	124
4.6 Estudio de diversidad genética	140
5 Conclusiones y recomendaciones	143
5.1 Conclusiones	143
5.2 Recomendaciones	145
5.3 Producción científica	146
5.3.1 Artículos científicos	146
5.3.2 Participación en eventos científicos	146
A. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies del género Ocotea.	148
B. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies del género Aniba.	154
C. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies del género Nectandra.	159
D. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies del género Cinnamomum.....	163
E. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies del género Endlicheria.	165
F. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies de los géneros Persea, Beilschmiedia y Rhodostemonodaphne.	167
Bibliografía	171

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1: Representación de los géneros <i>Laurus</i> y <i>Cassytha</i> (Linneaus, 1753)	4
Figura 2: Representación de la familia Lauraceae (LAURI) según Juss.	4
Figura 3: Representación de la familia Lauraceae según Meissner.....	5
Figura 4: Representación de la familia Lauraceae según Mez.	6
Figura 5: Representación de la familia Lauraceae según Bentham y Hooker.....	6
Figura 6: Representación de la familia Lauraceae basada en los estudios de Kosterman.	7
Figura 7: Representación de la familia Lauraceae según Rohwer.....	8
Figura 8: Representación de la familia Lauraceae según van der Werff & Richter V.D.H.	8
Figura 9: Árbol filogenético que representa de forma resumida de las relaciones en la familia Lauraceae según Rohwer, 2000.	10
Figura 10: Árbol filogenético que resume las relaciones en la familia Lauraceae según Chanderbali & van der Werff 2001.....	11
Figura 11: Árbol filogenético de las relaciones en la familia Lauraceae según Rohwer, J., & Rudolph, B., 2005.	13
Figura 12: Árbol filogenético de la familia Lauraceae en las angiospermas basales...	14
Figura 13: Mapa que ilustra el posible centro de origen de la familia Lauraceae y sus principales grupos.	16
Figura 14: Mapa que ilustra la distribución actual de las especies de la familia Lauraceae.....	18
Figura 15: Especie <i>Laurus nobilis</i>	22
Figura 16: Principales tipos de núcleos alcaloidales encontrados en especies de la familia Lauraceae derivados de fenilalanina.....	42

Figura 17: Principales tipos de compuestos tipo arilpropano y dimeros de estos encontrados en especies de la familia Lauraceae.	43
Figura 18: Núcleos básicos de compuesto identificados como quimiomarcadores de especies del género <i>Aniba</i>	43
Figura 19: Núcleos de flavonoides utilizados como quimiomarcadores en Lauraceae... ..	44
Figura 20: Monoterpenos y monoterpenoides comúnmente encontrados en aceites esenciales de Lauraceae.....	45
Figura 21: Sesquiterpenos y sesquiterpenoides comúnmente encontrados en aceites esenciales de Lauraceae.....	45
Figura 22: Paralelo entre evolución química y las relaciones filogenéticas propuestas para la familia Lauraceae, según Gottlieb 1972.....	46
Figura 23: Equipo de destilación por arrastre con vapor empleado para la extracción de los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae.	50
Figura 24: Equipo de hidrogenación empleado para la hidrogenación catalítica de los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Laboratorio de Química de Productos Naturales USP, Sao Paulo, Brasil).....	58
Figura 25: Relación entre el contenido % de aceite y la altura sobre el nivel del mar para todas las especies estudiadas.....	68
Figura 26: Relación entre el contenido % de aceite y la altura sobre el nivel del mar para la especie <i>O. longifolia</i>	68
Figura 27: Relación entre el contenido % de aceite y la altura sobre el nivel del mar para la especie <i>N. reticulata</i>	69
Figura 28: Relación entre el contenido % de aceite y la altura sobre el nivel del mar para la especie <i>C. triplinerve</i>	69
Figura 29: Análisis de conglomerados obtenido a partir de los datos de composición química de los aceites esenciales de Lauraceae por tipo de compuestos.	72
Figura 30: Análisis de conglomerados obtenido a partir de los datos de composición química de los aceites esenciales de <i>Ocoteas</i> por tipo de compuestos.....	77
Figura 31: Análisis de conglomerados obtenido a partir de los datos de composición química detallada de los aceites esenciales de <i>Ocoteas</i>	78
Figura 32: Estructura del compuesto WC 1 aislado del aceite esencial de diferentes accesiones de <i>Ocotea longifolia</i> (4-furanoeudesman-6-ona).....	80

Figura 33: TIC del aceite esencial de <i>O. longifolia</i> fresco obtenido en modo isotérmico (180 °C) y ampliación de la zona correspondiente a los compuestos de tipo furanoeudesmano.	80
Figura 34: Espectros de masas de los compuestos WC 1 (izquierda) y su precursor (derecha) observados durante el análisis cromatográfico.	81
Figura 35: Posible ruta de fragmentación del posible compuesto precursor de WC 1 denominado WC 2.	81
Figura 36: Posible ruta de fragmentación del compuesto WC 1 3,5,8a-trimetil-7,8,8a,9-tetrahidronafto[2,3-b]furan-4(6H)-ona o (4-furanoeudesman-6-ona).....	82
Figura 37: Propuesta de la reacción de isomerización térmica que conduce al compuesto WC 1(4-furanoeudesman-6-ona) a partir de WC 23,8a-dimetil-5-metilen-5,6,7,8a,9-hexahidronafto[2,3-b]furan-4aH)-ona.	82
Figura 38: Espectro de masas y estructura propuesta para el compuesto WC 3.....	83
Figura 39: Espectro de masas y estructura propuesta para el compuesto WC 4.....	83
Figura 40: Análisis de conglomerados de la composición por tipo de compuestos de los aceites esenciales de especies del género <i>Aniba</i>	87
Figura 41: Análisis de conglomerados de la composición detallada de los aceites esenciales de especies del género <i>Aniba</i>	87
Figura 42: Espectro de masas y estructura de Benzoato de bencilo	92
Figura 43: Espectro de masas y estructura de Benzoato de fenetilo	92
Figura 44: Espectro de masas y estructura de Salicilato de bencilo	93
Figura 45: Espectro de masas y estructura del compuesto (E)-6-(metoxiestiril)-2H-piran-2-ona	93
Figura 46: Espectro de masas y estructura del compuesto (E)-6-(3,4-dimetoxiestiril)-2H-piran-2-ona	94
Figura 47: Espectro de masas y estructura del compuesto (E)-6-(3,4-metilendioxiestiril)-2H-piran-2-ona.....	94
Figura 48: Espectro de masas y estructura del compuesto (E)-6-(3,4-dimetoxiestiril)-4-metoxi-2H-piran-2-ona	95
Figura 49: Rutas biosintéticas resumidas para la formación de los benzoatos encontrados en algunas especies del género <i>Aniba</i>	96
Figura 50: Diagrama de clasificación de especies del género <i>Aniba</i> en función de los compuestos mayoritarios encontrados en sus aceites esenciales.....	97

Figura 51: Análisis de conglomerados realizado con base en la composición química relativa detallada de los aceites obtenidos de especies del género <i>Nectandra</i>	98
Figura 52: Perfiles cromatográficos obtenidos mediante CG-EM de los aceites esenciales de especies del género <i>Cinnamomun</i>	100
Figura 53: Espectros de masas de los productos de hidrogenación de los compuestos característicos de las especies del género <i>Cinnamomum</i>	101
Figura 54: Cromatogramas del aceite esencial de <i>C. triplinerve</i> (WD 71) antes y después de la hidrogenación.....	105
Figura 55: Perfil cromatográfico mediante CG-EM del aceite esencial de <i>R. laxa</i> colectada en el municipio de Acacias- Meta	107
Figura 56: Rutas biosintéticas que explican la formación de los compuestos monoterpénicos mayoritarios encontrados en el aceite cascarillo (Davis, E., & Croteau, R., 2000; Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J., 2009).....	112
Figura 57: Rutas biosintéticas que explican la formación de los compuestos monoterpénicos mayoritarios encontrados en el aceite sasafrás. (Davis, E., & Croteau, R., 2000; Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J., 2009).....	113
Figura 58: Rutas biosintéticas que explican la formación de los compuestos sesquiterpénicos encontrados en los aceites de cascarillo y sasafrás. (Davis, E., & Croteau, R., 2000; Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J., 2009)	114
Figura 59: Análisis de conglomerados de la información obtenida mediante caracterización de los aceites esenciales mediante RMN ¹ H de especies de Lauraceae.	119
Figura 60: Análisis de conglomerados de la información obtenida mediante caracterización de los aceites esenciales mediante RMN ¹³ C de especies de Lauraceae.	120
Figura 61: Análisis de conglomerados de la información obtenida mediante caracterización por cromatografía en placa delgada bidimensional de los extractos etanólicos de especies de Lauraceae.....	121
Figura 62: Análisis de conglomerados de la información obtenida mediante caracterización por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-EM) de los extractos etanólicos de especies de Lauraceae.....	123
Figura 63: Rutas biosintéticas conducentes a los cationes que dan origen a los principales núcleos sesquiterpénicos.	126

Figura 64: Árbol filogenético construido a partir de la información genética extraída de las secuencias del marcador ITS1-5.8S-ITS2 encontrados en la base de dato GenBank por el algoritmo de máxima parsimonia..... 141

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1: Géneros de la familia Lauraceae presentes en el continente americano y número estimado de especies por género.....	19
Tabla 2: Géneros de la familia Lauraceae presentes en el territorio colombiano.....	21
Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae.....	26
Tabla 4: Relación del muestreo de especies de la familia Lauraceae realizado en diferentes regiones de Colombia.	53
Tabla 5: Relación de rendimientos de aceites esenciales y extractos etanólicos obtenidos de especies de la familia Lauraceae.....	65
Tabla 6: Descripción de la composición química por tipo de compuestos de los aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae.	70
Tabla 7: Núcleos de las estructuras base y compuestos relacionados encontrados en las diferentes especies del género <i>Ocotea</i>	74
Tabla 8. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto WC 1 aislado del AE´s de <i>O. logifolia</i> y el compuesto 3a aislado de <i>Ocotea pulchella</i>	79
Tabla 9: Relación de las muestras de especies del género <i>Aniba</i> y su composición por tipo de compuestos.	86
Tabla 10: Matriz de similitudes calculadas por el método de Bray Curtis calculadas con base en la composición química detallada de los aceites esenciales de especies del género <i>Aniba puchury-minor</i>	88
Tabla 11: Matriz de similitudes calculadas por el método de Bray Curtis calculadas con base en la composición química detallada de los aceites esenciales de especies del género <i>Aniba robusta</i>	89

Tabla 12: Caracterización mediante CG-EM de los extractos etanólicos de corteza de las especies de <i>Aniba</i> incluidas en este estudio.	91
Tabla 13: Núcleos de los terpenos encontrados en la composición de los aceites esenciales de las especies del género <i>Cinnamomum</i>	102
Tabla 14: Valores de las constantes fisicoquímicas medidas para los aceites de cascarillo y sazafrás.	109
Tabla 15: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos monoterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae.	127
Tabla 16: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae.	128
Tabla 17: Especies de la familia Lauraceae y números de accesoión de de secuencias del marcador molecular ITS1-5.8S-ITS2 almacenados en <i>GenBank</i>	140

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Término
AcOEt	Acetato de etilo
APG	<i>Angiosperm Phylogenetic Group</i>
BenzoilCoA	Benzoil coenzima A
BPBT	Benzoil alcohol/2-feniletanol benzoil transferasa
$[\alpha]_D^t$	Rotación específica
° C	Grado centígrado
CCD-2D	Cromatografía en placa delgada bidimensional
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
CL-EM	Cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas
COL	Herbario Nacional Colombiano
ESI	<i>Electrospray ionization</i> (Ionización por electrospray)
FID	<i>Free induction decay</i>
FPP	Farnesil difosfato
g	Gramo
GPP	Geranil difosfato
ITS	<i>Internal Transcriber Spacer</i>
IRL	Índice de retención lineal

Is	Índice de similitud
kg	Kilogramo
l	Litro
LPP	Linalil difosfato
m.a.	millones de años
matK	<i>Maturase K</i>
MeOH	Metanol
MHz	Megahercios
mL	Mililitros
μL	Microlitros
mg	Miligramo
μm	Micrometro
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel medio del mar
min.	Minutos
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
NPP	Nerolidil difosfato
PAL	Fenilalanina amonio liasa
Pd/C	Paladio sobre carbono
PCA	<i>Principal component analysis</i> (Análisis de componentes principales)
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono trece
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno
SPME	Microextracción en fase sólida
TIC	(<i>Total ion current</i>) Corriente ionica total
TMS	Tetra metil silano

Introducción

Dentro de la biodiversidad vegetal con que cuenta Colombia, la familia Lauraceae, es una de las de mayor abundancia. De los aproximadamente, 52 géneros existentes a nivel mundial alrededor de 18 se encuentran en los diferentes tipos de bosques que crecen en Colombia. Así, el catálogo de plantas de Colombia (Penagos & Madriñan, 2015) cita 257 especies agrupadas en 17 géneros. Una buena parte de las cerca de 240 especies reportadas en el territorio nacional son muy apreciadas debido a las buenas características de trabajabilidad, resistencia y durabilidad de sus maderas; otras especies son empleadas en prácticas de medicina tradicional o incluso con fines mágico-religiosos. Además, los frutos de casi todas las especies de esta familia son fuente de alimento para el hombre y animales silvestres, especialmente aves (Vargas, 2002; Acero, 2005). A pesar de lo anterior, son escasos los estudios en el campo de la sistemática, de tipo ecológico, etnobotánica, poblacional, fisiológicos y fitoquímicos de la familia Lauraceae. Es así como, menos del 5% de las especies reportadas han sido objeto de algún tipo de estudio.

Los relativamente pocos estudios fitoquímicos publicados dejan ver la importancia de estas especies, pues de forma paralela a la diversidad de especies encontradas, se observa una gran diversidad de metabolitos secundarios, que, a su vez, han mostrado tener actividades biológicas de interés farmacológico y también como controladores de algunas plagas (Barrera & Suarez, 2007). Autores como Santiago Madriñan, sostienen que es precisamente esta diversidad de especies y su elevada complejidad genética y morfológica lo que dificulta la determinación correcta, siendo difícil distinguir entre especies del mismo género e incluso diferenciar un género de otro (Madriñan, 2014).

Para llenar este vacío de información se han realizado estudios de diversidad genética mediante el uso de herramientas de la biología molecular como los llamados marcadores moleculares; esto ha permitido, en cierto grado, el desarrollo de la sistemática de algunos géneros de esta familia (Chanderbali, van der Werff & Renner, 2001; Rohwer, 2000).

También, existen trabajos que intentan aportar a la sistemática de la familia mediante el estudio de los perfiles metabólicos, especialmente el de los compuestos volátiles que hacen parte de los aceites esenciales (Gottlieb, 1972; Joshi, Padalia, Bisht & Mathela, 2009).

Estos estudios se han llevado a cabo a diferente nivel taxonómico: desde estudios intraespecíficos principalmente en especies de los géneros *Cinnamomun* y *Cryprocarya* hasta estudios intrerespecíficos en especies de una misma región geográfica (Huang, Li, van der Werff, Li, Rohwer, Crayn & Li, 2016; Rohwer, De Moraes, Rudolph & Van der Werff, 2014). Así en los estudios interespecíficos, se ha logrado, el establecimiento de diferentes quimiotipos o razas químicas; y a nivel interespecífico, se han publicado trabajos en los cuales ha sido posible identificar marcadores bioquímicos para las distintas especies y géneros estudiados.

Con esos estudios, se evidencia que los trabajos de caracterización de la diversidad química representada por los compuestos generados mediante el metabolismo secundario junto con adecuados métodos de análisis de información como los métodos de estadística multivariada (análisis de clustrer y análisis de componentes principales (PCA) conducen a diferentes formas de visualización de la información que permite hacer inferencias de tipo filogenético y quimiotaxonómico.

El establecimiento de agrupaciones “cluster” o la construcción de diagramas en forma de árbol muestran la similaridad entre diferentes especies o géneros en función del contenido de metabolitos secundarios: esta información y la determinación de posibles correlaciones con la parte genética, puede ser de utilidad tanto para la sistemática de plantas como también para los estudiosos de los productos naturales que podrán hacer uso de esta información para predecir la ocurrencia de un metabolito o tipo de metabolitos particulares en un género o especie determinados y así contar con otro criterio a la hora de escoger las especies a estudiar.

Puesto que la producción de metabolitos secundarios, también llamados productos naturales, esta mediada por distintos factores algunos de tipo extrínseco o ambientales (ecológicos, localización geográfica, climáticos, fertilización) y otros intrínsecos que básicamente dependen del contenido genético. El análisis integrado de la información

genética y química puede conducir a una mejor comprensión de las relaciones entre las especies y a la identificación de moléculas útiles como quimiomarcadores.

Con el fin de contribuir a la sistemática de la familia Lauraceae y a su conocimiento químico, en la presente investigación se propuso el estudio de la diversidad química y molecular para establecer posibles relaciones de tipo quimiotaxonómico en especies de la familia Lauraceae mediante el perfilado metabólico de los aceites esenciales, extractos etanólicos, datos moleculares y su respectivo análisis empleando herramientas estadísticas multivariadas.

1. Sistemática de Lauraceae

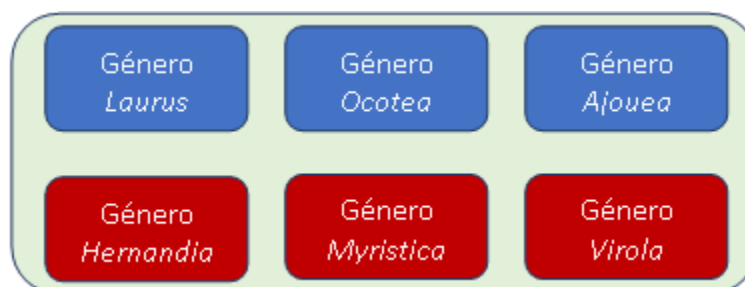
1.1 Desarrollo histórico

Desde 1753 Carl Nilsson Linnæus (L.) propone la construcción de un sistema natural de clasificación de las especies, y en su obra *Species Plantarum* reconoce los géneros *Laurus*, y *Cassythia* (Linnaeus, 1753). En 1789, Antoine Laurent de Jussieu (Juss) publicó su obra *Genera Plantarum* y en el orden IV (LAURI, LES LAURIERS), perteneciente a la clase VI (STAMINA PERIGYNA) del grupo de las *dicotiledóneas* ubicó la actual familia Lauraceae, ('LAURI') (de Jussieu, 1791) Juss, reconociendo inicialmente tres géneros, *Laurus* T.L., *Ocotea* Aubl, y *Ajouea* Aubl. (atual *Aiouea*) e incluyó en la familia los géneros *Myristica*, *Virola* y *Hernandia*, taxones trasladados posteriormente a otras familias, es por esto por lo que se reconoce a Juss como autor de esta familia vegetal. En las **Figuras 1** y **2** se puede apreciar de manera gráfica la representación de la familia Lauraceae en su momento para Linnæus y Juss.

Figura 1: Representación de los géneros *Laurus* y *Cassythia* (Linnaeus, 1753)

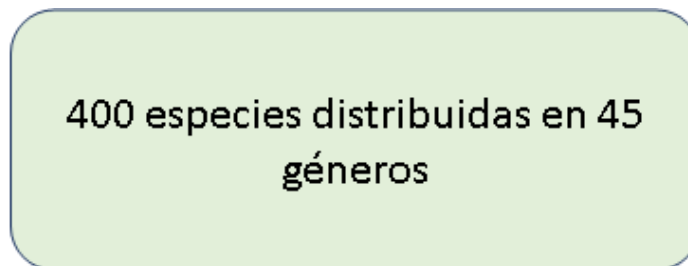


Figura 2: Representación de la familia Lauraceae (LAURI) según Juss.

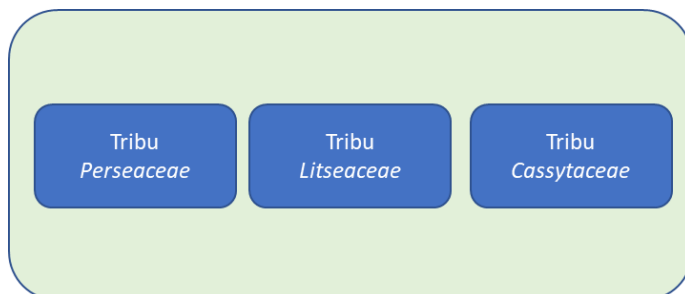


Desde mediados del siglo XIX, ya se evidenciaba la diversidad y complejidad de la familia Lauraceae, cuando en 1836 Christian Gottfried Daniel Nees von Esenbeck (Nees) publica la obra *Systema Laurinarum* (Nees von Esenbeck, 1836) en la cual hace una recopilación y describe alrededor de 400 especies de lauráceas, agrupadas en 45 géneros, muchos de los cuales son aún aceptados. Nees tiene en cuenta en su clasificación diferentes caracteres, pero da importancia al tipo de inflorescencia que puede ser racemosa o paniculada. Posteriormente en 1864, Carl Daniel Friedrich Meissner describió 972 especies distribuidas en 54 géneros los cuales agrupa en tres subórdenes a saber: *Laurineae*, *Gyrocarpeae* (actualmente este suborden conforma la familia Hernandiaceae) y *Cassytheae* (conformado por el género *Cassytha*), dentro de los caracteres que tiene en cuenta Meissner se encuentra el tipo de inflorescencia y si las flores son unisexuales o hermafroditas (Candolle, A. L. P. P. , 1864). Meissner, no hace referencia notable a alguna agrupación de géneros dentro de la familia. (**Figura 3**)

Figura 3: Representación de la familia Lauraceae según Meissner.



En 1889, Carl Mez (Mez, *Lauraceae americanae: monographice descripsit* (Vol. 5). , 1889) hizo una descripción de lauráceas americanas dividiendo la familia en dos subórdenes *Laureae* y *Cassytheae*; *Laureae* subdividido en *Perseae* y *Litseae* (**Figura 4**) y en estos subórdenes ubicó alrededor de 510 especies agrupadas 22 géneros entre los cuales se encuentran *Systemonodaphne* y *Urbanodendron* propuestos por él mismo. Antes de la clasificación de Mez, Bentham y Hooker en 1880 (Bentham y Hooker, 1880) proponen otro sistema de clasificación de la familia en tres tribus (*Perseaceae*, *Litseaceae* y *Cassythaceae*) y se basan principalmente en caracteres como posición de los estambres y número de anteras (**Figura 5**). También en 1889, Pax propone otro sistema de clasificación de la familia basado en la observación principal del número de anteras (Pax, 1889).

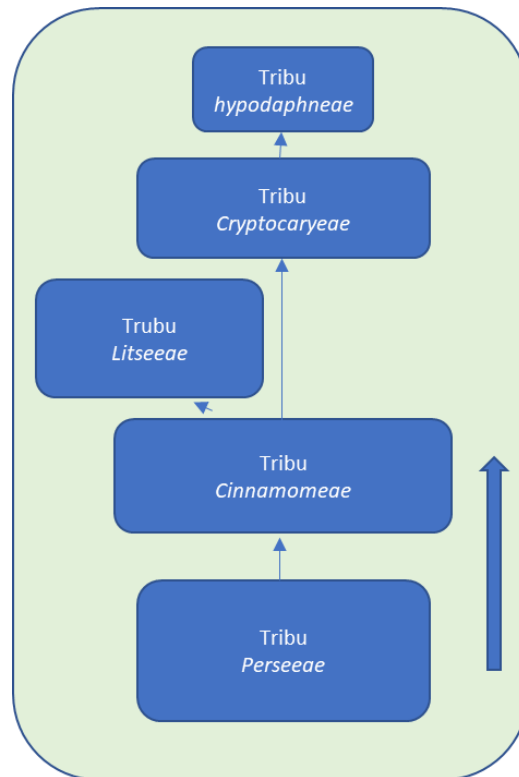
Figura 4: Representación de la familia Lauraceae según Mez.**Figura 5:** Representación de la familia Lauraceae según Bentham y Hooker.

En el siglo XX, el primer gran aporte lo hace el Dr. Kosterman quien a partir de 1937 se dedicó a clasificar sistemáticamente los géneros de Lauraceae que muchos investigadores iban publicando, en 1957 hace una publicación en la cual muestra la familia organizada en cinco tribus (*Perseeae*, *Cinnamomeae*, *Litseeae*, *Cryptocaryeae* e *Hypodaphneae*) (Kosterman, 1957) se basó principalmente en la posición del gineceo en relación con el hipanto. Este constituye un modelo mucho más complejo en el cual no solamente se hacen cinco agrupaciones de géneros (tribus), sino que además se establecen posibles relaciones entre y dentro de las tribus establecidas, también en este complejo sistema se pueden ubicar agrupaciones en diferentes niveles (en la base, intermedios y terminales como se observa en la **Figura 6**) esto de alguna forma sugiere un sistema que apunta a una organización teniendo en cuenta la historia evolutiva.

En el diagrama propuesto y publicado por el Dr. Kosterman; se aprecia un alto grado de complejidad. Según esta clasificación, ubica la tribu *Perseeae* en la base del sistema, y dentro de esta tribu ubica quince géneros dentro de los cuales se destacan *Beilschmiedia* y *Persea*. Sobre la tribu *Perseeae* ubica la tribu *Cinnamomeae*, en esta tribu ubica 19 géneros entre los que se cuentan *Aniba*, *Endlicheria*, *Cinnamomum*, *Nectandra*, *Ocotea*; estos dos últimos anidados dentro de *Pleurothyrium*. Sobre la tribu *Cinnamomeae*, ubicó la tribu *Litseeae* con cinco géneros siendo *Litsea* el género central; en penúltimo lugar

ubicó la tribu *Cryptocaryeae* con cuatro géneros, siendo *Cryptocarya* el género central. En el tope de la clasificación se encuentra la tribu *Hypodaphneae* constituida por el género *Hypodaphnis* que solo cuenta con una especie. Es importante resaltar que, a diferencia de los sistemas anteriores, en el de Kosterman no se da relevancia a *Cassytha*. Aunque su trabajo se centró en géneros de origen americano el trabajo compilador de Kosterman evitó que la clasificación de Lauraceae creciera artificial e innecesariamente. La clasificación de Kosterman ha tenido aceptación durante más de 30 años.

Figura 6: Representación de la familia Lauraceae basada en los estudios de Kosterman.



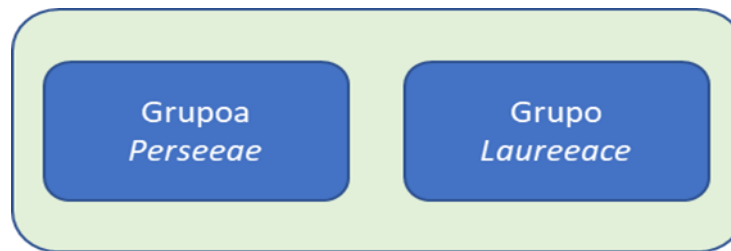
En 1964, Hutchinson (1964) propuso una clasificación que se basó principalmente en la presencia de brácteas y si las flores son perfectas (hermafroditas) o unisexuales. Se considera un sistema de clasificación menos robusto que el propuesto por Kosterman.

En 1981, Richter (1981) publicó el resultado de los estudios llevados a cabo sobre la anatomía de la corteza de las lauráceas y según estos caracteres establece tres grupos

de géneros; sin embargo, la posición de algunos de los géneros en este sistema propuesto por Richter es contrastante con la propuesta de Kosterman.

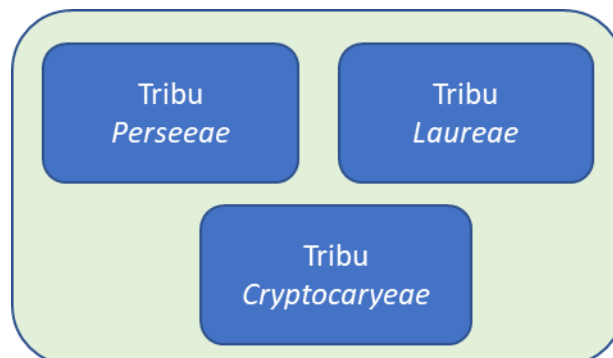
J.G. Rohwer (1993) publica una monografía de la familia Lauraceae en la cual describe 52 géneros y estima el número de especies entre 2500 y 3500. Propone una clasificación con dos grupos principales (*Perseeae* y *Laureae*) (**Figura 7**) basados en el tipo de inflorescencia.

Figura 7: Representación de la familia Lauraceae según Rohwer.



Luego, Van der Werff & Richter (1996) hacen una minuciosa y crítica revisión de los sistemas de clasificación propuestos anteriormente y basados en la integración de los datos de sus propios estudios sobre tipos de inflorescencia y anatomía de madera y corteza proponen un sistema en el cual los géneros de la familia son organizados en tres tribus (*Laureae*, *Perseeae* y *Cryptocaryeae*) (**Figura 8**).

Figura 8: Representación de la familia Lauraceae según van der Werff & Richter V.D.H.



Esta clasificación además de soportar mejor la posición de algunos géneros que en el sistema de Kosterman no son unánimemente aceptados, presenta un mejor soporte

desde el punto de vista de la distribución geográfica en donde la mayoría de los géneros incluidos en la tribu *Laureae* se encuentran preferencialmente en el hemisferio norte, las especies de la tribu *Perseeae* se ubican en la zona neotropical con algunas especies de *Ocotea* que se encuentran en África y Madagascar y las especies de la tribu *Cryptocaryeae* se distribuyen hacia el hemisferio sur.

También en este documento se propone el uso combinado de datos (anatómicos de madera, corteza, hoja y cutículas foliares, frutos, polen, inflorescencia y la morfología tradicional de la flor, junto con datos de estudios moleculares y aceites de hoja) para obtener una nueva clasificación mucho más robusta.

Todos los trabajos anteriormente citados tendientes a establecer una clasificación natural de la familia Lauraceae se basan en el análisis de caracteres morfológicos tales como la morfología floral, la anatomía de la madera u corteza y la disposición de las inflorescencias principalmente, analizadas tanto en forma individual o en conjunto, como resultados se obtienen sistemas de clasificación diferenciados según el autor y caracteres empleados.

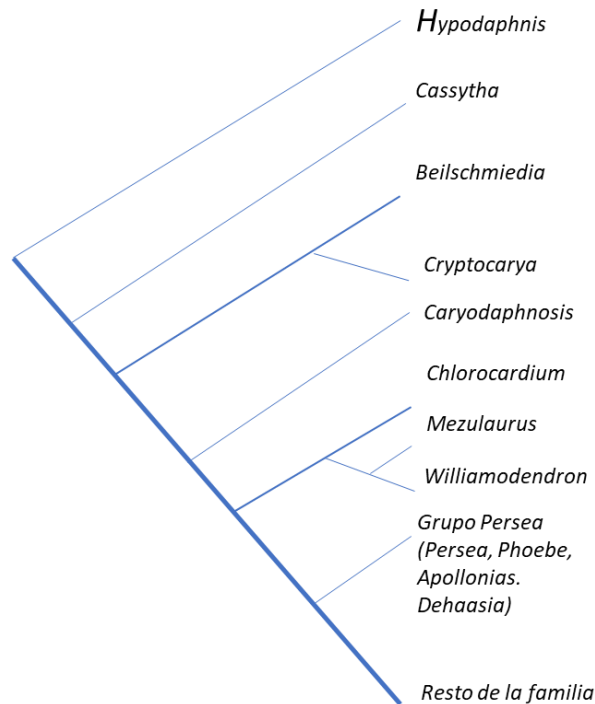
J.G. Rohwer (2000) utilizó parte de la secuencia del gen *matK* y del espaciador adyacente 392 para realizar análisis filogenéticos de 48 especies de Lauraceae de diferentes regiones geográficas. Con estos datos evidenció que los grupos *Hypodaphnis* y *Cassytha* (una especie de cada uno) son los que más tempranamente divergen del resto de la familia; además los resultados de este estudio conllevan un replanteamiento de conceptos aceptados en clasificaciones anteriores basados únicamente en datos morfológicos.

Este resultado es además contrastante con lo propuesto por Kosterman quien ubicó a *Hypodaphnis* en la cima de su clasificación. En la **Figura 9** se observa un diagrama en forma de árbol que resume las relaciones filogenéticas encontradas por Rohwer empleando técnicas de biología molecular.

Solo un año después, (Chanderbali, A. S., van der Werff, H., & Renner, S. S., 2001) y con el auge de las técnicas de la biología molecular publican un trabajo "*Phylogeny and Historical Biogeography of Lauraceae...*" En este estudio los autores obtuvieron y

analizaron la información genética de 122 especies de la familia *Lauraceae*, extraída mediante el uso de diferentes marcadores moleculares y analizada con diferentes algoritmos, como resultado destacados, estiman que las *Lauraceae* se expandieron durante el periodo Cretácico medio-tardío (hace aproximadamente 100 millones de años (m.a.) y los linajes basales se establecieron tanto en Laurasia como en Gondwana. El análisis temporal mediante calibración con los datos de marcadores *rp/16* e *ITS* les permite ubicar la divergencia de las ramas basales y terminales, y así, se localiza la divergencia de *Hypodaphnis* (grupo basal) entre 174 +/- 32 y 90 m.a. Las divergencias de los grupos terminales se sitúan entre 90 y 32 +/-6 m.a. atrás.

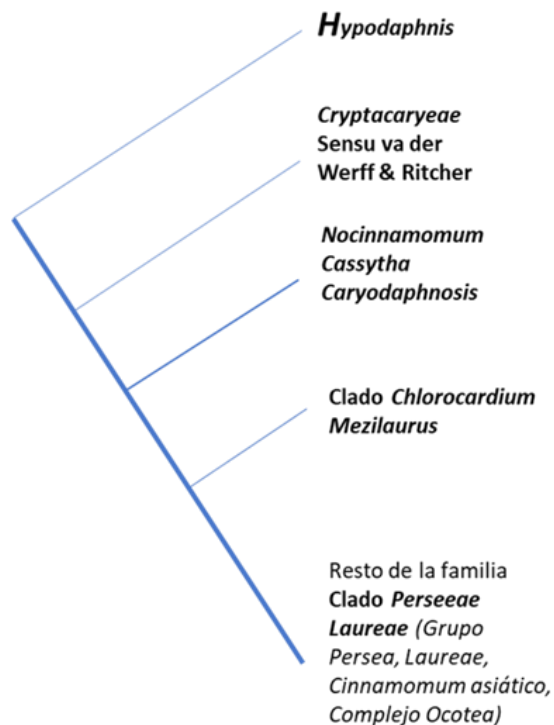
Figura 9: Árbol filogenético que representa de forma resumida de las relaciones en la familia Lauraceae según Rohwer, 2000.



Los datos moleculares obtenidos en algunos casos apoyan los clados o grupos establecidos previamente en otras clasificaciones como en el caso de *Cryptocaryeae*, que excluyendo a *Hypodaphnis*, coincide con la tribu del mismo nombre propuesta por van der Werff y Richter en 1996. Con estos datos se establece un grupo formado por *Neocinnamomun* – *Cassytha* - *Caryodaphnopsis*, otro integrado por *Chlorocardium*-*Mezilaurus* y un clado muy grande que recoge la mayoría de géneros incluidos en las

tribus *Perseeae-Laureae* de van der Werff y Richter en 1996, dentro de este gran clado el grupo *Persea* se restringe a las especies de este mismo género, y los géneros restantes se ubican en *laureae* incluyendo el denominado complejo *Ocotea* que agrupa varios de los géneros neotropicales y algunas especies presentes en África y Madagascar. (Mez, 1889). La **Figura 10** muestra de manera resumida la propuesta de Chanderbali y van der Werff de las relaciones filogenéticas dentro de la familia Lauraceae.

Figura 10: Árbol filogenético que resume las relaciones en la familia Lauraceae según Chanderbali & van der Werff 2001.



Rohwer & Rudolph (2005) hacen un nuevo análisis filogenético con el fin de aclarar algunas contradicciones observadas en el trabajo publicado en el año 2000 y utilizan un mayor número de datos de secuencias *matK* en conjunto con datos de secuencia *trnK*, se evidencia entre otros aspectos, que *Hypodaphnis* es hermano del resto de la familia y que, *Neocinnamomun* es cercano a *Caryiodaphnnosis* y el género *Cassytha* no es subbasal, sino un grupo anidado dentro del núcleo *Lauraceae* (**Figura 11**).

A través de la historia de la sistemática de Lauraceae, es interesante observar, cómo se parte de clasificaciones muy artificiales basadas en unos pocos caracteres morfológicos o biogeográficos, hasta árboles filogenéticos muy complejos en los que no solamente se

muestran relaciones filogenéticas sino también una dimensión temporal. Un segundo aspecto que resaltar es que aún con el empleo de herramientas de biología molecular quedan algunos grupos o taxones sin resolver (principalmente los ubicados en la región neotropical). También, es notorio el hecho de que la posición de algunos grupos generada mediante datos puramente morfológicos coincida con la filogenia obtenida a partir de los datos moleculares.

Previo a la propuesta de Van der Werff & H.G. Richter (1996) de emplear datos combinados de distinto tipo para obtener una clasificación de la familia Lauraceae más robusta y de mayor aceptación, Otto R. Gottlieb (1972) propone una clasificación de la familia Lauraceae atendiendo a caracteres fitoquímicos. El análisis de la presencia de distintos tipos de compuestos químicos como alcaloides, fenilpropanoides, flavonoides y compuestos de tipo terpénico entre muchos otros y sus particularidades estructurales como el grado y patrones de oxigenación conlleva a definir una clasificación que en algunas partes se ajusta a la propuesta de Kosterman. En esta nueva propuesta, se nota una visión más simplista de la estructura y relaciones dentro de la familia Lauraceae.

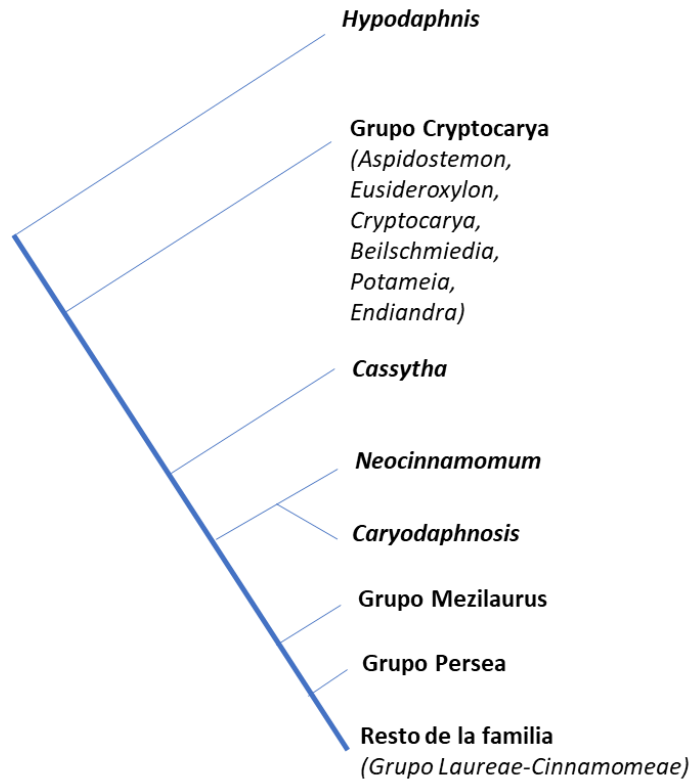
1.2 Posición de la familia Lauraceae dentro de las Angiospermas

Según Cronquist (1981) la familia *Lauraceae* junto con siete familias más (*Amborellaceae*, *Trimeniaceae*, *Monimiaceae*, *Gomortegoceae*, *Calycanthaceae*, *Hernandiaceae*, *Idiospermaceae*) conforman el orden *Lurales*. A su vez, el orden *Lurales* y siete ordenes más (*Magnoliales*, *Piperales*, *Aristolochiales*, *Illiciales*, *Nymphaeales*, *Ranunculales*, *Papaverales*) conforman la subclase *Magnoliidae*; esta subclase con cinco subclases más (*Hamamelidae*, *Caryophyllidae*, *Dillkeniidae*, *Rosidae* y *Asteridae*) conforman la clase *Magnoliopsida* que junto a la clase *Liliopsida* forman la división *Magnoliophyta* o Angiospermas.

Esta ubicación no es muy diferente de la propuesta por (Hilu, K. W., Borsch, T., Müller, K., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Savolainen, V., & Sauquet, H. 2003). realizada teniendo en cuenta secuencias del gen *matK* que ubica a la familia *Lauraceae* como la rama más avanzada del orden *Lurales* que junto a *Magnoliales*, *Piperales* y *Canellales* conforman el grupo de los *Eumagnoliidos*; En esta clasificación dentro del orden *Lurales* se

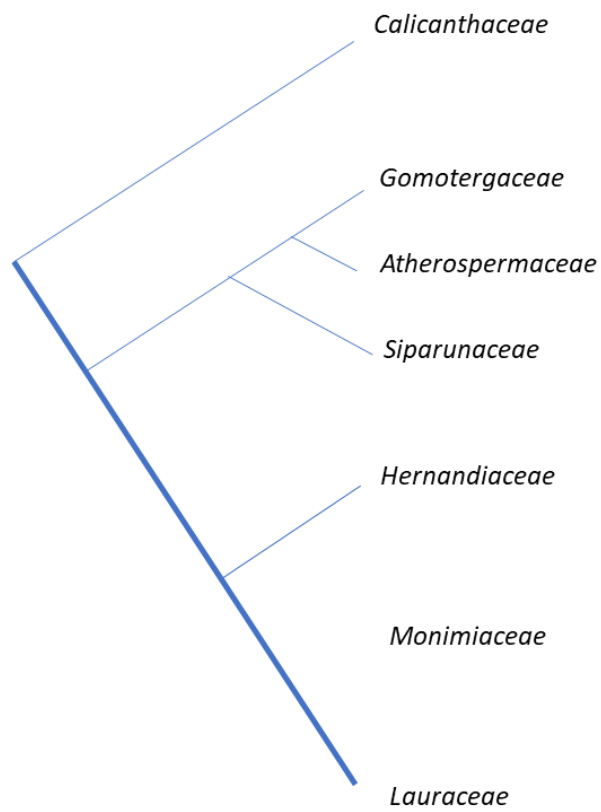
encuentran también las familias *Hernandiaceae*, *Monimiaceae*, *Atherospermataceae* y *Calicanthaceae*.

Figura 11: Árbol filogenético de las relaciones en la familia Lauraceae según Rohwer, J., & Rudolph, B., 2005.



En la actualidad, teniendo en cuenta el APG III (Bremer, Bremer, Chase, Fay, Reveal, Soltis & Stevens, 2009) basado en el empleo de información de marcadores moleculares e incluso registro y datación de los fósiles pertenecientes a los magnoliidos persiste controversia en las relaciones del grupo formado por las familias *Monimiaceae*, *Hernandiaceae* y *Lauraceae* (Massoni, J., Doyle, J., & Sauquet, H. 2015). La **Figura 12** ilustra la posición actual y relaciones filogenéticas de la familia Lauraceae según APG III.

Figura 12: Árbol filogenético de la familia Lauraceae en las angiospermas basales.



2. La familia Lauraceae en la actualidad

La familia *Lauraceae* constituye un grupo monofilético anidado en el orden de los Laurales del clado *Magnoliide* de las angiospermas (van der Werff, 1991) dentro del orden es la familia con mayor número de géneros y especies, seguido de la familia Monimiaceae que posee 24 géneros y 217 especies (Christenhusz & Byng, 2016).

De acuerdo con Christenhusz & Byng (2016), el número de nombres aceptados de plantas es de aproximadamente de 374,000 de las cuales 308,312 corresponden a plantas vasculares y de estos 295,383 son angiospermas, y estima para la familia Lauraceae un número aproximado de 45 géneros con 2850 especies.

Realmente aún no hay consenso sobre el número de géneros y especies que conforma la familia; así Rohwer (1996) y Chanderbali *et al.* (2001) estiman que el número de géneros esta alrededor de 50 y el número de especies entre 2500 y 3500. Según el *The Plant List*, base de datos que reúne información de los más renombrados jardines botánicos alrededor del mundo, a mayo de 2017 existen 115 nombres de géneros de los cuales 68 son aceptados (59%) y se reportan 7537 nombres de especies de los cuales 2978 son aceptados (39,5%). Por otro lado, según (Stevens, 2001) se reportan 96 nombres de géneros de los cuales 59 son aceptados (61%).

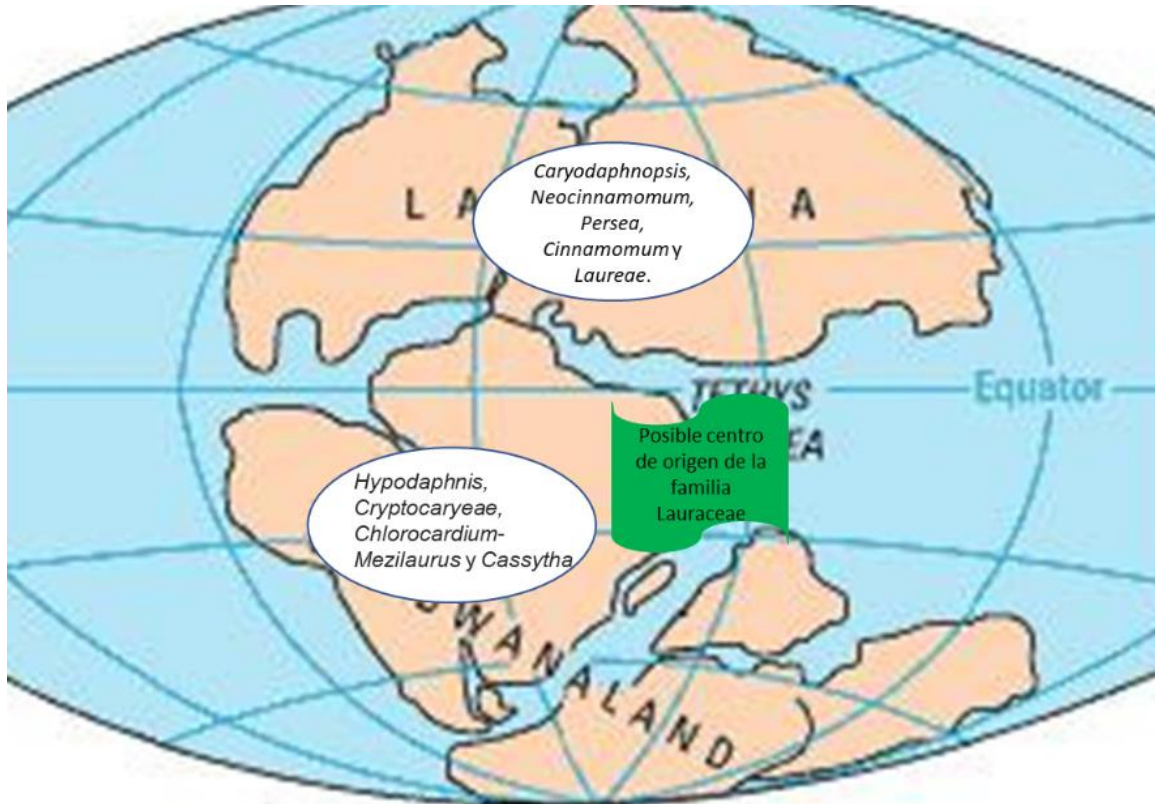
2.1 Origen de la familia Lauraceae

Al igual que la sistemática de la familia, y aun cuando se cuenta con un registro fósil abundante, tampoco existe consenso sobre el tiempo y lugar donde se originó la familia *Lauraceae*. Los registros fósiles más antiguos e incuestionables de la familia son hasta ahora los encontrados en Maryland (Estados Unidos) y según la datación efectuada, pertenecen al periodo cretácico medio. (Rohwer, 1993) en general desde el cretácico

temprano al cretácico tardío hay registros fósiles de alrededor de 500 especies de *Lauraceae* con una antigüedad aproximada de 110 millones de años (Renner, 2011).

Según lo expuesto por Chanderbali *et al.* (2001) los géneros y clados establecidos dentro de la familia pueden circunscribirse en dos regiones geograficas, el primero de posible origen en Gondwana al cual pertenecen los actuales grupos y géneros *Hypodaphnis*, *Cryptocaryeae*, *Chlorocardium-Mezilaurus* y *Cassytha*; el segundo con posible origen en Laurasia que recoge los grupos de *Caryodaphnopsis*, *Neocinnamomum*, *Persea*, *Cinnamomum* y *Laureae* (**Figura 13**). Una situación difícil de explicar se da con el denominado complejo *Ocotea* pues presenta especies neotropicales y también algunas en el viejo mundo concretamente en África tropical y Madagascar y no es claro si los antepasados de las especies neotropicales migraron a sur América a través de África o lo hicieron por Norteamérica.

Figura 13: Mapa que ilustra el posible centro de origen de la familia Lauraceae y sus principales grupos.



Calibraciones realizadas con base en análisis moleculares de secuencias ITS (*Internal transcribed spacer*) del clado *Chlorocardium-Mezilaurus* (el más basal encontrado en sur América) y ubicando la divergencia de este clado hace 90 millones de años en el cretácico medio, se llega a estimar que la radiación de la familia *Lauraceae* se dió hace 174 ± 32 millones de años a inicios del período cretácico; y al igual que el resto de las angiospermas el origen de esta familia pudo ser el este de Gondwana (Raven & Axelrod, 1974).

Massoni, Doyle & Sauquet, (2015) sitúan la radiación de la familia *Lauraceae* más tarde (107 m.a.), con base en calibraciones realizadas mediante registros fósiles.

2.2 Distribución geográfica y habitats de la familia *Lauraceae*

Actualmente las especies de la familia *Lauraceae* se encuentran distribuidas en regiones tropicales y subtropicales de los cinco continentes (pantropical), siendo especialmente numerosas y diversas en centro y sur América y sudeste asiático, algunos pocos géneros se encuentran en regiones templadas de América del Norte como la especie *Sassafras albidum* que se encuentra hasta en regiones de Maine (EE.UU.) y sur de Ontario (Canada). También al norte de Japón en Hokkaido se encuentran algunas especies del género *Lindera*. Hacia el hemisferio sur *Persea lingue* se encuentra en la isla Chiloe (Chile) y en Nueva Zelanda se encuentran tres especies de *Beilschmiedia* (Rohwer, 1993).

El género *Persea* posee representantes en las Américas, Asia y una especie en las islas Canarias, *Cinnamomum* se encuentra bien representado en Asia, América tropical y Australia. El género *Ocotea* presenta el mayor número de especies en América tropical y unas pocas especies en África, Madagascar e islas Canarias, solo *Beilschmiedia*, *Cryptocaria* y *Cassytha* presentan una distribución pantropical. Esta distribución de algunos géneros en diferentes continentes plantea un desafío desde el punto de vista filogenético y biogeográfico.

Muchos de los géneros son de distribución restringida y se encuentran principalmente en los mayores centros de diversidad ya sea en centro y sur América o en la región indomalaya; Así por ejemplo *Actinodaphne*, *Lindera*, *Litsea* y *Neolitsea* se encuentran el viejo mundo (Li, Li, Conran, Li & Li, 2007) y el género *Nectandra* únicamente posee una distribución neotropical (Rohwer & Kubitzki, 1993).

En Europa región del Mediterraneo actualmente solo se encuentra la especie *Laurus nobilis* siendo *Laurus* el único género europeo que persiste; (Arroyo, Martínez, Fernández & Álvarez, 2001) sin embargo, en este continente, se cuenta con un abundante registro fósil que indica la presencia de otros géneros como *Sassafras* en el mioceno tardío (Rohwer, 1993).

Especies de la familia *Lauraceae* pueden habitar nichos ecológicos muy contrastantes desde tierras bajas e inundables hasta ambientes muy áridos en los cuales los suelos están constituidos por arenas blancas, así mismo se pueden encontrar desde el nivel del mar hasta alturas cercanas a los 4,000 m.s.n.m. (Rohwer, 1993). En la **Figura 14** se observa la distribución actual de la familia Lauraceae a nivel mundial.

Figura 14: Mapa que ilustra la distribución actual de las especies de la familia Lauraceae



De los 52 géneros enumerados por (Rohwer, 1993) 29 se encuentran en las Américas (van der Werff, 1991) y de estos 19 son exclusivamente neotropicales. Estos datos coinciden con lo dicho por (Vargas, 2002) quien dice, que en América se reconocen 30 géneros. Estos datos indican que en cuanto a número de géneros en el neotrópico se encuentra cerca del 60% de la diversidad reportada a nivel mundial.

La **Tabla 1** muestra los géneros de Lauraceae presentes en el continente americano y el número estimado de especies de cada uno según (Rohwer, 1993 y van der Werff, 1991). Sin embargo, más recientemente (Chanderbali, Milliken, Klitgård & Baracat, 2009) incluye dentro de los géneros de Lauraceae Neotropicales a *Mocinnodaphne* con una especie que se encuentra en norte y centro América y también a *Sextonia* con dos especies presentes en sur América. Este autor no incluye a *Gamanthera* y *Lindera* como Neotropicales. Aunque *Sassafras* se encuentre en Asia (2 especies en China) y en América (1 en norte America) no se considera pantropical.

Tabla 1: Géneros de la familia Lauraceae presentes en el continente americano y número estimado de especies por género.

Género	Número de especies	Distribución
<i>Aiouea</i>	20	Neotropical (México-Parguay)
<i>Anaueria</i>	1	Neotropical (Brasil, Colombia y Perú)
<i>Aniba</i>	40-50	Neotropical (Costa Rica-Brasil y Bolivia)
<i>Beilschmiedia</i>	250 (20 neotropicales)	Pantropical
<i>Caryodaohnosis</i>	19 (12 neotropicales)	Pantropical
<i>Cassytha</i>	20 (1 neotropical)	Pantropical
<i>Chlorocardium</i>	2	Neotropical (norte de sur américa)
<i>Cinnamomun</i>	350 (50-60 neotropicales)	Pantropical
<i>Cryptocarya</i>	350 (≤10 neotropicales)	Pantropical
<i>Dicypellium</i>	2	Neotropical (Amazonía)
<i>Endlicheria</i>	40-45	Neotropical (Costa Rica-Sur de Brasil y Paraguay)

Tabla 1: Géneros de la familia Lauraceae presentes en el continente americano y número estimado de especies por género (Continuación)

Género	Número de especies	Distribución
<i>Gamanthera</i>	1	Neotropical (Costa Rica)
<i>Kubitzkia</i> sin.	1	Neotropical (Norte de Sur América)
<i>Systemonodaphne</i>		
<i>Licaria</i>	40	Neotropical (Florida-Brasil y Bolivia)
<i>Lindera</i>	104 (3 neotropicales)	Pantropical
Género	Número de especies	Distribución
<i>Litsea</i>	400 (5 neotropicales)	Pantropical
<i>Mezilaurus</i>	16-20	Neotropicales (norte de sur América)
<i>Nectandra</i>	120	Neotropical
<i>Ocotea</i>	350-360 (300 neotropicales)	Pantropical
<i>Paraia</i>	1	Neotropical (Amazonía)
<i>Persea</i>	200 (80 neotropicales)	Pantropical
<i>Phyllostemonodaphne</i>	1	Neotropical (Brasil)
<i>Pleurothyrium</i>	40-45	Neotropical
<i>Povedadaphne</i>	1	Neotropical
<i>Rhodostemonodaphne</i>	12-20	Neotropical
<i>Sassafras</i>	3 (1 Norteamérica)	Hemisferio Norte (Asia y América)
<i>Umbellularia</i>	1	Hemisferio Norte (Asia y norte América)
<i>Urbanodendron</i>	3	Neotropical (Brasil)
<i>Williamodendron</i>	3	Neotropical

Entre los 29 géneros existentes en las Américas se reúne un total 707 a 749 especies, representando cerca del 25% de las especies estimadas a nivel mundial.

2.3 La familia Lauraceae en Colombia

Según (Madriñan, 2009) hasta el 2017 se habían reportado 236 especies de *Lauraceae*, distribuidas en 18 géneros, y según el Catálogo de Plantas y Líquenes de Colombia

(Penagos & Madriñán, 2015) se reconocen 17 géneros y 255 especies. siendo los géneros *Ocotea*, *Endlicheria*, *Nectandra* y *Aniba* los más representativos en cuanto a número de especies con 60, 45, 35 y 23 respectivamente. La **Tabla 2** muestra la distribución de especies de *Lauraceae* en los diferentes géneros reportados en Colombia. Estos datos indican que el territorio colombiano se encuentra cerca del 35% de los géneros de la familia *Lauraceae* existentes a nivel mundial y el 60% de los géneros neotropicales. En cuanto a número de especies se puede afirmar que en Colombia existen entre el 7y el 10% de las especies de *Lauraceae* reportadas a nivel mundial y entre el 34 y 36% de las especies neotropicales.

Tabla 2: Géneros de la familia Lauraceae presentes en el territorio colombiano.

Género	No. Especies Lauraceae Colombianae	No. Especies Catálogo de plantas y líquenes de Colombia	% Aproximado
<i>Ocotea</i>	60	75	25-29
<i>Endlicheria</i>	45	41	16-19
<i>Nectandra</i>	34	28	11-14
<i>Aniba</i>	23	20	8-10
<i>Persea</i>	17	19	7
<i>Pleurothyrium</i>	11	16	5
<i>Rhodostemonodaphne</i>	10	13	4-5
<i>Licaria</i>	9	16	4-6
<i>Beilschmiedia</i>	6	5	2
<i>Aiouea</i>	6	7	2-3
<i>Caryodaphnopsis</i>	5	4	2
<i>Mezilaurus</i>	4	4	<2
<i>Cinnamomun</i>	1	3	<1
<i>Cassytha</i>	1	1	<1
<i>Anaueria</i>	1	1	<1
<i>Chlorocardium</i>	1	1	<1
<i>Cryptocarya</i>	1	-	<1
<i>Williamodendrom</i>	1	1	<1
Total	236	255	100

2.4 Características morfológicas

Las *Lauraceae*, presentan hojas simples, alternas y dispuestas en espiral, la forma de la lámina puede ser elíptica oblonga o obovada de tamaño variable, casi siempre mayor de diez cm, de textura coriácea o papirácea, generalmente glabra y con borde liso, algunas veces con envés blanquecino, pecíolos cortos sin estípulas. Nervación pinnada, raras veces trinervia, frecuentemente con venas terciarias paralelas. Inflorescencias en dicasio o panículas, subterminales o axilares; flores bisexuales, de color verde claro crema, de 4-8 mm de diámetro, glabras o pubescentes. La flor presenta seis tépalos libres, dispuestos en dos series, estambres en igual número de tépalos mas tres estambres localizados en el centro de la flor alrededor del estigma, anteras con 2 a 4 tecas. Fruto carnoso con una sola semilla y frecuentemente sustentado por una cúpula basal (Rohwer, 2000). En la **Figura 15** se observa la ilustración de la especie *Laurus nobilis* que es la especie representativa de la familia Lauraceae.

Figura 15: Especie *Laurus nobilis*.



Fuente:

http://www.plantgenera.org/illustration.php?id_illustration=259675&SID=0&mobile=0&code_category_taxon=1&size=1

En algunas especies al herir la corteza se presenta una sustancia de aspecto baboso que se oxida tomando una coloración café, algunas especies presentan asociaciones con hormigas dentro de las ramas jóvenes. La arquitectura de los árboles se caracteriza por presentar un tallo central y ramas laterales arqueadas, cuya yema apical se encuentra por encima del eje central. La diferenciación entre los géneros se basa primordialmente

en características florales, razón por la cual es casi imprescindible contar con material fértil para una exitosa determinación. La mayoría de las especies son árboles, algunos pocos arbustos y solo un género (*Cassytha*) que es una hierba parásita con pocas especies.

2.4.1 Características morfológicas de los principales géneros presentes en Colombia

- ***Ocotea Aublet.***: Árboles con hojas alternas, en ocasiones subopuestas o subverticiladas, en las hojas se observan nervaduras con venas terciarias paralelas; las inflorescencias se dan en cimas o panículas terminales o laterales y casi siempre con abundantes flores. Flores bisexuales o unisexuales, con tépalos generalmente glabros, los estambres presentan cuatro tecas dispuestas en arco o sobrepuestas; se presenta fruto con forma muy variable en forma y tamaño, cúpulas basal leñosas, de margen simple, aplanada o campanulada. Las especies de este género, con frecuencia presentan asociaciones con hormigas que viven dentro de los tallos huecos. (Vargas, 2002; Rohwer, 1993).
- ***Endlicheria Nees.***: Árboles en los cuales algunas veces se presentan hojas penninervadas, rara vez triplinervadas, en algunas especies verticiladas con nervación terciaria reticulada muy notoria por el haz; Flores unisexuales con dos tecas por antera, en las flores masculinas el ovario es rudimentario, muy reducido o ausente; Frutos con cúpula de poca profundidad y tépalos deciduos. (Vargas, 2002; Rohwer, 1993).
- ***Nectandra Rolander ex Rottb.***: Género similar a *Ocotea*, son árboles de hojas alternas o subopuestas, o raramente opuestas, penninervadas, lámina foliar estrechamente elíptica, generalmente de base revoluta, haz brillante; venas secundarias ascendentes, las terciarias forman una retícula fina. Inflorescencias tyrsopaniculadas. Flores trímeras, bisexuales, tépalos de superficie interna pilosa o pubescente, 9 estambres fértiles, anteras con tecas en arco y no sobrepuestas. El fruto se encuentra sobre una cúpula discoide o en forma de copa. A diferencia de *Ocotea*, no presentan asociaciones con hormigas. (Vargas, 2002; Rohwer, 1993).
- ***Aniba Aublet.***: Árboles que presentan hojas alternas o verticiladas, coriáceas y generalmente glabras, envés blanquecino y reticulado, en algunas especies las hojas se agrupan en los extremos de las ramas en forma de penacho, las inflorescencias se presentan paniculadas y pueden estar axilares o terminales. Las flores son bisexuales,

pediceladas, brácteas caducas, tubo floral conspicuo, con 6 tépalos de igual longitud o los externos más cortos que los internos, erectos, 9 estambres fértiles con dos tecas; frutos elipsoides con cúpula basal leñosa (Vargas, 2002; Rohwer, 1993).

2.5 Características fitoquímicas de la familia Lauraceae

La familia se caracteriza por la presencia de chalconas, alcaloides (Pabon & Cuca, 2010; Toribio, Bonfils, Delannay, Prost, Harakat, Henon & Renault, 2006), neolignanós, sesquiterpenos (Coy, Cuca & Sefkow, 2009; Funasaki, Lordello, Viana, Santa-Catarina, Floh, Yoshida & Kato, 2009), butanolidos (Pan, Cheng, Peng, Huang, Chen & Chen, 2010), pironas, todos ellos, compuestos con comprobada actividad de interés farmacológico (Barrera & Suárez, 2007; Rali, Wossa & Leach, 2007) y aceites esenciales compuestos por terpenoides, (monoterpenos y sesquiterpenos y sus derivados oxigenados) derivados de ácido benzoico y arilpropanos (Fernández, 2009; Gottlieb, 1972).

Dentro de los principales grupos de metabolitos secundarios encontrados, en esta familia sobresale la presencia de aceites esenciales. En el caso de la familia Lauraceae los aceites esenciales se pueden encontrar localizados en diferentes partes de la planta tales como hojas, corteza, madera, flores y frutos; algunas de las especies más reconocidas por su contenido de aceites esenciales son el Laurel (*Laurus nobilis*) de origen mediterráneo y la canela (*Cinnamomun verum* y *Cinnamomun cassia*) de origen asiático, ampliamente empleados desde la antigüedad principalmente como especias y en medicina tradicional, también se encuentra el alcanfor (*Cinnamomun camphora*) de origen asiático, conocido y empleado desde la antigüedad en medicina tradicional, especies del género *Sassafras* de origen norteamericano o asiático, cuyos aceites esenciales son caracterizados por un alto contenido de safrol hasta un 80% los cuales han sido empleados con distintos fines, incluyendo la evaluación de la actividad leishmanicida (Monzote, García, Montalvo, Scull & Miranda, 2010).

El árbol de palo de rosa (*Aniba rosaeodora*) es una especie de origen americano (cuenca del Amazonas) esta especie fue llamada “El dorado en forma de árbol”, siendo explotada indiscriminadamente en las selvas de Brasil, Perú, Ecuador y Colombia, para extraer de la madera un aceite esencial muy apreciado en perfumería y jabonería por su alto

contenido de linalool, el cual puede llegar hasta un 95% de la composición total del aceite (Sampaio, Maia, Parijós, Souza & Barata, 2012; Simić, Soković, Ristić, Grujić-Jovanović, Vukojević & Marin, 2004).

Comercialmente, los aceites más conocidos de la familia Lauraceae son los ricos en compuestos aromáticos como cinamaldehído y sus derivados *C. verum* y *C. camphora*. (Bandoni, 2000). Un análisis preliminar de la composición reportada para aceites obtenidos de especies pertenecientes a la familia *Lauraceae* (**Tabla 3**) permite clasificarlos en dos grandes grupos; unos en los que los compuestos mayoritarios son originados por la ruta del ácido shiquímico (representan más del 50% de la composición) y los otros originados por la ruta del ácido mevalónico, o aceites terpénicos (representan más del 50% de la composición).

Dentro del primer grupo se encuentran aceites mayoritariamente del género *Cinnamomun* de origen asiático y en menor número de los géneros *Ocotea* y *Aniba* de origen americano (*Cinnamomun zeylanicum*, *C. osmophloeum*, *C. osmophloeum*, *Ocotea quixos*, *O. bofo*, *Aniba canelilla*). (Ballabeni, Tognolini, Bertoni, Bruni, Guerrini, Rueda & Barocelli, 2007; Marongiu, Piras, Porcedda, Tuveri, Sanjust, Meli & Rescigno, 2007; Da Silva, Sousa, Andrade & Maia, 2007; Cheng, Liu, Tsai, Chen & Chang, 2004; Jayaprakasha, Jagan Mohan Rao & Sakariah, 2000; Fang, Chen & Cheng, 1989).

En el grupo de aceites terpénicos se encuentran aceites producidos especialmente por los géneros *Ocotea* (*O. floribunda*, *O. holdrilgeana*, *O. mezina*, *O. sinuata*, *O. tonduzzi*, *O. valeriana*, *O. veraguensis*, *O. whitei*, *O. caparrapi*, *O. mandioccana*, *O. brenesii*), *Cryptocarya* (*C. mandioccana*), *Licaria* (*L. exelsa*, *L. triandra*), *Persea* (*P. schiedeana*, *P. tolimanensis*, *P. duthiei*, *P. odoratisima*, *P. gamblei*), *Hodostemonodaphne* (*R. kunthiana*), *Laurus* (*L. nobilis*), *Machilus* (*M. japonica*), *Neolitsea* (*N. Pallens*) *Lindera* (*L. pulcherrima*), y *Phoebe* (*Ph. lanceolata*) entre otros (Takaku, Haber & Setzer, 2007, Palomino, Maldonado, Kempff & Ksebati, 1996; Palazzo, Agius, Wright, Haber, Moriarity & Setzer, 2009; Kilic, Hafizoglu, Kollmannsberger & Nitz, 2004; Flamini, Cioni & Morelli, 2002; Scora & Ahmed, 1993; Chaverri & Ciccio, 2005; Pham, Do & Do, 2009; Joshi, Verma & Mathela, 2010; Parthasarathy, Chempakam & Zachariah, 2008).

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Ocotea quixos</i>	Rendimiento: 1,9 % Monoterpenos: 16% Sesquiterpenoides: 8,3% Aromáticos: 57%	Amazonía ecuatoriana Cáliz	Arrastre con vapor CG/EM RMN ¹³ C	Ballabeni, <i>et al.</i> 2007
<i>Ocotea floribunda</i>	Rendimiento: 0,138% Monoterpenos: 48,9% Monoterpenoides: 0,8% Sesquiterpenos: 5,1% Sesquiterpenoides: 10,6% Diterpenos. 34.0%	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	Takaku, Haber & Setzer, 2007.
<i>Ocotea holdrilgeana</i>	Rendimiento. 0,026 Monoterpenos: 40.5% Monoterpenoides: 0,7% Sesquiterpenos: 46,9% Sesquiterpenoides: 3,5% Derivados de ácido graso: 8,4 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	
<i>Ocotea meiziana</i> # 1	Rendimiento: 0,040% Monoterpenos: 48,7% Monoterpenoides: 2,2% Sesquiterpenos: 46,9% Sesquiterpenoides: 1,6% Derivados de ácido graso: 0,6 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Ocotea meziana</i> # 2	Rendimiento: 0,113% Monoterpenos: 29,2% Monoterpenoides: 1,1% Sesquiterpenos: 66,5% Sesquiterpenoides: 2,4% Derivados de ácido graso: 0,7 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	Takaku, Haber & Setzer, 2007
<i>Ocotea meziana</i> # 3	Rendimiento: 0,030% Monoterpenos: 4,1% Monoterpenoides: 0,0% Sesquiterpenos: 86,2% Sesquiterpenoides: 6,8% Derivados de ácido graso: 2,9 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	
<i>Ocotea sinuata</i>	Rendimiento: 0,062% Monoterpenos: 44,0% Monoterpenoides: 5,9% Sesquiterpenos: 31,6% Sesquiterpenoides: 1,5% Derivados de ácido graso: 17,0 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	
<i>Ocotea tonduzzi</i>	Rendimiento: 0,171% Monoterpenos: 70,5% Monoterpenoides: 1,9% Sesquiterpenos: 22,6% Sesquiterpenoides: 4,5% Derivados de ácido graso: 0,5 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Ocotea valeriana</i>	Rendimiento: 0,048% Monoterpenos: 1,4% Monoterpenoides: 0,0% Sesquiterpenos: 84,6% Sesquiterpenoides: 12,7% Derivados de ácido graso: 1,2 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	Takaku, Haber & Setzer, 2007
<i>Ocotea veraguensis</i>	Rendimiento: 0,287% Monoterpenos: 27,5% Monoterpenoides: 2,3% Sesquiterpenos: 10,1% Sesquiterpenoides: 58,8% Derivados de ácido graso: 1,1 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	
<i>Ocotea whitei</i>	Rendimiento: 0,242% Monoterpenos: 22,0% Monoterpenoides: 3,1% Sesquiterpenos: 40,3% Sesquiterpenoides: 33,8% Derivados de ácido graso: 0,8 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	
<i>Ocotea</i> "los llanos" nueva especie	Rendimiento: 0,024% Monoterpenos: 76,5% Monoterpenoides: 1,2% Sesquiterpenos: 9,8% Sesquiterpenoides: 10,0% Derivados de ácido graso: 2,1 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Ocotea "Small leaf"</i> nueva especie	Rendimiento: 0,157% Monoterpenos: 7,3% Monoterpenoides: 0,0% Sesquiterpenos: 88,0% Sesquiterpenoides: 3,8% Derivados de ácido graso: 0,9 %	Costa Rica Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM IRL	Takaku, Haber & Setzer, 2007
<i>Ocotea caparrapi</i>	Rendimiento: No reportado (NR) Sesquiterpenos 30% Sesquiterpenoides: 70%	Caparrapi Colombia Tronco	Incisión del tronco	Palomino, Maldonado, Kempff & Ksebati, 1996).
<i>Ocotea bofo</i>	Rendimiento: 0,78% Monoterpenos: 1,3% Monoterpenoides: 0,15% Sesquiterpenos: 3,05% Aromáticos: 48,99%	Ecuador Cáliz floral	Arrastre con vapor CG/EM RMN ¹³ C	Guerrini, <i>et al.</i> , 2006
<i>Ocotea brenessi</i>	Rendimiento: 0,06% Monoterpenos: 0,2% Monoterpenoides: 0,2% Sesquiterpenos: 53,4% Sesquiterpenoides: 29,9% Otros: 2,2 %	Costa Rica Hojas	Hidrodestilación CG/EM	Chaverri & Cicció, 2005
<i>Ocotea brenessi</i>	Rendimiento: 0,02% Monoterpenos: 0,1% Monoterpenoides: 1,4% Sesquiterpenos: 32,3% Sesquiterpenoides: 34,6% Otros: 0,6 %	Costa Rica Madera	Hidrodestilación CG/EM	

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Ocotea longifolia</i>	Rendimiento: 0,23% Monoterpenos: 91,67% Monoterpenoides: - Sesquiterpenos: 6,20% Sesquiterpenoides: 0,42% Otros: -	Colombia Hojas	Arrastre con vapor CG/EM	Prieto, Pabón, Patiño, Delgado & Cuca, 2010
<i>Ocotea macrophylla</i>	Rendimiento: <0,1% Monoterpenos: 0,6% Monoterpenoides: - Sesquiterpenos: 48,01% Sesquiterpenoides: 22,63% Otros: 1,06 %	Colombia Hojas	Arrastre con vapor CG/EM	
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Rendimiento: 0,80% Monoterpenos: 2,6% Monoterpenoides: 2,7% Sesquiterpenos: 7,2% Sesquiterpenoides: 0,8% Aromáticos: 86,4%	Sri Lanka Corteza	Extracción con fluidos supercríticos	Marongiu, <i>et al.</i> , 2007
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: < 1% Sesquiterpenos: <3% Aromáticos: 78,5% Derivados de ácido graso: 5,7%	Sri Lanka Corteza	Arrastre con vapor	

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Rendimiento: 0,24% Monoterpenos: 26,1% Monoterpenoides: 13,9% Sesquiterpenos: 16,6% Sesquiterpenoides: 3,4% Aromáticos: 27,8% Derivados de ácido graso: 4,1	Sri Lanka Corteza	Hidrodestilación	Marongiu, <i>et al.</i> , 2007.
<i>Cinnamomum osmophloeum</i>	Rendimiento: 0,55% Monoterpenos: 1,49% Monoterpenoides: 57,1% Sesquiterpenos: 2,92% Sesquiterpenoides: 28,6%	Taiwan-China Hojas	Arrastre de vapor	Chao, <i>et al.</i> , 2005
<i>Cinnamomum osmophloeum</i> # 1	Rendimiento: 0,89-1,11% Monoterpenos: 0-0,26% Monoterpenoides: 0-4,69% Sesquiterpenos: 1,34-7,36% Sesquiterpenoides: 0,79-5,74% Diterpenos: 0- 1,41% Diterpenoides: 0-1,11% Aromáticos: 79,28-97,88%	Taiwan-China Hojas	Arrastre de vapor	Cheng, <i>et al.</i> , 2004
<i>Cinnamomum osmophloeum</i> # 2	Rendimiento: 0,13% Monoterpenos: 0,1% Monoterpenoides: 11,90% Sesquiterpenos: 14,52% Sesquiterpenoides: 51,01% Aromáticos: 8,99%	Taiwan-China Hojas	Hidrodestilación	

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Cinnamomum osmophloeum</i> # 3	Rendimiento: 1,02-2,19% Monoterpenos: 0-9,01% Monoterpenoides: 1,54-1,61% Sesquiterpenos: 1,95-2,55% Sesquiterpenoides: 1,20-2,26% Diterpenos: 0-2,52% Diterpenoides: 0-1,57% Aromáticos: 87,10-89,49%	Taiwan-China Hojas	Arrastre de vapor	Cheng, <i>et al.</i> , 2004
<i>Cinnamomum osmophloeum</i>	Rendimiento: 0,82% Monoterpenos: 13,91% Monoterpenoides: 73,51% Sesquiterpenos: 3,01% Sesquiterpenoides: 3,74% Aromáticos: 5,81%	Taiwan-China Hojas	Arrastre de vapor	
<i>Cinnamomum osmophloeum</i>	Rendimiento: 4,69% Monoterpenos: 0% Monoterpenoides: 93,68% Sesquiterpenos: 1,02% Sesquiterpenoides: 1,62% Aromáticos: 2,88%	Taiwan-China Hojas	Arrastre de vapor	
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Rendimiento: 0,8% Monoterpenos: 0,4% Monoterpenoides: 0,7% Sesquiterpenos: 42,98% Sesquiterpenoides: 12,06% Aromáticos: 39,84%	Sri Lanka Frutos	Hidrodestilación CG/EM	Unlu, Ergene, Unlu, Zeytinoglu & Vural, 2010

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Cinnamomum osmophloeum</i>	Rendimiento: 0,13% Monoterpenos: 0,22% Monoterpenoides: 4,42% Sesquiterpenos: 0,7% Sesquiterpenoides: 0,01% Aromáticos: 90,28%	Taiwvan-China Hojas	Arrastre de vapor	Jayaprakash a, Jagan & Sakariah, 2000
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Rendimiento: 0,5% Monoterpenos: 0% Monoterpenoides: 0,32% Sesquiterpenos: 19,07% Sesquiterpenoides: 19,12% Aromáticos: 49,0% Derivados de ácido graso: 8,71%	India Flores	Arrastre con vapor SPME-CG/EM	
<i>Persea schiedeana</i>	Rendimiento: 0,706% Monoterpenos: 0,1% Monoterpenoides: 0% Sesquiterpenos: 84,5% Sesquiterpenoides: 15,3%	Monteverde-Costa Rica Hojas	Hidrodestilación CG/EM IRL	Fang, Chen & Cheng, 1989
<i>Persea tolimanensis</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 40,95% Monoterpenoides: 10,66% Sesquiterpenos: 33,36% Sesquiterpenoides: 1,71% Alquifuranos: 6,6%	California-USA Hojas maduras	Arrastre de vapor CG/EM	Kilic, Hafizoglu, Kollmannsberger & Nitz, 2004
<i>Persea duthiei</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 30% Monoterpenoides: 13,2%	India Hojas frescas	Arrastre de vapor CG/EM IRL RMN ¹ H y ¹³ C	Joshi, Verma & Mathela, 2010

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Persea odoratissima</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 29,7% Sesquiterpenos: 10,4%	India Hojas frescas	Arrastre de vapor CG/EM IRL RMN ¹ H y ¹³ C	Joshi, Verma & Mathela, 2010
<i>Persea gamblei</i>	Rendimiento: NR Sesquiterpenos: 38,9%	India Hojas frescas	Arrastre de vapor CG/EM IRL RMN ¹ H y ¹³ C	
<i>Dodecadendria grandiflora</i>	Rendimiento: NR Furanodieno: 13,7% Sesquiterpenos: 26,0%	India Hojas frescas	Arrastre de vapor CG/EM IRL RMN ¹ H y ¹³ C	
<i>Phoebe lanceolata</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 26,3% Sesquiterpenos: 27%	India Hojas frescas	Arrastre de vapor CG/EM IRL RMN ¹ H y ¹³ C	
<i>Lindera pulcherrima</i>	Rendimiento: NR Furanodienona: 46,6% Curzerenona: 17,6%	India Hojas frescas	Arrastre de vapor CG/EM IRL RMN ¹ H y ¹³ C	
<i>Neolitsea pallens</i>	Rendimiento: NR Sesquiterpenos: 6,6% Sesquiterpnoides: 59,5%	India Hojas frescas	Arrastre de vapor CG/EM IRL RMN ¹ H y ¹³ C	

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Machilus japonica</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 95,6% Monoterpenoides: 1,3% Sesquiterpenos: 0,5% Derivado de ácido graso: 0,2%	Vietnam Hojas jóvenes	Hidrodestilación CG/EM	Pham, Do & Do, 2009
<i>Nectandra salicina</i>	Rendimiento: 0,1% Monoterpenos: 17,5% Monoterpenoides: 0% Sesquiterpenos: 51,1% Sesquiterpenoides: 22,4% Otros: 1,6%	Costa Rica Hojas	Hidrodestilación CG/EM IRL	Ciccío, Chaverri & Díaz, 2009
<i>Nectandra salicina</i>	Rendimiento: 0,2% Monoterpenos: 7,7% Monoterpenoides: 1,6% Sesquiterpenos: 40,7% Sesquiterpenoides: 36,2%	Costa Rica Ramas	Hidrodestilación CG/EM IRL	
<i>Listea mushaensis</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 16,2% Monoterpenoides: 0% Sesquiterpenos: 10,1% Sesquiterpenoides: 34,4%	Taiwan-China Hojas	Hidrodestilación CG/EM IRL	Ho, <i>et al.</i> , 2010
<i>Cryptocarya mandioccana</i>	Rendimiento: 0,18% Monoterpenos: 10,2% Monoterpenoides: 0% Sesquiterpenos: 48,3% Sesquiterpenoides: 38,5%	Sao Paulo- Brazil Hojas	Hidrodestilación CG/EM RMN ¹³ C IRLL	Telascrea, <i>et al.</i> , 2007

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Licaria exelsa</i>	Rendimiento: 0,145% Monoterpenos: 85,7% Monoterpenoides: 3,5% Sesquiterpenos: 9,8% Sesquiterpenoides: 1,1%	Monteverde- Costa Rica Hojas	Hidrodestilación CG/EM IRL	Palazzo, <i>et al.</i> , 2009
<i>Licaria triandra</i>	Rendimiento: 0,722% Monoterpenos: 77,7% Monoterpenoides: 0% Sesquiterpenos: 17,2% Sesquiterpenoides: 5,1%	Monteverde- Costa Rica Hojas	Hidrodestilación CG/EM IRL	
<i>Rhodostemonoda phne kunthiana</i>	Rendimiento: 0,374% Monoterpenos: 0% Monoterpenoides: 0% Sesquiterpenos: 91,9% Sesquiterpenoides: 8,1%	Monteverde- Costa Rica Hojas	Hidrodestilación CG/EM IRL	
<i>Rhodostemonoda phne kunthiana</i>	Rendimiento: 0,07% Monoterpenos: 1,65% Monoterpenoides: 12,48% Sesquiterpenos: 79,71% Sesquiterpenoides: 8,1%	Monteverde- Costa Rica Hojas	Hidrodestilación CG/EM IRL	
<i>Rhodostemonoda phne parvifolia</i>	Rendimiento: 0,01% Monoterpenos: - Monoterpenoides: 15,40% Sesquiterpenos: 48,70% Sesquiterpenoides: 35,90%	Monteverde- Costa Rica Ramas	Hidrodestilación CG/EM IRL	

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Aniba canelilla</i> (HBK) Mez = <i>Cryptocarya canelilla</i> = <i>Aniba elliptica</i>	Rendimiento: 1,3% Monoterpenos: 4,0% Monoterpenoides: 8,2% Sesquiterpenos: 7,3% Sesquiterpenoides: 3,8% Aromáticos: 70,2-92,1% (2-nitrofeniletano)	Amazonas- Brasil Madera	Hidrodestilación CG/EM RMN ¹ H	Da Silva, Sousa, Andrade & Maia, 2007
<i>Aniba canelilla</i> (HBK) Mez = <i>Cryptocarya canelilla</i> = <i>Aniba elliptica</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 0,5% Monoterpenoides: 0,3% Sesquiterpenos: 0% Sesquiterpenoides: 3,8% Aromáticos: 96% (metileugenol 25,8%)	Amazonas- Brasil Hojas	Hidrodestilación CG/EM RMN ¹ H	
<i>Aniba canelilla</i> (HBK) Mez = <i>Cryptocarya canelilla</i> = <i>Aniba elliptica</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 1,3% Monoterpenoides: 0,3% Sesquiterpenos: 0% Sesquiterpenoides: 3,5% Aromáticos: 92,3 % (metileugenol 2,0%)	Amazonas- Brasil Hojas	Hidrodestilación CG/EM RMN ¹ H	
<i>Laurus nobilis</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 16,5% Monoterpenoides: 73,9% Sesquiterpenos: 0,8% Sesquiterpenoides: 0,4% Aromáticos: 6,6%. Derivados de ácido graso: 0%	Turkia Flores masculinas	SPME-CG/EM CG/EM	Díaz, Pérez & Cabezudo, 2002.

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Laurus nobilis</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 13,6% Monoterpenoides: 43,1% Sesquiterpenos: 6.5% Sesquiterpenoides: 23,8% Aromáticos: 1,0% Derivados de ácido graso: 0,8%	Turkia Hojas jóvenes	Extracción con disolventes CG/EM	Kilic, <i>et al.</i> , 2004
<i>Laurus nobilis</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 27,3% Monoterpenoides: 42,5% Sesquiterpenos: 3,3% Sesquiterpenoides: 11,6% Aromáticos: 3,1% Derivados de ácido graso: 0,7%	Turkia Hojas maduras	Extracción con disolventes CG/EM	
<i>Laurus nobilis</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 26,6% Monoterpenoides: 22,9% Sesquiterpenos: 19,4% Sesquiterpenoides: 3,4% Aromáticos: 1,0% Derivados de ácido graso: 0%	Turkia Botones	Extracción con disolventes CG/EM	

Tabla 3: Composición por tipo de compuestos de algunos aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae (Continuación)

Especie	Cantidad y tipo de aceite esencial	Origen del material vegetal/ Órgano de la planta analizados	Metodologías de extracción y análisis	Referencia
<i>Laurus nobilis</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 17,5% Monoterpenoides: 12,3% Sesquiterpenos: 23,4% Sesquiterpenoides: 11,8% Aromáticos: 0% Derivados de ácido graso: 0%	Turkia Flores	Extracción con disolventes CG/EM	Kilic, <i>et al.</i> , 2004
<i>Laurus nobilis</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 9,5% Monoterpenoides: 13,0% Sesquiterpenos: 23,5% Sesquiterpenoides: 3,4% Aromáticos: 0,3% Derivados de ácido graso: 0%	Turkia Frutos	Extracción con disolventes CG/EM	
<i>Laurus nobilis</i>	Rendimiento: NR Monoterpenos: 16,2% Monoterpenoides: 69,6% Sesquiterpenos: 0,4% Sesquiterpenoides: 0% Aromáticos: 11,5% Derivados de ácido graso: 0%	Turkia Flores femeninas	SPME-CG/EM CG/EM	Flamini, Cioni & Morelli, 2002

Además, algunos aceites como los de *Aniba canelilla* (HBK) Mez son interesantes por su composición, donde el aceite esencial se puede clasificar como de tipo aromático y tiene como compuesto mayoritario 1-Nitro-2-feniletano; tanto el aceite esencial como el compuesto nitrogenado puro, han sido objeto de estudios que muestran la importancia de

este compuesto en el sistema cardiovascular (de Siqueira, Xavier, Duarte, Magalhães, da Silva & Lahlou, 2011).

2.6 Quimiotaxonomía de la familia Lauraceae

El estudio de la diversidad biológica presente en el territorio colombiano plantea un reto enorme, pues según datos de SIB Colombia se calcula que son un poco más de 56.000 especies; de estas casi un 50% (25.000) son vegetales que habitan los diferentes nichos ecológicos a lo largo y ancho del territorio (Colombia, S. I. B., 2012). Dentro de las etapas iniciales para el estudio y conservación de esta diversidad está la elaboración de inventarios, para lo cual se requiere de contar con métodos eficaces para las determinaciones taxonómicas y establecer el número real de especies presentes.

Para algunos taxones esta labor no es fácil, pues no se han desarrollado claves adecuadas, no hay personal con la experiencia suficiente, los especímenes de las colecciones no ofrecen la suficiente información (caracteres florales y frutales) para la adecuada determinación, es así como muchas de las muestras permanecen sin identificar o simplemente están mal identificadas, este hecho es particularmente notorio para la familia *Lauraceae*. (Chanderbali, Milliken, Klitgård & Baracat, 2009; Madriñan, 2014).

Entonces se hace necesario implementar metodologías que contribuyan a la determinación taxonómica de estos taxones, que presentan algún grado de dificultad, empleando las metodologías actuales; dentro de las posibles alternativas están el uso de herramientas de la biología molecular y también la identificación de metabolitos secundarios que pueden servir como quimiomarcadores.

Según Wink (2003) el estudio de la diversidad y número de metabolitos secundarios y su distribución, han sido reconocidos por cerca de 200 años como elementos útiles en sistemática vegetal; sin embargo, solo en los últimos cuarenta años se han hecho aportes importantes en este campo. En este periodo de tiempo, la quimiotaxonomía ha tenido impacto sobre la sistemática de plantas y han sido desarrollados nuevos sistemas de clasificación con base en el patrón de distribución de metabolitos secundarios (Wink,

2011). Es así, como atendiendo a la diferencia en la composición química de aceites esenciales es posible establecer diferentes quimiotipos dentro de una misma especie (Torras, Grau, López & de las Heras, 2007).

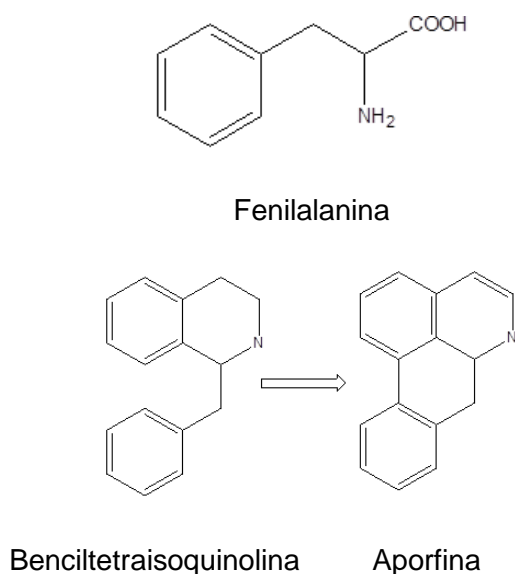
Es necesario tener en cuenta que las diferencias observadas en el contenido de metabolitos secundarios, puede ser generada por distintos factores, tales como variaciones fisiológicas, condiciones ambientales, geográficas o factores genéticos y evolutivos (Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J., 2008). Así las diferencias observadas en la composición química, que no dependen de factores extrínsecos, sino que solo son producto de la expresión de vías metabólicas diferentes y por tanto consecuencia de diferencias a nivel genético, permiten de forma indirecta caracterizar estos individuos genéticamente (Cunha, A. P., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., & Cunha, A., 2005).

En 1972 el Dr. Otto Gottlieb publica un review en el cual se discuten los diversos constituyentes químicos de las *Lauraceae* en relación con la taxonomía de la familia existente en el momento. Gottlieb encontró que la variación en los arilpropanoides, alcaloides, flavanoides y constituyentes terpénicos revelan aspectos evolutivos que dejan ver algunas relaciones espacio temporales; también observó que dichas relaciones en buena medida están de acuerdo con el sistema de clasificación de la familia propuesto por Kosterman (Gottlieb, 1972).

En primer lugar, Gottlieb identifica los alcaloides de tipo benciltetraisoquinolina y aporfina como unos metabolitos de mayor ocurrencia en la familia; aunque ambos tipos son derivados de fenilalanina, las aporfinas son biosintéticamente más complejas que las benciltetraisoquinolinas (**Figura 16**). De acuerdo con sus observaciones, Gottlieb concluye que según el sistema de Kosterman las *Perseae* situadas en la parte inferior del sistema son capaces de producir solo los alcaloides más primitivos y los *Cryptocaryeae* localizados en la parte superior son capaces de generar modificaciones sobre las benciltetraisoquinolinas para producir estructuras de mayor complejidad, y entre estos dos grupos coloca las tribus *Cinnamomeae* y *litseeae* con el potencial de generar compuestos intermedios entre los dos extremos.

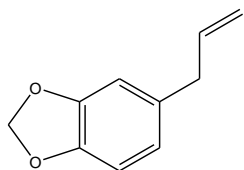
Además de los alcaloides, los cuales definitivamente no tienen ubicuidad en todas las especies de la familia, los arilpropanoides y sus derivados se colocan como sustitutivos de los alcaloides, esto es particularmente notorio en el género *Aniba*. Estudios posteriores han demostrado que tanto alcaloides como arilpropanoides pueden estar presentes en la misma especie (Coy, Cuca & Sefkow, 2009; Barrera & Suárez, 2009; Pabon & Cuca, 2010).

Figura 16: Principales tipos de núcleos alcaloidales encontrados en especies de la familia Lauraceae derivados de fenilalanina.

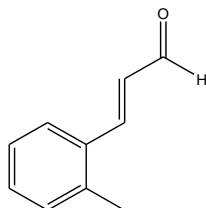


Los compuestos tipo arilpropanos (**Figura 17**) también muestran una amplia distribución en la familia, siendo compuestos de este tipo los principales constituyentes de los aceites de *C. zeylanicum* y algunas *Ocoteas*. Este tipo de compuestos además de encontrarse en forma libre pueden también encontrarse en forma de dímeros (lignan o neolignan), los cuales se originan por reacciones de acoplamiento oxidativo y pueden dar lugar a una gran diversidad de núcleos base. En el caso de lignanos se establece siempre un acoplamiento entre los carbonos de las posiciones 8, 8', pero en neolignan el acoplamiento oxidativo entre cualquier carbono de cada una de las unidades C₆-C₃ o incluso entre un carbono de uno de los residuos con un oxígeno del otro residuo, como consecuencia de lo anterior los neolignan presentan una menor simetría comparada con los lignanos, pero una mayor diversidad estructural.

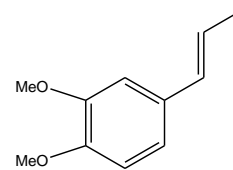
Figura 17: Principales tipos de compuestos tipo arilpropano y dimeros de estos encontrados en especies de la familia Lauraceae.



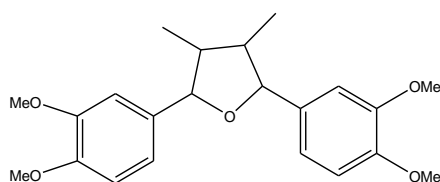
Alil-3,4-
metilenodioxibenceno
(Safrol)



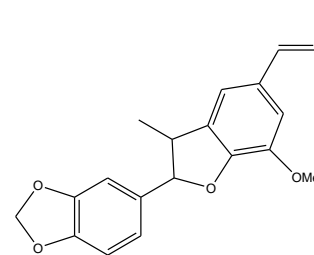
o-metil-cinamaldehído



Metil-isoeugenol



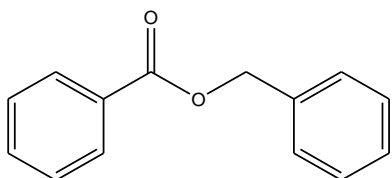
Veraguensina (lignano)



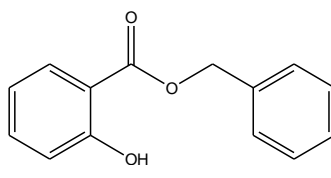
Licarina (neolignano)

Otros compuestos sobre los cuales se muestra interés son los ésteres de ácido benzoico y salicílico, identificándolos como quimiomarcadores presentes en la madera o corteza de algunas especies del género *Aniba* y algunas formas nativas de canela, (*C. zeylanicum*), donde parte del eugenol es reemplazado por benzoato de bencilo. Además de los benzoatos y salicilatos la ocurrencia de 2-pironas se constituye en un carácter distintivo de *Aniba* (**Figura 18**), al punto que la presencia o ausencia de estos marcadores se ha convertido en una herramienta que facilita la diferenciación entre *Aniba* y *Ocotea*.

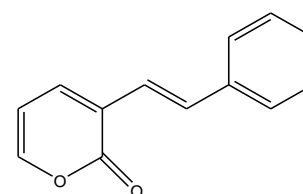
Figura 18: Núcleos básicos de compuesto identificados como quimiomarcadores de especies del género *Aniba*



Benzoato



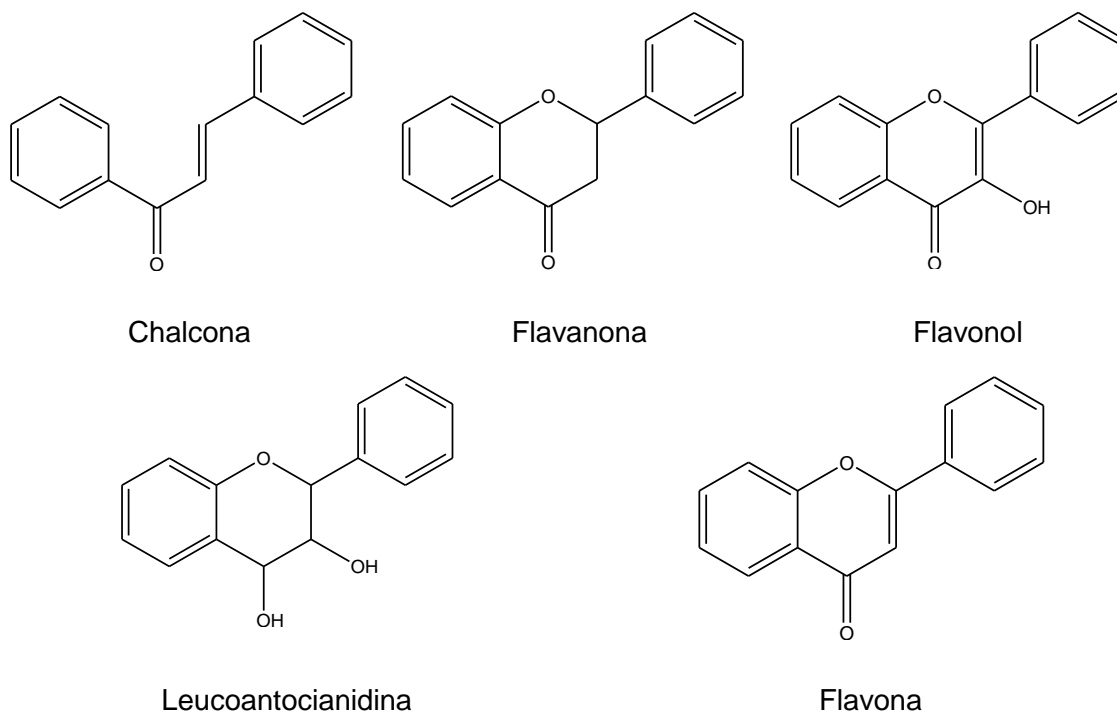
Salicilato



2-Pirona

Los flavonoides tipo chalconas, flavanonas, flavonoles y leucoantocianidinas, se encuentran estrechamente ligados a las pironas; sin embargo, estas últimas se consideran caracteres muy avanzados, mientras que los flavonoides se asocian con caracteres primitivos, que evidencian la relación cercana de *Lauraceae* con *Piperaceae*. Flavonoides como flavonas los cuales son considerados indicativos de un carácter más avanzado en la historia evolutiva han sido encontrados en especies del género *Lindera*. La **Figura 19** muestra los principales núcleos de flavonoides utilizados como quimiomarcadores de especies de *Lauraceae*.

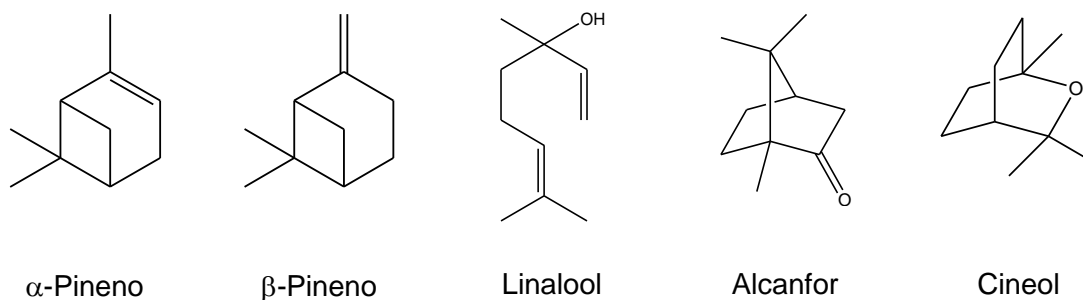
Figura 19: Núcleos de flavonoides utilizados como quimiomarcadores en Lauraceae.



Dentro de los constituyentes volátiles se señala la presencia de monoterpenos como compuestos ampliamente distribuidos (α y β Pineno) y dentro de los monoterpenos oxigenados se destaca el Linalool y el Alcanfor (**Figura 20**), presentes en especies de importancia económica. También los sesquiterpenos como cariofileno son abundantes y dentro de los sesquiterpenos oxigenados se encuentra Nerolidol y se destacan los furanosesquiterpenos (**Figura 21**) todos del grupo germacrano-eudesmano en especies de *Lindera*, *Neolitsea* y recientemente en *Ocotea*.

A diferencia de lo enunciado por Kostermans, quien prefiere no adentrarse en la dinámica de las relaciones filogenéticas, Gottlieb tiene en cuenta este aspecto y relaciona los datos de evolución química con una filogenesis temporal.

Figura 20: Monoterpenos y monoterpénoides comúnmente encontrados en aceites esenciales de Lauraceae.



La **Figura 22** muestra una representación de la relación de la evolución química con la filogénesis de las agrupaciones (subtribus) establecidas dentro de la familia por Gottlieb para la familia *Lauraceae*. Así precusores de alcaloides aporfínicos considerados caracteres tempranos o poco avanzados caracterizan géneros de las tribus *Perseinae-Beilschmiedineae* y alcaloides aporfínicos junto con arilpropanoides, se les ubica en un lugar intermedio de evolución química, siendo característicos de la tribu *Cinnamimineae* y finalmente, compuestos de tipo flavonoides avanzados (flavonas) furanosesquiterpenoides, alcaloides aporfínicos avanzados, 2-pironas entre otros son considerados los caracteres evolutivos más avanzados y caracterizan géneros de tribus más recientes y terminales como *Anibineae*, *Cryptocaryiinae*, *Litseinae-Laurineae*.

Figura 21: Sesquiterpenos y sesquiterpenoides comúnmente encontrados en aceites esenciales de Lauraceae.

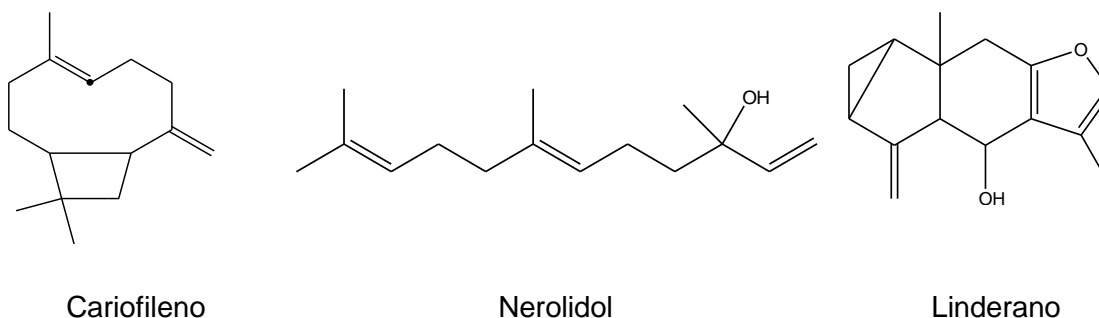
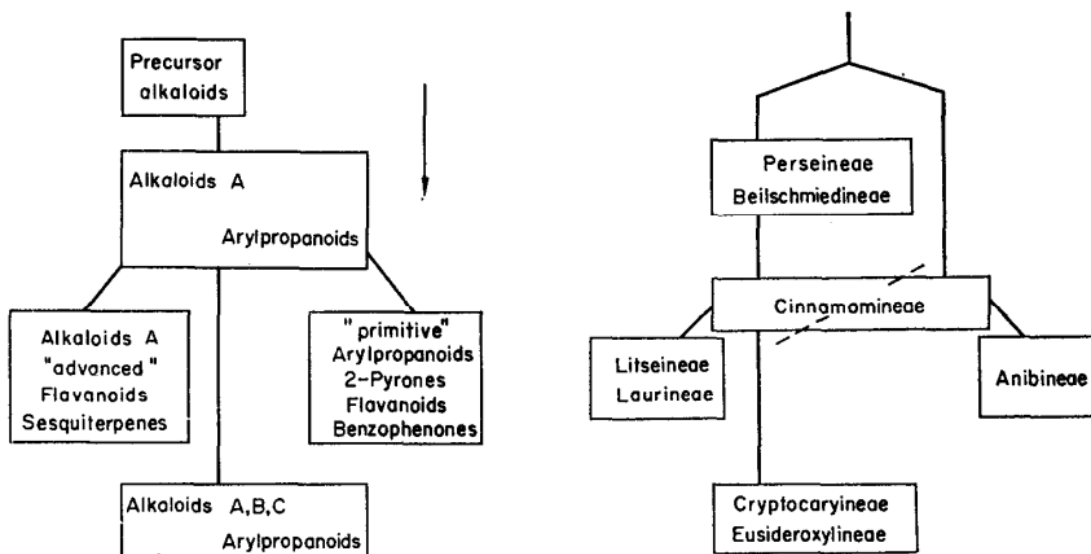


Figura 22: Paralelo entre evolución química y las relaciones filogenéticas propuestas para la familia Lauraceae, según Gottlieb 1972.



Fuente: Gottlieb, O. R., 1972

Además de Gottlieb, (Hayashi & Komae, 1980) determinaron la presencia de compuestos furanosesquiterpénicos con esqueletos tipo farnesano, germacrano, elemmano, selinano y lindano en especies de los géneros *Lindera*, *Neolitsea*, *Actinodaphne* y reconocen estos compuestos como característica quimiosistemática de éstos generos.

Sin lugar a duda, el género de la familia *Lauraceae* que más estudio ha merecido desde el punto de vista quimiosistemático es *Aniba*. Así, (Gottlieb & Kubitzki, 1981) encontraron que las especies del género *Aniba* pueden dividirse en dos grupos atendiendo a la composición química, uno de los grupos se caracteriza por la presencia de neolignanos y el otro por contener benzofenonas, pironas y flavonoides. Estos investigadores asocian la presencia de neolignanos con un carácter primitivo del género *Aniba*, mientras que la presencia de pironas y compuestos relacionados biosintéticamente se considera como un carácter avanzado. En este caso las divisiones resultantes de las diferencias en composición química coinciden con la división del género atendiendo a la morfología.

Previamente (Fernandes, Gottlieb & Xavier, 1978) al estudiar la composición de *A. riparia*, vieron que la especie no encajaba fácilmente en los grupos preestablecidos, pero

se observó que las rutas biosintéticas que conducen a los flavonoides identificados sí pueden asociarse más a una de las agrupaciones preestablecidas; esto condujo a proponer una subdivisión de este grupo. Además de los flavonoides y fenilpropanoides, en el género *Aniba* se presentan alcaloides de tipo bencilisoquinolina pero a diferencia de flavonoides y pironas entre otros compuestos asociados a caracteres avanzados, los alcaloides identificados son poco diversificados, esta observación conduce a estimar una divergencia temprana de este taxón, de otros de la familia caracterizados por presentar el mismo tipo de alcaloides pero con caracteres más evolucionados químicamente (Ferreira, Gottlieb & Roque, 1980).

Más recientemente, se han efectuado estudios quimiotaxonómicos, teniendo en cuenta solo los metabolitos volátiles (aceites esenciales), esto seguramente consecuencia del gran avance técnico en el campo de la determinación cuali y cuantitativa de aceites esenciales mediante CG-EM. Un estudio a nivel intraespecífico realizado para determinar la variabilidad química de *Ravensara aromática*, una especie endémica de Madagascar con importancia comercial por su aceite esencial estableció cuatro agrupaciones, dos grupos caracterizados por la prevalencia de estructuras aromáticas (uno con predominancia de Chavicol y otro con Metileugenol) y los dos grupos restantes marcados por la presencia de monoterpenos (uno con α -Terpineno y Limoneno) y el cuarto grupo con predominancia de Sabineno, Linalool y 4-Terpineol (Andrianoelisoa, Menut, de Chatelperron, Saracco, Ramanoelina & Danthu, 2006).

Otro estudio, examinó la composición química mediante CG, CG-EM y RMN de los aceites esenciales provenientes de nueve especies de Lauraceae encontradas en la región del Himalaya (India) y se estableció que los aceites de *Neolitsea pallens*, *Lindera pulcherrima* y *Dodecadendria grandiflora* presentan como compuestos mayoritarios furanosesquiterpenoides. *Persea duthiei* fue caracterizada por la presencia de Nerolidol, Limoneno y α y β -Pineno, y α -Pineno, Sabineno, Caryofileno predominaron en *Persea odoratissima*; en los aceites de *Persea gamblei* y *Phoebe lanceolata* predominó Caryofileno y en *Cinnamomum camphora* y *Cinnamomum tamala* prevalecieron Alcanfor y Cinnamaldehído, respectivamente (Joshi, Padalia, Bisht & Mathela, 2009).

3. Metodología

3.1 Colecta de material e identificación del material vegetal

Se realizaron salidas de campo a diferentes puntos de la geografía colombiana, se identificaron especies arbóreas pertenecientes a la familia Lauraceae, seguidamente, se procedió a registrar datos sobre ubicación (vereda, municipio, departamento, georreferenciación), hábitad, descripción general del espécimen, luego se tomó una muestra de aproximadamente 2 kg de ramas de cada una de las especies encontradas para efectos de obtención de los aceites esenciales y extractos etanólicos; al mismo tiempo se seleccionaron muestras fértiles (con flores y/o frutos) que se prensaron en medios pliegos de papel periódico, se codificaron y junto con el resto de las muestras se trasladaron en fresco al Laboratorio de Productos Naturales Vegetales del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia- sede Bogotá.

Para algunas de las especies encontradas, fue necesario realizar varias visitas con el fin de encontrar los especímenes en estado fértil. Las muestras prensadas en periódico (exsicatas) se sometieron a un proceso de secado en estufa a 50° C y una vez secas, fueron enviadas al Herbario Nacional Colombiano (COL) para su determinación taxonómica. En la **Tabla 4**, se observa la información de las muestras colectadas de las dos especies incluidas en este estudio.

3.2 Obtención de los aceites esenciales

A partir de los 2 kg de ramas frescas de cada especie colectada, se seleccionaron las hojas (aproximadamente 600 g) y se sometieron a destilación por arrastre con vapor durante 3 horas, en un equipo de destilación con un vaso de extracción de 12 l y empleando una trampa tipo Clavenger para la recolección y separación de los aceites esenciales. La **Figura 23** muestra el equipo de destilación por arrastre de vapor empleado en la obtención de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales obtenidos fueron separados en viales de 1,5 mL y se les adicionó sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), se dejaron en reposo durante una noche para retirar la humedad y luego los aceites secos fueron trasvasados a otros viales y cuantificados; los aceites así obtenidos se almacenaron en refrigeración (4°C) y protegidos de la luz hasta el análisis para determinar su composición relativa por CG-EM.

Figura 23: Equipo de destilación por arrastre con vapor empleado para la extracción de los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae.



3.3 Obtención de los aceites de cascarillo y sasafrás

El aceite de cascarillo se adquirió en la ciudad de Arauca, el cual fue extraído mediante perforación del tallo del árbol hasta la médula a una altura aproximada de 1,5m. El aceite de sasafrás fue obtenido por estudiantes del programa de Tecnología en

Aprovechamiento de los Recursos Vegetales no Maderables del Bosque y Biodiversidad Vegetal del SENA Regional Guainía, mediante destilación por arrastre con vapor de madera y corteza. Luego de su adquisición los aceites se sometieron a proceso de decantación y secado sobre Na_2SO_4 anhidro y pruebas de caracterización fisicoquímica y determinación de la composición química relativa mediante CG-EM.

Tradicionalmente tanto el aceite de cascarillo como el de sasafrás son obtenidos de forma artesanal por las comunidades campesinas e indígenas de la región y luego son comercializados para ser empleados en medicina tradicional para el tratamiento de diferentes enfermedades (Bandoni, 2000).

3.4 Obtención de los extractos etanólicos

Una segunda porción de las hojas separadas y cortezas, se dejarón secar a la sombra durante aproximadamente 2 semanas posteriormente, este material fue sometido a molienda en un molino de cuchillas y alrededor de 100 g de hojas o 10 g de cortezas secas y molidas se sometieron a maceración con etanol (96%) durante una semana. Luego de una filtración empleando como medio filtrante algodón desengrasado, los extractos fueron concentrados en rotavapor, cuantificados y almacenados en recipientes de vidrio a temperatura ambiente. La **Tabla 5** muestra el listado de las especies sometidas a los procesos de extracción y los rendimientos en porcentaje de los aceites esenciales y extractos etanólicos obtenidos.

3.5 Determinación de la composición química relativa de los aceites esenciales

La determinación de la composición química relativa se realizó mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), para ello se empleó un equipo Agilent Technologies 7890 acoplado a un detector de masas 7593, equipado con un inyector *split/splitless* con una columna capilar Carbowax (30m x 0,25 mm x 0,25 μm) y una HP-5 (60m x 0,25 mm. X 0,25 μm) con la siguiente programación de temperatura: Temperatura inicial 40 °C (0 min), a 4 °C/min hasta 160 °C (0 min), a 2,5 °C/min. hasta 220 °C (0 min), a 8°C/min hasta 280 °C (4 min).

La temperatura de la línea de transferencia se mantuvo en 300 °C, se usó helio grado 5.0

como gas de arrastre a 1 mL/min, *Split*: 30:1, se inyectó una alícuota de 1 μ L de una solución preparada con 25 μ L del aceite esencial en 1 mL de CH_2Cl_2 . La determinación de la composición de los compuestos bajo estas condiciones cromatográficas fue realizada mediante el análisis y comparación de los espectros de masas obtenidos, con los de las bases de datos NIST08.L, NIST14.L y Wiley9.L y mediante la comparación índices de retención lineal (IRL) en columnas de polaridad ortogonal DB-Wax y HP-5 (Polietilenglicol 100% y 5% Fenil 95% dimetilpolisiloxano respectivamente).

Debido a que el análisis de un mismo aceite esencial por las dos columnas se obtienen perfiles cronatográficos ligeramente diferente, se decidió tomar el perfil cromatográfico obtenido en en la columna polar DB-Wax para realizar la cuantificación relativa, tomando para ello los datos de normalización de la corriente iónica total obtenida (TIC).

Para los aceites de cascarilo y sasafrás, además de la composición química relativa fue posible determinar el peso específico, índice de refracción y rotación específica con la siguiente metodología y equipos:

La densidad fue determinada en un picnómetro de 1 mL y una balanza ViBRA HT con una sensibilidad de 0,0001g. El índice de refracción se determinó en un refractómetro tipo ABBE β .&. ζ 32200. La rotación específica se determinó en polarímetro ATAGO POLAX 2L en una celda de 10 mL de capacidad y 1 dm de paso óptico.

3.6 Caracterización de aceites esenciales mediante resonancia magnética nuclear RMN ^1H y ^{13}C

25 μ L de cada uno de los aceites esenciales obtenidos, fueron solubilizados en aproximadamente 700 μ L de cloroformo deuterado 99,9% (CDCl_3). Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C fueron registrados a 500 y 125 MHz, respectivamente. Las FID obtenidas fueron procesadas con ayuda del software MestRe Nova.

Tabla 4: Relación del muestreo de especies de la familia Lauraceae realizado en diferentes regiones de Colombia.

Especie	Código /No. COL	Lugares de colecta / altura msnm/coordenadas	Colector/Determinó
<i>Ocotea longifolia</i> Kunth	WD 116/563466	Leticia (Amazonas)/80 S-4.1936111 W -69.940055	Wilman Delgado/A. Jara
	WD 28/522892	Iconónzo (Tolima)/1149/ N 4.1773611 W -74.5174166	Wilman Delgado/ Jhon Infante- Betancour
	WD 117/ ND	Lérida (Tolima)/1064/ N 4.3839504 W -74.9928474	Wilman Delgado/
	WD 199/587616	La Primavera (Vichada)/115/ N 5.4945944 W -70.413296	Wilman Delgado/M.F. Gonzalez
<i>Ocotea macropoda</i> (Kunth) Mez	WD 48/544555	Arauca (Arauca)/143/ N 7.0139444 W -70.7430833	Wilman Delgado/ Vladimir Minorta Cely
<i>Ocotea lanceolata</i> (Nees) Nees	WD 57/544554	Leticia (Amazonas)/80/ S 4.1893915 W 69.3969266	Wilman Delgado/ Vladimir Minorta Cely
<i>Ocotea caudata</i> (Nees) Mez	WD 118/563468	Santa Rosa, Villavicencio (Meta)/248/ N 4.0334212 W -73.4774422	Wilman Delgado/ Vladimir Minorta Cely
<i>Ocotea heterochroma</i> Mez & Sodiro	WD 120/563467	Tenjo (Cundinamarca)/2260/ N 4.8075833 W -74.1327222	Wilman Delgado/A. Jara
<i>Ocotea discolor</i> Mez	WD 134/566242	Charalá (Santander)/2240/ N 5.9961430 W -73.2195854	Wilman Delgado/A. Jara
	WD 135/566243	Charalá (Santander)/1612/ N 6.1841394 W -73.1799038	Wilman Delgado/A. Jara

Tabla 4: Relación del muestreo de especies de la familia Lauraceae realizado en diferentes regiones de Colombia. (Continuación)

Especie	Código /No. COL	Lugares de colecta / altura msnm/coordenadas	Colector/Determinó
<i>Ocotea macrophylla</i> Kunth	WD 20/517191	Nocaima (Cundinamarca)/1370/ N 5.0863064 W -74.3743739	Wilman Delgado/Edgar L. Linares
	WD 92/566446	La Vega (Cundinamarca)/1843/ N 4.9641111 W -74.3095555	Wilman Delgado/A. Jara M.
<i>Ocotea tessamannii</i> O.C. Schmidt	WD 74/547370	Nocaima (Cundinamarca)/1390/ N 5.0859642 W -74.3706285	Wilman Delgado/ PARRA-O.
<i>Ocotea calophylla</i> Mez	WD 155/	Duitama (Boyacá)/3177/ N 5.8853889 W -73.0615555	Wilman Delgado/C. Parra-O.
<i>Ocotea leucoxydon</i> (Sw.) Laness	WD 143/566448	Chiquinquirá (Boyacá)/2544/ N 5.7663056 W -73.7358333	Wilman Delgado/A. Jara M.
<i>Aniba robusta</i> (Klotzsch & H. Karst.) Mez	WD 124/563245	La Vega (Cundinamarca)/2097/ N 4.9291389 W -74.3205	Wilman Delgado/A. Jara
	WD 130/587144	Paipa (Boyacá)/2173/ N 5.9794167 W -73.216888	Wilman Delgado/M.F. González
<i>Aniba puchury-minor</i> (Mart.) Mez	WD 137/566245	Santa Lucia-Fusagasugá (Cundinamarca) /2003/ N 4.2560556 W -74.358888	Wilman Delgado/A. Jara
	WD 145/566239	Santa Bárbara (Santander) /1873/ N 6.9921111 W -72.9073972	Wilman Delgado/A. Jara

Tabla 4: Relación del muestreo de especies de la familia Lauraceae realizado en diferentes regiones de Colombia. (Continuación)

Especie	Código /No. COL	Lugares de colecta / altura msnm/coordenadas	Colector/Determinó
	WD 35/544559	Arauca (Arauca)/143/ N 7.0139444 W -70.7430833	Wilman Delgado/Vladimir Minorta Cely
<i>Aniba coto</i> (Rusby) Kosterm.	WD 136/566241	Santa Lucia-Fusagasugá (Cundinamarca) /2118/ N 4.2463056 W -74.3580277	Wilman Delgado/ M.F. González
<i>Nectandra reticulata</i> (Ruiz & Pav.) Mez	WD 75/547368	Granada (Cundinamarca)/2550/ N 4.5360833 W -74.3444166	Wilman Delgado/C. Parra-O.
	WD 99/563470	Puerto López (Meta)/190/ N 4.0888611 W -73.0680277	Wilman Delgado/A. Jara
	WD 142/566444	Chiquinquirá (Boyacá)/2538/ N 5.7679722 W -73.7330833	Wilman Delgado/A. Jara
	WD 149/566445	Charalá (Santander)/1826/ N 6.1309444 W -73.1936388	Wilman Delgado/A. Jara
<i>Nectandra acutifolia</i> (Ruiz & Pav.) Mez	WD 138/566240	Santa Lucia-Fusagasugá (Cundinamarca) /1970 N 4.2585556 W -74.359	Wilman Delgado/A. Jara
	WD 141/ND	Santa Lucia-Fusagasugá (Cundinamarca) /1996/ N 4.2632611 W -74.3643083	Wilman Delgado/
<i>Nectandra membranacea</i> (Sw.) Griseb.	WD 73/553314	Nocaima (Cundinamarca)/1160/ N 5.0741639 W -74.3780722	Wilman Delgado/A. Parra-O.

Tabla 4: Relación del muestreo de especies de la familia Lauraceae realizado en diferentes regiones de Colombia. (Continuación)

Especie	Código /No. COL	Lugares de colecta / altura msnm/coordenadas	Colector/Determinó
<i>Nectandra lineata</i> (Kunth) Rohwer	WD 119/563471	Villavicencio (Meta)/408/ N 4.1418611 W -73.5924722	Wilman Delgado/A. Jara
<i>Nectandra cuspidata</i> Nees & Mart.	WD 123/563473	Leticia (Amazonas)/80/ S4.1896667 W -69.9369166	Wilman Delgado/A. Jara
<i>Cinnamomun triplinerve</i> (Ruiz & Pav.) Kosterm.	WD 70/547370	Nocaima (Cundinamarca)/1450 N 5.0867167 W -74.3711388	Wilman Delgado/ C. PARRA-O.
	WD 60/548028	Santa Bárbara (Santander)/1632/ N 9.9688611 W -72.9167222	Wilman Delgado/O. Rivera-Díaz
	WD 71/587617	Acacias (Meta)/572/ N 3.9563611 W -73.7875833	Wilman Delgado/M.F. Gonzalez
<i>Cinnamomum cinnamomifolium</i> (Kunth) Kosterm.	WD 66/544560	Santa Bárbara (Santander)/1787/ N 6.94125 W -72.906611	Wilman Delgado/ Vladimir Minorta Cely
<i>Endlicheria arenosa</i> Chanderb.	WD 56/544556	Leticia (Amazonas)/80/ S 4.1900833 W -69.935833	Wilman Delgado/W. Vargas
<i>Endlicheria oreocola</i> Chanderb.	WD 34/544557	Santa Bárbara (Santander)/1660/ N 6.9611944 W -72.91302277	Wilman Delgado/ Vladimir Minorta Cely
<i>Endlicheria paniculata</i> (Spreng.) J.F. Macbr.	WD 67/563248	Santa Bárbara (Santander)/1785/ N 6.9412778 W -72.9068055	Wilman Delgado/ Vladimir Minorta Cely

Tabla 4: Relación del muestreo de especies de la familia Lauraceae realizado en diferentes regiones de Colombia. (Continuación)

Especie	Código /No. COL	Lugares de colecta / altura msnm/coordenadas	Colector/Determinó
<i>Beilschmiedia costaricensis</i> (Mez & Pittier) C.K. Allen	WD 122/563246	El Chuscal-La Vega (Cundinamarca)/2274 N 4.9294167 W -74.2945	Wilman Delgado/A. Jara
<i>Persea caerulea</i> Ruiz & Pav.) Mez	WD 65/545992	Santa Bárbara (Santander)/1650 N 6.9600556 W -72.9190833	Wilman Delgado/Vladimir Minorta Cely
<i>Persea perseiphylla</i> (C.K. Allen) van der Werff	WD 100/563464	Puerto López (Meta)/190 N 4.0888611 W -73.0680277	Wilman Delgado/A. Jara
<i>Persea cuneata</i> Meisn.	WD 115/563463	Charalá (Santander)/2194/ N 6.0151389 W -73.2219722	Wilman Delgado/A. Jara
<i>Rhodostemonodaphne laxa</i> (Meisn.) Rohwer.	WD 93/563249	Acacias (Meta)/536 N 3.9707778 W -73.775555	Wilman Delgado/A. Jara
<i>Ocotea cymbarum</i>	(Cascañillo)	Arauca	Wilman Delgado
<i>Ocotea cymbarum</i>	(Sasafras)	Guainía	Fernando Caroprese

3.7 Caracterización de aceites esenciales mediante CG-EM posterior a la hidrogenación catalítica de los aceites.

3.7.1 Hidrogenación de aceites esenciales

Con el fin de llevar a cabo la hidrogenación de los compuestos insaturados presentes en los aceites esenciales (terpenos y terpenoides) se adaptaron los procedimientos reportados en la literatura (Grau, Zgolicz, Gutierrez & Taher, 1999; Simakova, Solkina, Deliy, Wärnå & Murzin, 2009) adaptando los procedimientos metodológicos a las condiciones y equipos presentes en el Laboratorio de Química de Productos Naturales de la Universidad de Sao Paulo (USP). El procedimiento estandarizado fue el siguiente: se

tomaron 40 μL (aproximadamente 35 mg) de cada uno de los aceites esenciales y se solubilizaron en 1200 μL de CH_2Cl_2 , se adicionaron 4mg del catalizador paladio sobre carbono (Pd/C) al 10% (Sigma -Aldrich 205699-106); las mezclas de reacción obtenidas se colocaron en viales de reacción de 1,5 mL y se llevaron al reactor de hidrogenación, presurizando el sistema a 60 psi de hidrógeno. La reacción se dejó transcurrir durante 8 horas a temperatura ambiente y con agitación constante. La **Figura 24** muestra el equipo de hidrogenación empleado.

3.7.2 Caracterización de los aceites esenciales hidrogenados

Una alícuota de 100 μL de la mezcla de reacción se diluyeron a un volumen final de 1 mL y se sometió al análisis cromatográfico mediante CG-EM con las condiciones especificadas en el numeral 3.5.

3.8 Procesamiento de datos de RMN de ^1H y ^{13}C

Los datos fueron tratados con el programa MestreNova, ajustando la señal de TMS en 0,00 ppm, el ajuste de fase fue manual y la corrección de línea base fue automática. Se consideraron los datos de desplazamiento químico entre 0,15 y 12 ppm para RMN ^1H y entre 0,2 y 240 ppm para RMN ^{13}C eliminando la señal de cloroformo residual entre 7,20 y 7,28 ppm (RMN ^1H) y entre 76,50 –77,60 ppm (RMN ^{13}C). El “*binning*” utilizado fue de 0,01 ppm y los datos fueron normalizados por el área total. Posteriormente, fue realizada una tabla en Excel con los datos de todas las especies. Esta tabla fue luego exportada como archivo de texto para ser utilizada en el programa STATISTICA 6.0.

En el programa STATISTICA 6.0, se normalizaron los datos y se analizaron con la herramienta de análisis de *clusters* (HCA) para clasificar las muestras de acuerdo con su semejanza en el perfil químico. El método de *cluster* utilizado fue *Joining (tree clustering)*. La medida de semejanza de las muestras se hizo utilizando la distancia Euclidiana y el agrupamiento aglomerativo se aplicó utilizando el algoritmo *Ward's method*.

Figura 24: Equipo de hidrogenación empleado para la hidrogenación catalítica de los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Laboratorio de Química de Productos Naturales USP, Sao Paulo, Brasil).



3.9 Caracterización de extractos etanólicos de hojas

La caracterización de los extractos etanólicos se llevó a cabo mediante dos metodologías: la primera, mediante cromatografía en placa delgada bidimensional (CCD-2D) y la segunda, mediante cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas e ionización por *electrospray* (CL-ESI-EM).

3.9.1 Cromatografía CCD-2D

10 mg de cada extracto etanólico fueron solubilizados en 1 mL de una mezcla 1:1 CHCl_3 : MeOH y una alícuota de 5 μL de estas soluciones fueron sembrados en una esquina (a 1 cm de cada lado) de un cromatofolio cuadrado de 10 cm de lado de sílica gel 60F_{254,366} Merck. Una vez evaporado el solvente de la disolución, se realizó el desarrollo de la cromatografía en la primera dimensión empleando como fase móvil diclorometano: acetona (95:5) y luego se desarrolló la cromatografía en la segunda dimensión empleando como fase móvil hexano: acetato de etilo (50:50). Posteriormente, las placas fueron reveladas con vapores de yodo y por contraste con luz UV de 254 y 366nm.

Registro de datos: La placa fue dividida en una cuadrícula de 18x18, asignando a cada casilla un código, cuando en la casilla se encontraba una mancha, se asignó un valor de uno y a las casillas sin manchas se les asignó un valor de cero. Cuando una mancha quedaba en la intersección de dos o más casillas, se asignó el valor de uno a cada una de las casillas comprometidas, y cuando sobre una misma casilla se identificaron dos manchas se asignó el valor de dos.

Con los datos obtenidos empleando la cuadrícula, se construyó una matriz que incluía como variable independiente la especie y como variables dependientes cada uno de los códigos con que fueron identificadas las casillas de la cuadrícula. De esta forma resulto una matriz de 20x109. Aunque las placas fueron divididas en 324 casillas solo se tuvieron en cuenta las casillas en las que se detectaron manchas. Esta matriz fue sometida a análisis estadístico multivariado empleando el programa STATGRAPHICS CENTURION.

3.9.2 Caracterización mediante (CL-ESI-EM)

Los datos obtenidos fueron guardados en formato *cdf* y posteriormente tratados en el programa *MZmine*. El rango de tiempo considerado fue de 1,5 a 41 minutos, utilizando la herramienta *Cropfilter*. Para la corrección de línea base, se utilizaron los siguientes parámetros: método corrector de línea base asimétrico MS level 1, *smoothing factor*: 10^5 , *Assymetry* = 0,01 y *m/z bin width* = 0,1. Para la detección de los picos, la detección de masas se hizo por el *Centroid mass detector*, *noise level* = $1,6 E2$.

En la construcción del cromatograma se utilizaron los siguientes parámetros: *minimum time span* = 0,1; *minimum peak heigh* = $1,5 E4$; *m/z tolerance* = 0,0050 o 5,0 ppm. Para la deconvolución del cromatograma se utilizó el algoritmo *noise amplitude* y los siguientes parámetros: *minimum peak heigh* = $1,5 E4$; *Peak duration range* = 0,0 – 0,6 min; *Amplitude of noise* = $1,6E2$. Se utilizó la herramienta *Peak extender* con los siguientes parámetros: *m/z tolerance*: = 0,001 o 5,0 ppm; *minimum peak heigh* = $1,5 E4$.

El alineamiento de los picos se realizó siguiendo el método *RANSAC method*, utilizando *m/z tolerance* = 0,01 m/z o 5,0 ppm; *Retention time tolerance* = 1 minuto; *Retention time tolerance after correction* = 0,8 minutos; *RANSAC iterations* = 4000; y *minimum number*

of points 20%, Threshold = 1. La normalización se hizo por el método *linear normalizer*, de tipo *average intensity*; *Peak measurement type = Peak área*.

Se exportaron los datos de m/z, tiempo de retención y altura de pico. Estos datos fueron exportados como archivo de texto, juntados en una tabla general con todas las muestras en el programa Excel y posteriormente utilizados para hacer análisis de *cluster* o conglomerados en el programa STATISTICA.

3.9.3 Análisis empleando marcadores moleculares

Con el propósito de determinar las relaciones filogenéticas existente entre las distintas especies estudiadas de la familia Lauraceae, se realizó una búsqueda de secuencias de de distintos marcadores moleculares reportados en *GeneBank*. Las secuencias encontradas fueron copiadas y alineadas con en el programa MEGA 7 por medio del Clustal W.

La matriz con las secuencias alineadas se utilizó para generar un árbol filogenético en MEGA7, por el método estadístico de máxima parsimonia, utilizando como *test* de filogenia el método *bootstrap*, con 500 réplicas y el método de búsqueda TBR (tree-bisection-reconnection), con 10 árboles iniciales.

Como grupos externos se utilizaron secuencias de los marcadores moleculares ITS de las especies *Palmeria scandens* y *Hortonia floribunda* que pertenecen Monimiaceae y es la familia hermana de Lauraceae.

4 Resultados y Discusión

4.1 Colecta

En total se colectó material vegetal perteneciente a 29 especies distribuidas en ocho géneros de la siguiente forma: *Ocotea* (10 especies), *Nectandra* (5 especies), *Aniba* (3 especies), *Endlicheria* (3 especies), *Persea* (3 especies), *Cinnamomum* (2 especies) *Beilschmiedia* (1 especie) y *Rhodostemonodaphne* (1 especie). Además, se adquirieron dos aceites esenciales de la especie *Ocotea cymbarum*.

A nivel geográfico, las especies encontradas se colectaron en ocho departamentos según la siguiente distribución: Cundinamarca (once especies de cinco géneros), Santander (nueve especies de seis géneros), Meta (seis especies de cinco géneros), Boyacá (cuatro especies de tres géneros), Amazonas (cuatro especies de tres géneros), Arauca (dos especies de dos géneros) Tolima (una especie) y Vichada (una especie).

Las especies de más amplia distribución por departamentos son: *Nectandra reticulata* encontrada en cuatro departamentos (Cundinamarca, Meta Boyacá y Santander) en ambientes que van desde bosque de niebla (Granada - Cundinamarca y Chiquinquirá - Boyacá), bosque templado (Charalá -Santander) y sabana tropical (Puerto López -Meta), con un rango altitudinal que va desde los 190 hasta 2550 m.s.n.m.

Ocotea longifolia también se encontró en diferentes ambientes como bosque húmedo tropical (Leticia -Amazonas), bosque seco tropical (Icononzo -Tolima), bosque templado (Lérida Tolima) y sabana tropical (La Primavera -Vichada) y con un rango altitudinal de 80 hasta 1149 m.s.n.m. Otra especie con amplia distribución fue *Cinnamomum triplinerve* encontrada en los departamentos de Cundinamarca, Meta y Santander; sin embargo, los ambientes en los que se encontró no son contrastantes, así las muestras encontradas en Cundinamarca y Santander se encuentran en bosque templados y la

muestra encontrada en el Meta se encuentra en el piedemonte, el rango altitudinal para los especímenes encontrados de esta especie se ubica entre 572 y 2007 m.s.n.m.

Tanto *Aniba puchury-minor* como *Aniba robusta* se encontraron cada una en dos departamentos, pero en ambientes parecidos, así *A. puchury-minor* se encontró en Fusagasugá -Cundinamarca a 2003 m.s.n.m. y en Santa Bárbara -Santander a 1873 m.s.n.m. en bosque templado y *A. robusta* se encontró en La Vega -Cundinamarca a 2097 m.s.n.m. y en Paipa -Boyacá a 2173 m.s.n.m. en ambiente de bosque de clima frío.

Las especies *Ocotea discolor*, *Ocotea macrophylla* y *Nectandra acutifolia* fueron encontradas en sitios diferentes, pero dentro de las mismas regiones, registrando relativamente pocas variaciones observables en el ambiente. El resto de especies colectadas se encontraron en un solo sitio y muchas veces solo un individuo.

En resumen, en los departamentos de Cundinamarca, Santander y Meta se encontró la mayor diversidad en cuanto a número de especies y géneros incluidos en este estudio. Las especies colectadas se encontraron en diversos ambientes que van desde la selva húmeda tropical a menos de 100 m.s.n.m. y las sabanas de la Orinoquía hasta los bosques de niebla por encima de los 3100 m.s.n.m.

4.2 Contenido de aceites esenciales y extractos etanólicos

El contenido porcentual de aceites esenciales obtenido de hojas frescas mediante la técnica de destilación por arrastre con vapor mostró una amplia variación, desde especies como *Persea cuneata* para las cuales no se obtuvo ningún tipo de producto (aceite esencial) o *Ocotea tesmannii* y *Persea perseiphylla* en las cuales solo se obtuvo un material resinoso en cantidades mínimas hasta especies como *Ocotea longifolia* con un contenido de aceites esenciales comprendido entre 0,4 y 0,7%, y *Cinnamomum triplinerve* con <0,1 hasta 0,8% de aceite esencial. En la **Tabla 5** se reportan los rendimientos de aceites esenciales obtenidos para cada una de las muestras analizadas. De las diez especies de *Ocotea* incluidas, tres muestran contenidos de aceite esencial “bajos” inferiores al 0,1%; tres especies con contenidos “medios” comprendidos entre 0,1

y 0,2% de aceite esencial y las cuatro especies restantes con contenidos de aceite “altos” entre 0,3 y 0,7%.

Tabla 5: Relación de rendimientos de aceites esenciales y extractos etanólicos obtenidos de especies de la familia Lauraceae.

Especie	Código /No. COL	% Aceite esencial (hojas frescas)	% Extracto etanólico (hojas secas)
<i>Ocotea longifolia</i>	WD 116	0,36	14,1
	WD 28	0,67	11,0
	WD 117	0,65	16,2
	WD 199	0,38	13,9
<i>Ocotea macropoda</i>	WD 48	<0,1	17,6
<i>Ocotea lanceolata</i>	WD 57	<0,1	18,1
<i>Ocotea caudata</i>	WD 118	0,11	10,1
<i>Ocotea heterochroma</i>	WD 120	0,24	18,0
<i>Ocotea discolor</i>	WD 134	0,28	12,8
	WD 135	0,4	16,7
<i>Ocotea macrophylla</i>	WD 20	0,35	16,4
	WD 92	0,46	22,4
<i>Ocotea tesmannii</i>	WD 74	<<0,1 (resina)	15,0
<i>Ocotea calophylla</i>	WD 50	0,14	17,5
<i>Ocotea leucoxylon</i>	WD 143	0,30	11,3
<i>Aniba robusta</i>	WD 124	0,55	16,2
	WD 130	0,50	16,6
<i>Aniba puchury-minor</i>	WD 137	0,40	15,1
	WD 145	0,42	15,9
	WD 35	<0,1	14,6
<i>Aniba coto</i>	WD 136	0,39	12,0
<i>Nectandra reticulata</i>	WD 75	0,30	ND
	WD 99	<<0,1	9,4
	WD 142	0,25	ND
	WD 149	0,12	ND

Tabla 5: Relación de rendimientos de aceites esenciales y extractos etanólicos obtenidos de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Especie	Código /No. COL	% Aceite esencial (hojas frescas)	% Extracto etanólico (hojas secas)
<i>Nectandra acutifolia</i>	WD 138	0,30	ND
	WD 141	0,29	ND
<i>Nectandra membranacea</i>	WD 73	0,07	ND
<i>Nectandra lineata</i>	WD 119	<0,1	ND
<i>Nectandra cuspidata</i>	WD 123	0,12	ND
<i>Cinnamomun triplinerve</i>	WD 60	0,11	14,2
	WD 70	0,67	18,7
	WD 71	0,78	18,7
<i>Cinnamomum cinnamomifolium</i>	WD 66	0,09	15,2
<i>Endlicheria arenosa</i>	WD 56	0,22	12,0
<i>Endlicheria oreocola</i>	WD 34	0,13	13,8
<i>Endlicheria paniculata</i>	WD 67	0,10	8,9
<i>Beilschmiedia costaricensis</i>	WD 122	0,31	13,3
<i>Persea caeurulea</i>	WD 65	<0,1	11,9
<i>Persea perseiphyla</i>	WD 100	<<0,1 (resina)	10,8
<i>Persea cuneata</i>	WD 32	0,0	ND
<i>Rhodostemonodaphne laxa</i>	WD 93	0,09	14,4

Se asignó el valor de <0,1 cuando la cantidad de productos obtenido de la destilación se observa fácilmente, pero no se puede separar totalmente debido a la poca cantidad, u se asignó el valor de <<0,1 cuando para separar el producto fue necesario extraerlo con éter etílico.

En las cinco especies de *Nectandra*, el contenido máximo de aceite esencial no superó el 0,3% siendo *N. reticulata* y *N. acutifolia* colectadas en Granada y Fusagasugá-Cundinamarca respectivamente las especies que mostraron un contenido medio de aceite; las tres especies restantes mostraron rendimientos bajos, inferiores o iguales al 0,1%.

En las tres especies de *Aniba* incluidas se encontraron contenidos de aceite comprendidos entre el 0,4 y 0,5 % excepto para la muestra determinada como *A. puchury-minor* colectada en Arauca en la cual la cantidad de aceite obtenido no superó el 0,1%. En las especies de *Cinnamomum*, *C. triplinerve* mostró una amplia variación en el contenido de aceite, desde % \ll 0,1 a 0,1 en las muestras procedentes de Santander hasta rendimientos del 0,8% en las muestras colectadas en Cundinamarca y Meta; *C. cinnamomifolium* mostró un rendimiento alrededor del 0,1%.

En las *Endlicherias* se calculó un contenido de aceites esenciales comprendido entre el 0,1% (para *E. oreocola* y *E. paniculata*) y 0,2% para *E. arenosa*. *Beilschmiedia costaricensis* mostró un contenido de aceite esencial del 0,3% aproximadamente y *Rhodostemonodaphne laxa* del 0,1%. Las especies de *Persea* mostraron rendimientos desde 0 hasta $>0,1\%$; siendo este género el de menor rendimiento en cuanto a contenido de aceites esenciales.

Al realizar un gráfico de dispersión de rendimiento de aceite esencial versus altura sobre el nivel del mar, (**Figura 25**) no se observa ninguna relación clara entre estas dos variables, pero al graficar por separado los datos de *O. longifolia* y *N. reticulata* (**Figuras 26 y 27**) si se advierte una correlación positiva entre el contenido de aceite y la altura.

En el caso de las muestras de *C. triplinerve* la gráfica de dispersión de % de aceite vs altura sobre el nivel del mar no muestra ninguna relación y por el contrario estas parecen grupos diferentes, donde las muestras tomadas en Acacias y Nocaima presentan valores relativamente altos de (0,7-0,8% aproximadamente) de aceite independientemente de la altura y las muestras tomadas en Santander presentan valores cercanos al 0,1%. (**Figura 28**).

Figura 25: Relación entre el contenido % de aceite y la altura sobre el nivel del mar para todas las especies estudiadas.

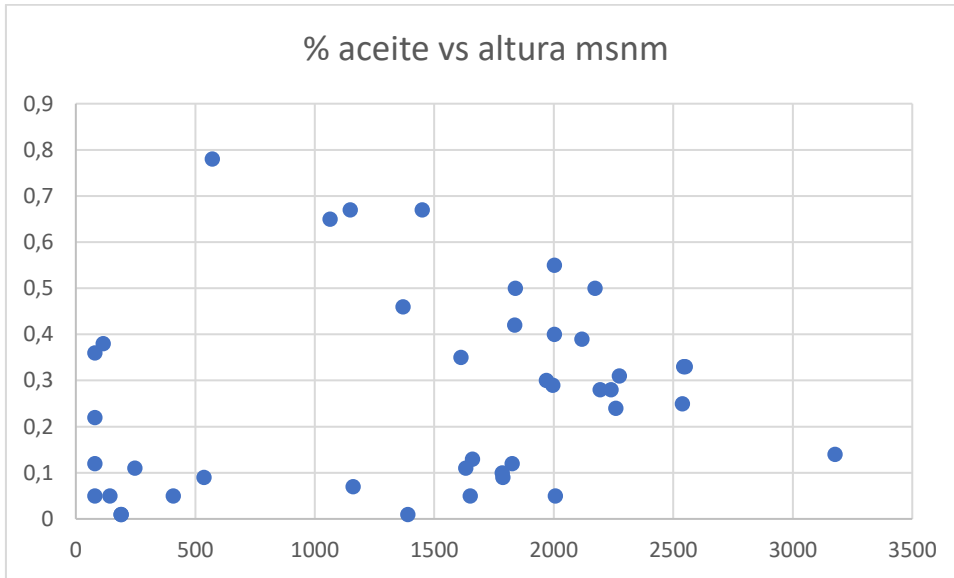


Figura 26: Relación entre el contenido % de aceite y la altura sobre el nivel del mar para la especie *O. longifolia*.

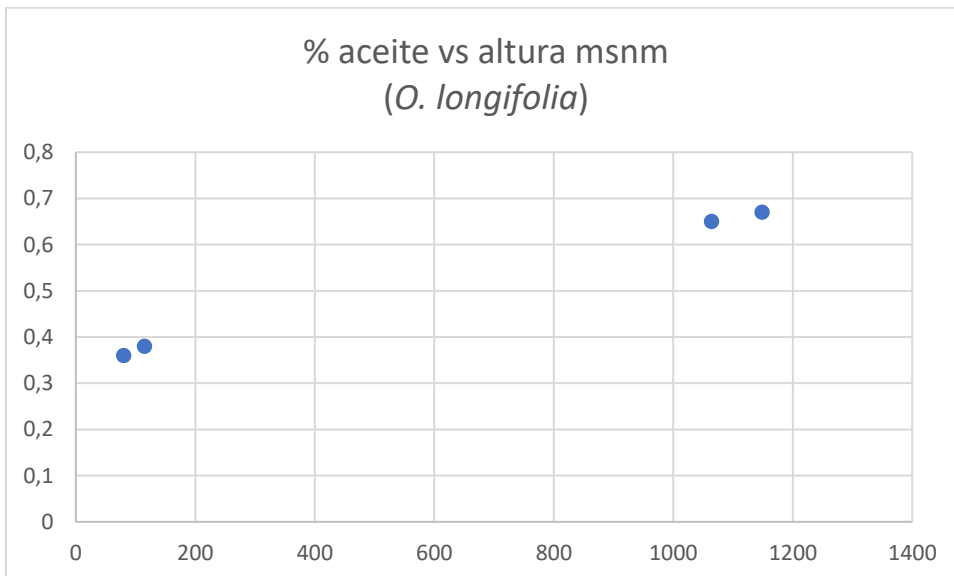


Figura 27: Relación entre el contenido % de aceite y la altura sobre el nivel del mar para la especie *N. reticulata*.

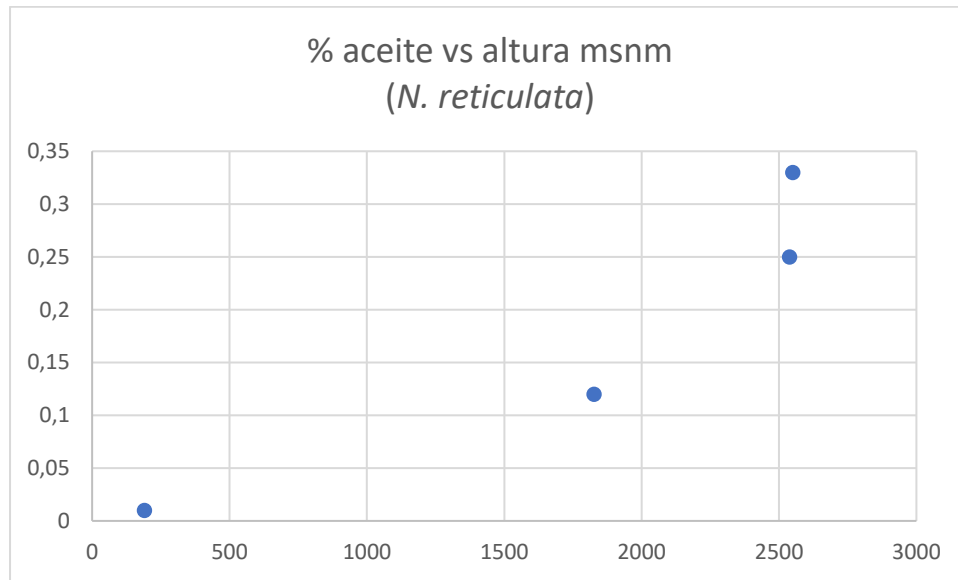
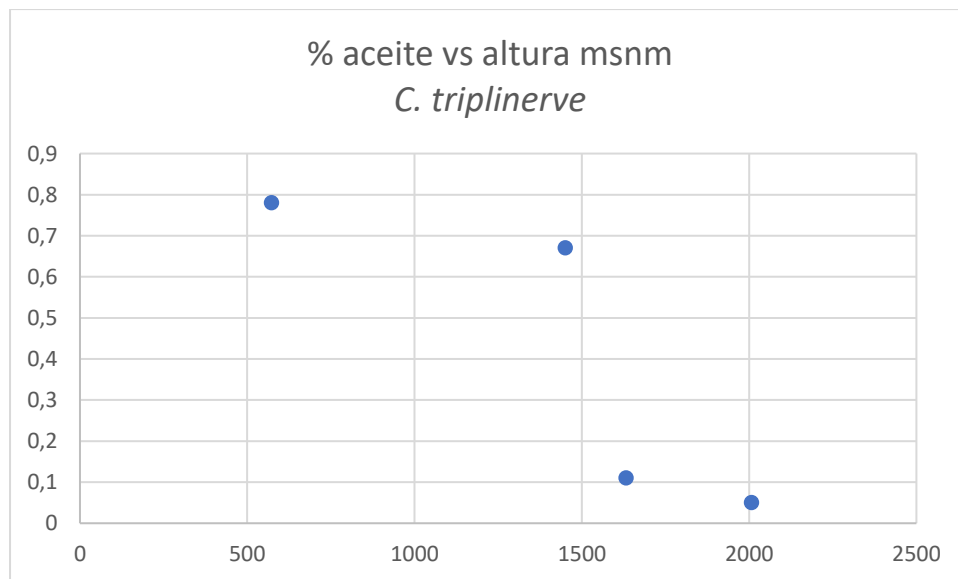


Figura 28: Relación entre el contenido % de aceite y la altura sobre el nivel del mar para la especie *C. triplinerve*.



Para realizar las gráficas, para rendimientos con valores de $<0,1$ se les asignó un valor arbitrario de 0,05 y los de $<<0,1$ se les asignó el valor de 0,01. En ninguna de las muestras de Lauraceae analizadas el contenido de aceite superó el 0,8%.

En cuanto a la composición química de los aceites esenciales obtenidos se encontró que en su mayoría son de tipo terpénico, particularmente sesquiterpénico, excepto para dos de las especies del género *Aniba* (*A. robusta* y *A. coto*) que tienen aceites ricos en ésteres de ácidos benzoico y salicílico y la resina obtenida de *Persea perseiphylla* que presenta como compuestos predominantes derivados de ácidos grasos. La **Tabla 6** muestra la composición porcentual por tipo de compuestos de los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae.

Tabla 6: Descripción de la composición química por tipo de compuestos de los aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae.

Especie	Código	Tipo de compuestos (%)					
		M	S	SO	D	Bz	AGd
<i>Ocotea longifolia</i>	WD 116	15,2	10,1	73,2	-	-	-
	WD 28	29,8	42,0	17,7	-	-	-
	WD 117	26,9	48,8	22,9	-	-	-
	WD 199	0,9	16,1	82,5	-	-	-
<i>Ocotea macropoda</i>	WD 48	-	98,9	9,3	-	-	1,8
<i>Ocotea lanceolata</i>	WD 57	-	81,1	16,9	-	-	-
<i>Ocotea caudata</i>	WD 118	1,9	86,7	11,1	-	-	-
<i>Ocotea heterochroma</i>	WD 120	27,8	33,6	12,5	25,6	-	1,4
<i>Ocotea discolor</i>	WD 134	0,2	89,7	7,6	0,2	-	-
	WD 135	0,4	97,3	2,3	-	-	-
<i>Ocotea macrophylla</i>	WD 20	0,1	97,2	2,6	-	-	-
	WD 92	0,2	98,9	0,9	-	-	-
<i>Ocotea tesamannii</i>	WD 74	10,9	67,7	10,0	4,4	-	5,9
<i>Ocotea calophylla</i>	WD 155	5,2	52,3	31,4	-	-	1,3
<i>Ocotea leucoxylon</i>	WD 143	0,43	88,5	7,8	-	-	-
<i>Aniba robusta</i>		2,2-	29,6-41,6	7,9-15,1	-	51,6-68-	
	WD 124	5,2				2	-
	WD 130	0-3,8	23,5-38,6	3,6-18,3	-	54,0-58,1	-

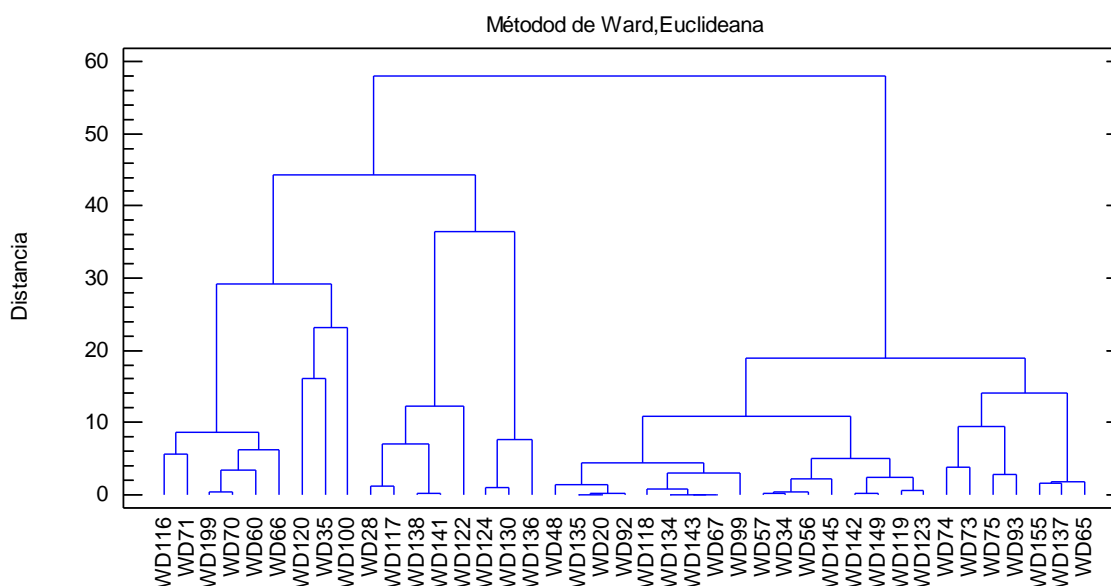
Tabla 6: Descripción de la composición química de los aceites esenciales extraídos de especies de la familia Lauraceae por tipo de compuestos. (Continuación)

Especie	Código	Tipo de compuestos (%)					
		M	S	SO	D	Bz	AGd
<i>Aniba puchury-minor</i>	WD 137	0,5	57,3-63,2	29,0-40,9	-	-	-
	WD 145	-	62,3-81,7	15,2-31,8	-	-	-
	WD 35	1,73	13,2	67,9	13,6	-	0,62
<i>Aniba coto</i>	WD 136	-	19,8	3,3	-	74,7	-
<i>Nectandra reticulata</i>	WD 75	4,8	77,1	6,6	-	-	-
	WD 99	18,0	78,3	3,7	-	-	-
	WD 142	4,3	78,6	9,1	-	-	-
	WD 149	1,0	82,8	11,4	2,46	-	-
<i>Nectandra acutifolia</i>	WD 138	23,5	69,4	2,4	-	-	-
	WD 141	23,6	64,1	1,1	-	-	-
<i>Nectandra membranacea</i>	WD 73	19,6	61,2	14,4	1,4	-	-
<i>Nectandra lineata</i>	WD 119	1,1	75,3	7,8	-	-	-
<i>Nectandra cuspidata</i>	WD 123	0,9	77,0	13,3	-	-	-
<i>Cinnamomun triplinerve</i>	WD 60	-	1,2	95,0	-	-	-
	WD 70	1,8	11,7	86,5	-	-	-
	WD 71	2,7	21,9	66,0	-	-	-
<i>Cinnamomum cinnamomifolium</i>	WD 66	0,7	1,5	78,9	-	-	10,8
<i>Endlicheria arenosa</i>	WD 56	-	75,5-97,7	8,9-27,2	-	-	0-0,4
<i>Endlicheria oreocola</i>	WD 34	-	79,3	16,1	-	-	0,6
<i>Endlicheria paniculata</i>	WD 67	0	89,2	8,3	-	-	-
<i>Beilschmiedia costaricensis</i>	WD 122	48,6	41,2	8,3	-	-	0,9
<i>Persea perseiphylla</i>	WD 100	-	7,3	-	7,0	-	80,6
<i>Persea caeurulea</i>	WD 65	1,58	54,7	36,4	-	-	5,6
<i>Rhodostemonodaphne laxa.</i>	WD 93	-	81,4	10,2	4,5	-	2,4

M: monoterpenos; oxigenados; S: sesquiterpenos; SO: sesquiterpenos oxigenados; Bz: benzoatos y/o salicilatos; AGd: derivados de ácidos grasos.

Al realizar un análisis de conglomerados con la información consignada en la **Tabla 6**, se observa la formación de dos conglomerados; (**Figura 29**) el de la derecha en el cual las muestras allí agrupadas muestran baja variación indicado por las distancias calculadas. En este conglomerado aparecen las especies *O. macropoda*, *O. leucoxyton*, *O. macrophylla*, *O. caudata*, *E. paniculata*, *O. discolor*, *N. reticulata*, (colectada en Pto. López) *O. lanceolata*, *E. arenosa*, *E. oreocola*, *A. puchury-minor*, (colectada en Santa Bárbara) *N. lineata*, *N. cuspidata*, *O. tesmannii*, *N. membranacea*, *R. laxa* y *P. caerulea*.

Figura 29: Análisis de conglomerados obtenido a partir de los datos de composición química de los aceites esenciales de Lauraceae por tipo de compuestos.



En el conglomerado de la izquierda de mayor variación, se observa un subgrupo en el que están las muestras de *O. longifolia*, (WD 28, WD 116, WD 117 y WD 199) las tres muestras de *C. triplinerve*, (WD 60, WD 70, WD 71) *C. cinnamomifolium*, (WD 66) *O. heterochroma*, (WD 120) *N. acutifolia* (WD 138 y WD 141), *B. costaricensis* (WD 122); Igualmente, dentro de este conglomerado se observa un subgrupo conformado por las especies WD 130, WD 124 (*A. robusta*) y WD 136 *A. coto*.

Es notorio que, solo atendiendo a la composición por familia de compuestos encontrados en los aceites esenciales, es posible separar las muestras correspondientes a los géneros *Cinnamomun* y *Aniba*.

4.9 Diversidad química de los aceites esenciales

4.3.1 Aceites esenciales de especies de *Ocotea* (Lauraceae)

O. longifolia, *O. macrophyla*, *O. caudata*, *O. discolor*, *O. leucoxylon*, *O. lanceolata* presentan aceites esenciales con menor diversidad en cuanto a tipo de compuestos, pues únicamente se determinaron compuestos monoterpénicos y sesquiterpénicos.

O. macropoda exhibe dentro de su composición solo compuestos sesquiterpénicos y compuestos derivados de ácidos grasos. En el aceite de *O. calophylla* se detectaron monoterpenos, compuestos sesquiterpénicos y también derivados de ácidos grasos. *O. tessmannii* y *O. heterochroma* presentan los aceites esenciales con mayor complejidad desde el punto de vista de tipo de compuestos, pues se encuentran monoterpenos, sesquiterpenos, sesquiterpenoides, derivados de ácidos grasos y compuestos diterpénicos.

La composición química detallada de los 15 aceites esenciales pertenecientes a las 10 especies de *Ocotea* analizados se muestra en el **Anexo A**. En total, se pudieron determinar 141 compuestos de diferente tipo: 20 monoterpenos, 56 hidrocarburos sesquiterpénicos y 55 sesquiterpenos oxigenados.

Para las 10 especies de *Ocotea*, los 20 monoterpenos se pueden agrupar en cinco núcleos básicos y los compuestos sesquiterpénicos en diez tipos de estructuras (concentraciones relativas superiores al 3%).

En la **Tabla 7** se muestran los nombres de los compuestos terpénicos (monoterpenicos, sesquiterpenicos y diterpénicos) mayoritarios determinados en las especies del género *Ocotea* estudiadas y sus correspondientes estructuras base.

Tabla 7: Núcleos de las estructuras base y compuestos relacionados encontrados en las diferentes especies del género *Ocotea*.

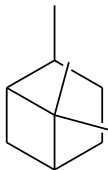

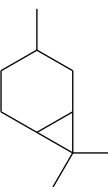
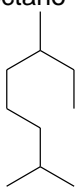
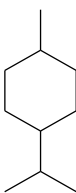
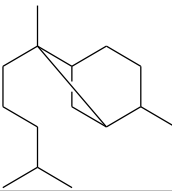
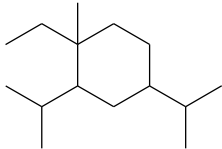
Estructura base	Compuestos relacionados	Especies
Pinano 	α -Pineno β -Pineno	<i>O. discolor</i> <i>O. heterochroma</i> <i>O. tesmannii</i>
Tujano 	Sabineno Tujeno	<i>O. heterochroma</i>
Carano 	δ -3-Careno	<i>O. longifolia</i>
2,6-Dimetiloctano 	(Z)-Ocimeno	<i>O. discolor</i> <i>O. longifolia</i>
<i>p</i> -Mentano 	Terpinoleno α -Felandreno	<i>O. longifolia</i>
Copaano 	α -Copaeno	<i>O. lanceolata</i> <i>O. tesmannii</i>
Elemeno 	δ -Elemeno γ -Elemeno Elixeno	<i>O. macrophyla</i> <i>O. calophylla</i> <i>O. caudata</i>

Tabla 7: Núcleos de las estructuras base y compuestos relacionados encontrados en las diferentes especies del género *Ocotea*. (Continuación)

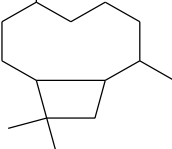
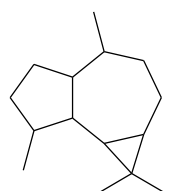
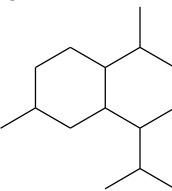
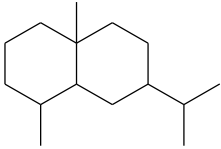
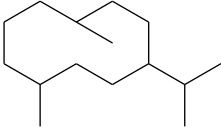
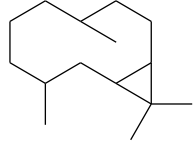
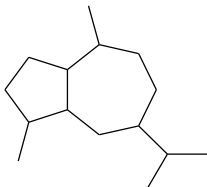
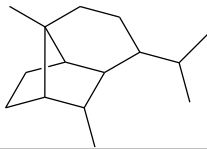
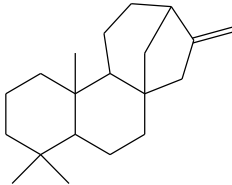
Estructura base	Compuestos relacionados	Especies
Cariofilano 	Cariofileno	<i>O. caudata</i> <i>O. longifolia</i> <i>O. calophylla</i> <i>O. tessmannii</i> <i>O. macropoda</i> <i>O. leucoxylon</i> <i>O. lanceolata</i> <i>O. heterochroma</i> <i>O. discolor</i> <i>O. macrophylla</i>
Aromadendrano 	Alloaromadendreno Isoledeno Ledol Espatuleno	<i>O. longifolia</i> <i>O. macrophylla</i> <i>O. heterochroma</i> <i>O. calophylla</i>
Cadinano 	δ -Cadineno β -Cadineno γ -Cadineno α -Amorfeno α -Muuroleno γ -Muuroleno α -Cadinol	<i>O. longifolia</i> <i>O. calophylla</i> <i>O. lanceolata</i> <i>O. heterochroma</i> <i>O. tessmannii</i>
Eudesmano 	α -Selineno β -Selineno Selina-3,7(11)-dieno Furanoeudesmanos 2-isopropenil-4a,8-dimetil- 1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno	<i>O. tessmannii</i> <i>O. calophylla</i> <i>O. longifolia</i>

Tabla 7: Núcleos de las estructuras base y compuestos relacionados encontrados en las diferentes especies del género *Ocotea*. (Continuación)

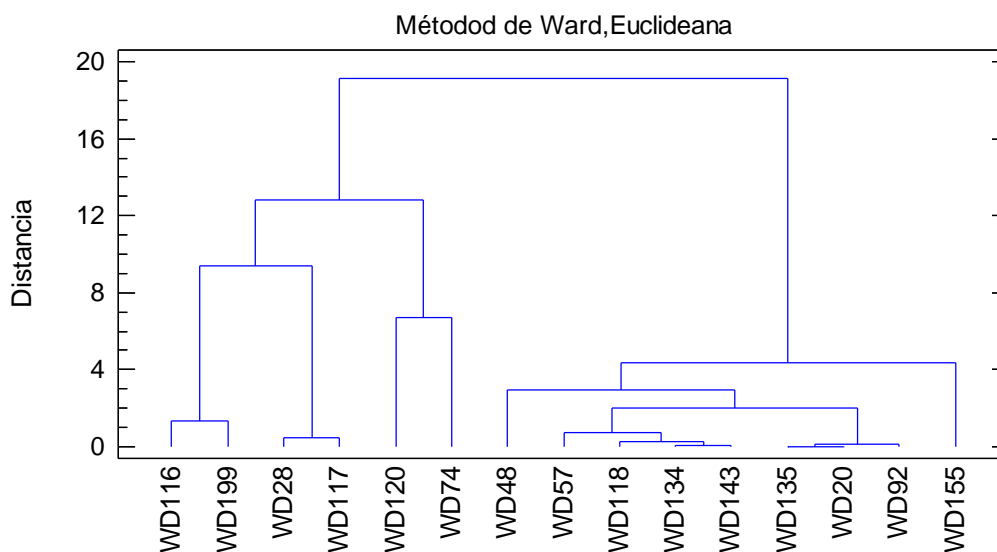
Estructura base	Compuestos relacionados	Especies
Germacrano 	Germacreno D Germacreno B Furanodieno	<i>O. caudata</i> <i>O. discolor</i> <i>O. calophylla</i> <i>O. macrophylla</i> <i>O. macropoda</i> <i>O. leucoxyton</i> <i>O. longifolia</i>
Biciclogermacrano 	Biciclogermacreno	<i>O. leucoxyton</i> <i>O. discolor</i> <i>O. tesmanni</i> <i>O. macropoda</i> <i>O. longifolia</i>
Guaiano 	β -Guaieno Guaiol Bulnesol	<i>O. macrophylla</i> <i>O. longifolia</i>
Sinularano 	Sinulareno	<i>O. macrophylla</i>
Kaurano 	Kaureno	<i>O. heterochroma</i>

Además de los compuestos terpénicos, también se detectaron hidrocarburos y aldehídos de cadena larga.

Al realizar un análisis de conglomerados (**Figura 30**) teniendo en cuenta la composición total determinada para cada una de las especies de *Ocotea* estudiadas se observa la generación de dos conglomerados; Uno conformado por las muestras correspondientes a

las especies *O. longifolia*, *O. tesmannii* y *O. heterocroma* y se ve además, que las cuatro muestras de la especie *O. longifolia* se subdividen en dos subgrupos: un subgrupo conformado por las muestras WD 116 y WD 199 correspondientes a los muestreos realizados en Leticia (Amazonas) y La Primavera (Vichada) respectivamente, y el otro subgrupo por las muestras WD 28 y WD 117 colectadas en Icononzo y Lérica (Tolima).

Figura 30: Análisis de conglomerados obtenido a partir de los datos de composición química de los aceites esenciales de *Ocoteas* por tipo de compuestos.



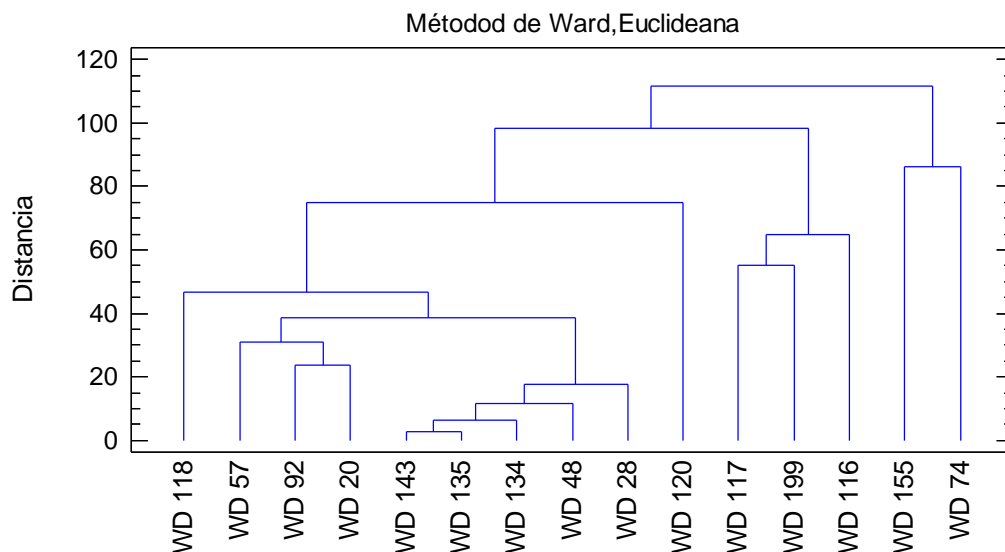
El segundo conglomerado está conformado por las siete especies restantes, a diferencia del primer conglomerado, éste presenta menor variación pues según el algoritmo utilizado para el análisis, las distancias euclídeanas calculadas entre estas especies están alrededor de 4 unidades o menos. Dentro de ellas, la muestra más distante es *O. calophylla* (WD 155).

Un segundo análisis de conglomerados (**Figura 31**) con base en la composición química relativa detallada muestra un mayor número de agrupaciones. La primera agrupación conformada por *O. tesmannii* y por *O. calophylla* presenta el mayor grado de variación. Un segundo grupo está formado por tres de las cuatro muestras correspondientes a *O. longifolia* (WD 116, WD 199 y WD 117) pero presentan una amplia variación, alrededor de 60 unidades. El tercer conglomerado en separarse está formado únicamente por *O. heterochroma* indicando esto que dentro de las muestras incluidas ninguna tiene una

composición cercana a esta especie. Las especies restantes se pueden agrupar en tres conglomerados: uno constituido por *O. caudata* (WD 118), otro por *O. lanceolata* (WD 57) y *O. macrophylla* (WD 20 y WD 92) y el último conglomerado de menor variación agrupa las especies (*O. macropoda* (WD 48), *O. discolor* (WD 135 y WD135), *O. leucoxyton* (WD 143) y una de las muestras de *O. longifolia* (WD 28).

Algunos de estos aceites esenciales que fueron obtenidos de especies *O. longifolia* y *O. macrophylla*, se sometieron a estudios de actividad insecticida y fungicida (Prieto, Pabón, Patiño, Delgado & Cuca, 2010). Así mismo, el aceite de *O. caudata* fue evaluado como antimicrobiano frente a bacterias *gram*-positivas mostrando una moderada actividad (Gil, Cuca & Delgado, 2016).

Figura 31: Análisis de conglomerados obtenido a partir de los datos de composición química detallada de los aceites esenciales de *Ocoteas*.



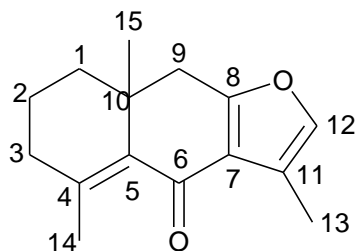
Los compuestos de tipo furanoedesmano fueron detectados en diferentes concentraciones en las cuatro muestras de *O. longifolia* de este grupo de compuestos fue posible aislar y purificar por métodos cromatográficos el mayoritario que cristaliza en forma de prismas rectangulares, con un punto de fusión de 111-112 °C y una rotación específica $[\alpha]_D^{20} = + 58^\circ$ que posteriormente por técnicas espectroscópicas fue determinado como 4-Furanoedesma-4-dien-6-ona (**Figura 32**) este compuesto había sido previamente reportado en *O. pulchella* (Botega, Pagliosa, Bolzani, Yoshida &

Gottlieb, 1993). La **Tabla 8** muestra los datos de la caracterización espectroscópica del compuesto aislado.

Tabla 8. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto WC 1 aislado del AE's de *O. logifolia* y el compuesto 3a aislado de *Ocotea pulchella*.

H	Compuesto 3a (200 MHz, CDCl_3) ppm (multiplicidad) J	Compuesto WC 1 (500 MHz, CDCl_3) ppm (multiplicidad)	Correlación H-H
H2-1	1,50 (m)	1,67 (m)	H-2
H2-2	1,55 (m)	1,74 (m)	H-1, H-3
H2-3	2,00 (m)	2,16 (m)	H-2, Me-14
H-9a	2,87 (d) 16,5	2,84 (d) 16,8	H-9b, H-15
H-9b	2,60 (d) 16,5	2,65 (d) 16,8	H-9a, H-15
H-12	7,04 8 (br) 1,5	7,06 (br) 1,2	Me-13
Me-13	2,22 (d) 1,5	2,24 (d) 1,3	H-12
Me-14	2,02 8 (s)	2,03 (s br)	H2-3
Me-15	1,14 (s)	1,15 (s br)	H2-9
C	Compuesto 3a (50 MHz, CDCl_3)	Compuesto WC1 (100 MHz, CDCl_3)	Correlación ^1H - ^{13}C
1	38,5	38,7	
2	18,4	18,6	
3	34,3	34,6	Me-14
4	144,8	145,3	Me-14
5	135,3	135,6	Me-14,15
6	188,3	188,7	
7	120,3	120,5	Me-13
8	164,0	164,4	H9a, H9b
9	39,2	39,5	Me-15, H9a, H9b
10	38,2	38,5	
11	119,3	119,6	Me-13
12	138,9	139,1	Me-13
Me-13	8,9	9,2	Me-13
Me-14	21,9	22,0	Me-14, H3
Me-15	29,9	27,2	Me-15

Figura 32: Estructura del compuesto WC 1 aislado del aceite esencial de diferentes accesiones de *Ocotea longifolia* (4-furanoeudesman-6-ona).



Al realizar los análisis cromatográficos se observó que el pico correspondiente a este compuesto disminuía con el tiempo de almacenamiento de la muestra, fue así como al realizar el análisis de una muestra de aceite recién extraída y empleando un régimen isotérmico de temperatura se evidenció que este compuesto es producto de una transformación que se aprecia en sus espectros de masas (WC 1). En la **Figura 33** se observa la TIC obtenida en el experimento y una ampliación de la región donde se observan los picos de interés. Así mismo en la **Figura 34** se observan los correspondientes espectros de masas.

Figura 33: TIC del aceite esencial de *O. longifolia* fresco obtenido en modo isotérmico (180 °C) y ampliación de la zona correspondiente a los compuestos de tipo furanoeudesmano.

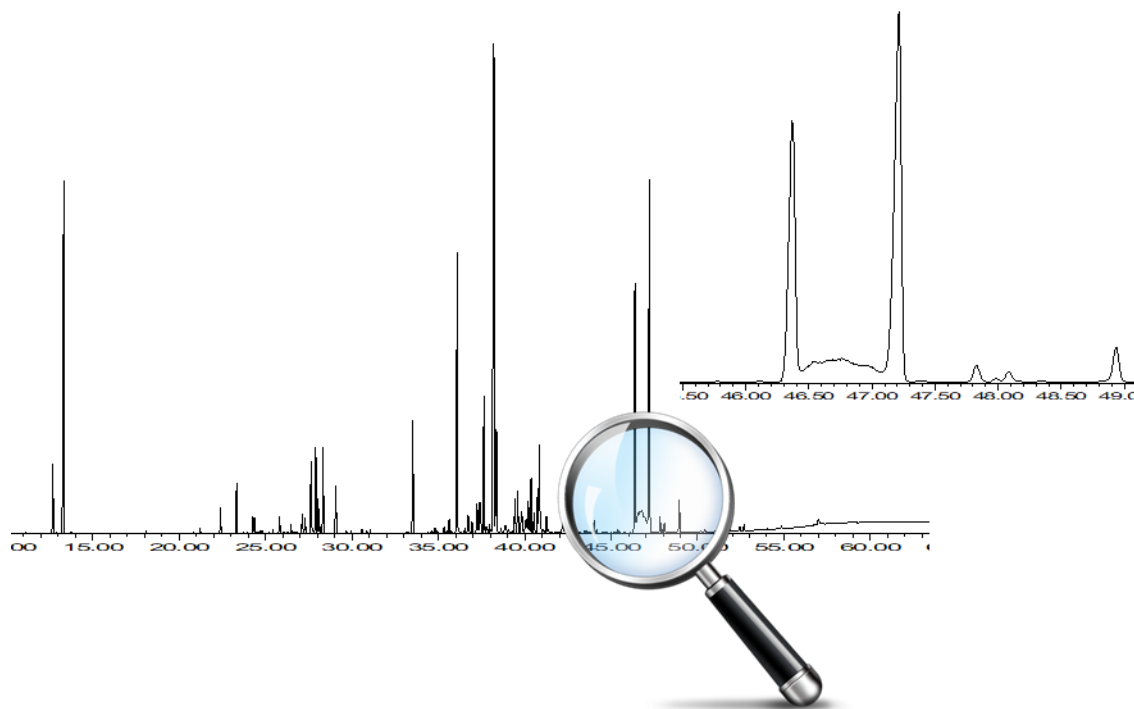
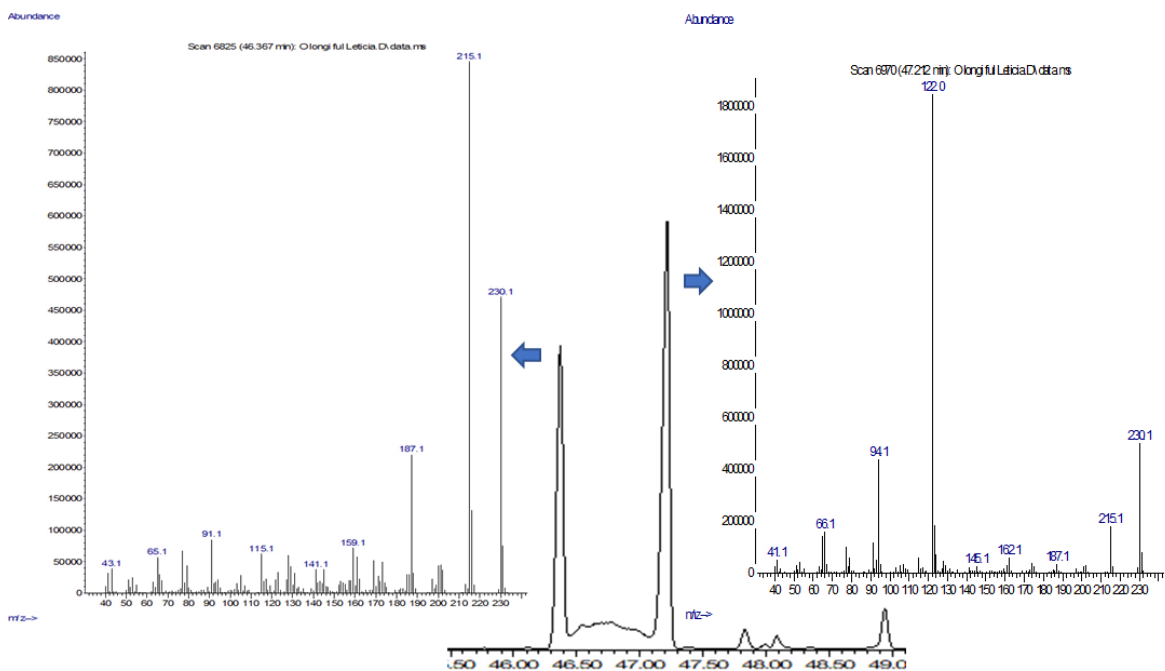


Figura 34: Espectros de masas de los compuestos WC 1 (izquierda) y su precursor (derecha) observados durante el análisis cromatográfico.



Una posible interpretación de los espectros de masas mostrados se observa en las **Figuras 35** y **36** de esta forma se explica la formación de los picos de mayor intensidad observados en cada espectro. Este tipo de fragmentaciones del anillos insaturados o fusionados con el núcleo de furano ha sido previamente reportado por varios investigadores. (Joshi, 2014; Brieskorn & Noble, 1983; Hikino, Agatsuma, Konno & Takemoto, 1970)

Figura 35: Posible ruta de fragmentación del posible compuesto precursor de WC 1 denominado WC 2.

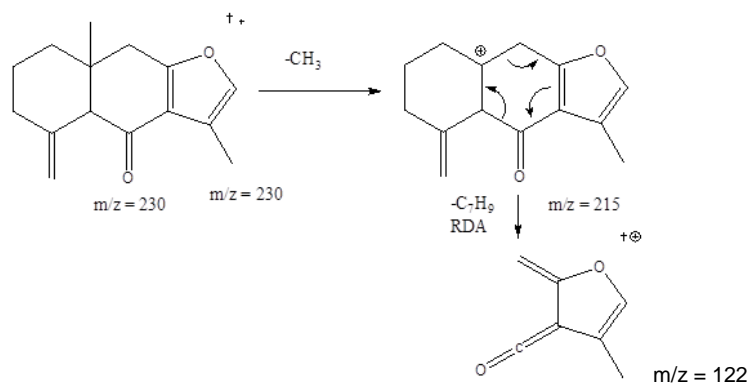
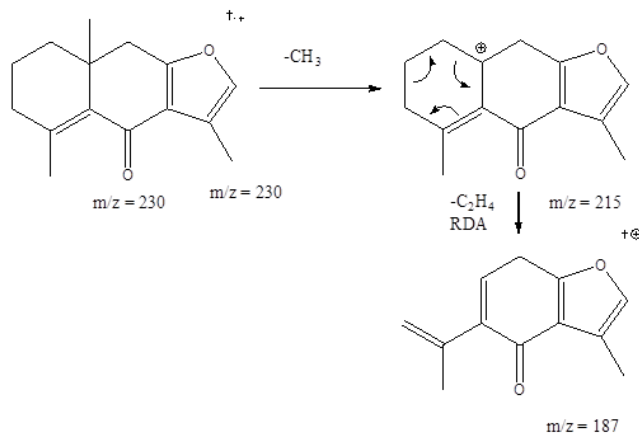
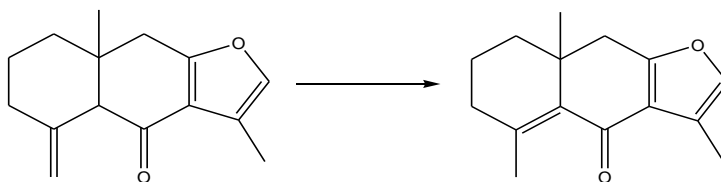


Figura 36: Posible ruta de fragmentación del compuesto WC 1 3,5,8a-trimetil-7,8,8a,9-tetrahidronafto[2,3-b]furan-4(6H)-ona o (4-furanoeudesman-6-ona).

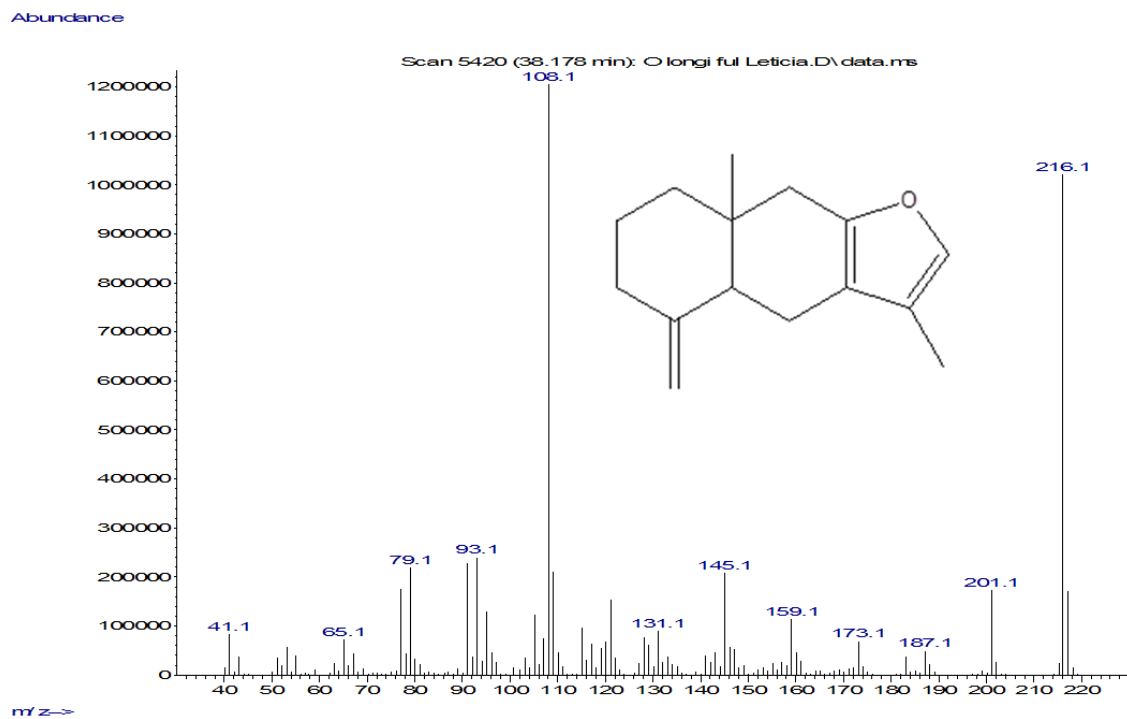
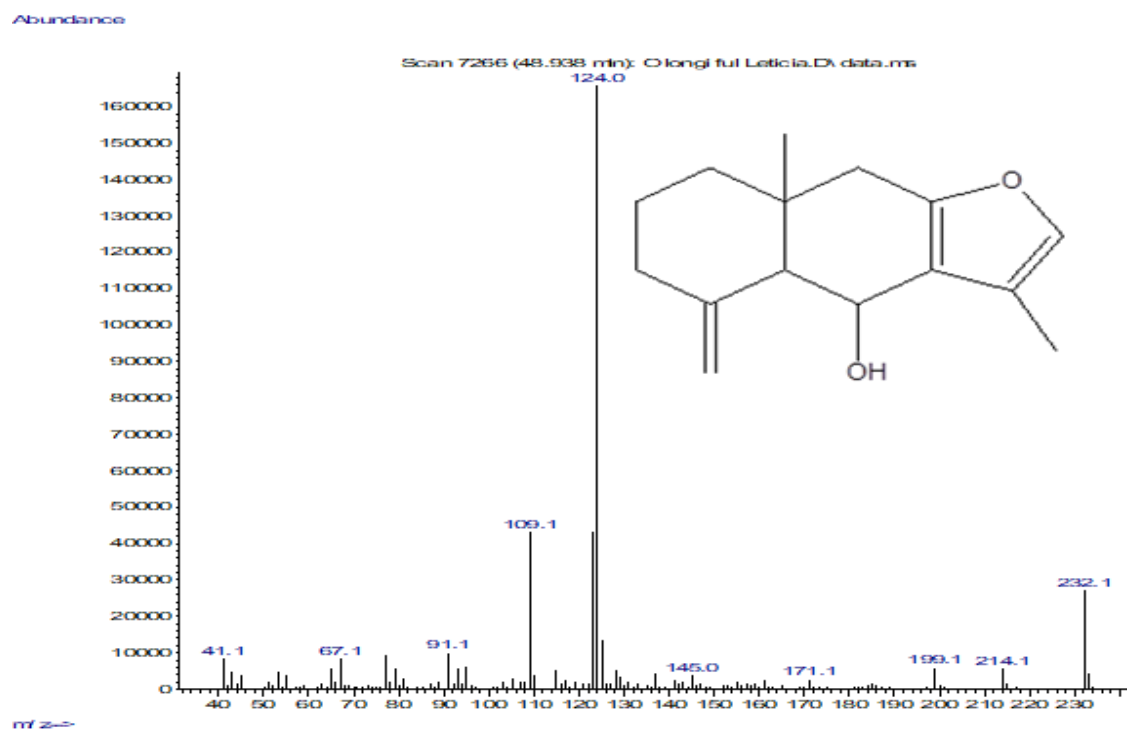


Por lo anterior se propone que el producto caracterizado identificado como WC 1 se genera por una isomerización (transposición de hidrógeno 1,3) gerándose un compuesto en el que se extiende la conjugación y además se origina un sistema alfa-beta insaturado. La **Figura 37** ilustra la reacción de isomerización propuesta.

Figura 37: Propuesta de la reacción de isomerización térmica que conduce al compuesto WC 1 (4-furanoeudesman-6-ona) a partir de WC 2 3,8a-dimetil-5-metilen-5,6,7,8a,9-hexahidronafto[2,3-b]furan-4aH)-ona.



Ademas del compuesto WC 1 se pudieron determinar tentativamente otros compuestos biogénicamente relacionados con este como (WC 3) 3,8a-dimetil-5-metilen-4.4a,5,6,7,8,8a,9-octahidronafto[2,3-b]furano(atractilona) y (WC 4) 3,8a-dimetil-5-metilen-4,4a,5,6,7,8,8a,9-octahidronafto[furan]-4-ol. En las **Figuras 38** y **39** se observan las estructuras propuestas para los compuestos WC 3 y WC 4 y sus correspondientes espectros de masas.

Figura 38: Espectro de masas y estructura propuesta para el compuesto WC 3.**Figura 39:** Espectro de masas y estructura propuesta para el compuesto WC 4.

De forma general se puede afirmar que los aceites de las especies de *Ocotea* analizados se distribuyen en dos grupos (**Figuras 30 y 31**), uno con poca variación lo que indica que

sus aceites deben ser de composición semejante y el otro grupo se caracteriza por una mayor variación lo que se debería a una mayor heterogeneidad en la composición y en algunas especies como *O. longifolia* se encuentran compuestos tipo furanoeudesmano, los cuales no se detectaron en ninguna otra muestra analizada. Para la muestra de *O. heterochroma* además de presentar una amplia gama de tipos de compuestos, se destaca la presencia del diterpeno Kaureno.

4.3.2 Aceites esenciales de las especies de *Aniba* (Lauraceae)

En dos de las tres especies del género *Aniba* (*A. robusta* y *A. coto*) los compuestos predominantes fueron ésteres de ácido benzoico y/o salicílico representando más del 50% de la composición de estos aceites esenciales. El resto de la composición está representado mayoritariamente por compuestos sesquiterpénicos y en el caso de *A. robusta* alrededor de un 5% de monoterpenos. Para *A. puchury-minor* las muestras identificadas como WD 137 y WD 145 muestran similitud en sus composiciones y están constituidas mayoritariamente por compuestos sesquiterpénicos, mientras que WD 35 posee una composición muy diferente en la cual además de compuestos sesquiterpénicos se detectaron compuestos diterpénicos y derivados de ácidos grasos en alta proporción.

Esta observación está de acuerdo con caracteres taxonómicos observados en los especímenes colectados. Así: los especímenes WD 137 y WD 145 son árboles muy ramificados desde la base, pero de crecimiento vertical (posiblemente por podas) poseen hojas de hasta 25 cm de longitud, lustrosas, subverticiladas, oblongas, acuminadas, nervadura central prominente de color amarillento. Frutos oblongos de hasta 4 cm de largos, color negro-azul intenso al estar maduros con cúpula basal gruesa y de bordes irregulares y color rojo. El espécimen identificado como WD 35 es un árbol de arquitectura irregular, crecimiento no recto, hojas alternas, poco lustrosas, lanceoladas, nervadura central poco marcada, frutos alargados, de color verde siempre, de hasta 2 cm de longitud y con cúpula basal verde y de borde regular.

Estas observaciones podrían conducir a que se trata de especies diferentes o que la presión del ambiente es tanta que provoca esa gran diferenciación tanto en los caracteres morfológicos como en la composición química de los aceites esenciales correspondientes.

Inicialmente, la muestra identificada como WD 136 fue determinada como *O. cernua* pero debido a la composición química tanto del aceite esencial como del extracto etanólico de la corteza se consideró un posible error en la determinación por lo cual se solicitó la revisión de la muestra y la revisión realizada por el personal Herbario (COL) arrojó que la determinación estaba mal y que la especie correspondía a *Aniba coto*.

Con el fin de estudiar la variación en la composición de los aceites de las especies de *A. puchur minor* y *A. robusta* se tomaron muestras en diferentes regiones, épocas del año y distintos individuos de la misma población inclusive para la especie *A. puchury- minor* de la localidad de Santa Bárbara se tomaron muestras en dos horarios en el mismo día (seis de la mañana y seis de la tarde). En la **Tabla 9** se muestra la composición por tipo de compuestos encontrada para las especies de *Aniba* muestreadas y analizadas.

Al realizar un análisis de conglomerados (**Figura 40**) con estos datos, lo primero que se advierte claramente, es que la muestra identificada como WD 35 forma una única agrupación, también se observa como las muestras de *A. puchury-minor* WD 145 y WD 137 conforman un subgrupo y las muestras de *A. robusta* y *A. coto* forman otro. Esto indica que la información generada no es suficiente para hacer una discriminación entre las especies *A. robusta* y *A. coto*, pero sí entre estas y *A. puchury minor*.

Un segundo análisis de conglomerados con la composición química relativa completa determinada por CG-EM (**Anexo B**) se muestra en la **Figura 41**. De forma similar que lo mostrado en la **Figura 40**, lo primero que se advierte es la separación de la muestra WD 35 de las demás. También se observa como las muestras de *A. puchury-minor* WD 145 y WD 137 forman agrupaciones diferentes, eso indica que, para esta especie, sí hay influencia medible de la localización geográfica sobre la composición de los aceites esenciales, para el caso de *A. robusta* (WD 124 y WD 130) no se observa una separación en función de la localización geográfica incluso las muestras de *A. coto* quedan quedadas dentro de esta agrupación.

Tabla 9: Relación de las muestras de especies del género *Aniba* y su composición por tipo de compuestos.

Código- individuo, (# de muestreo), fecha de muestreo	Tipo de compuestos (%) relativo			
	Monoterpenos	Sesquiterpenos	Sesquiterpenoides	Aromáticos
WD 145-A (1), octubre 2012	--	81,66	15,21	--
WD 145-A (2M), Julio 2014	--	62,3	21,84	--
WD 145-A (2T) Julio 2014	--	66,24	21,84	--
WD 137-A (1), noviembre 2012	--	57,32	32,02	--
WD 137-A2, mayo 2015	--	53,21	40,94	--
WD 137-B, mayo 2015	-	59,53	31,39	--
WD 137-C mayo 2015	0,48	63,24	28,97	--
WD 124-A1, octubre 2011	16,8	14,68	2,39	57,83
WD 124-A2, octubre 2011	2,22	21,63	4,38	68,31
WD 124-B, noviembre 2012	4,09	29,13	9,55	50,93
WD 130-A1, octubre 2012	9,71	29,26	6,29	45,73
WD 130-A2, noviembre 2011	3,39	23,9	11,66	54,05
WD 130-B1, noviembre 2011	--	42,31	10,98	41,14
WD 136-A, noviembre 2012	--	19,21	8,44	71,63
WD 136-B2, mayo 2015	--	19,81	3,29	76,68
WD 35, marzo 2011	1,73	64,51	4,04	13,6

WD 145 = *A. puchury-minor* (Santa Bárbara), WD 137 = *A. puchury-minor* (Fusagasuá), WD 35 = *A. puchury-minor* (Arauca), WD124 = *A. robusta* (La Vega), WD 130 *A. robusta* (Paipa).

Figura 40: Análisis de conglomerados de la composición por tipo de compuestos de los aceites esenciales de especies del género *Aniba*.

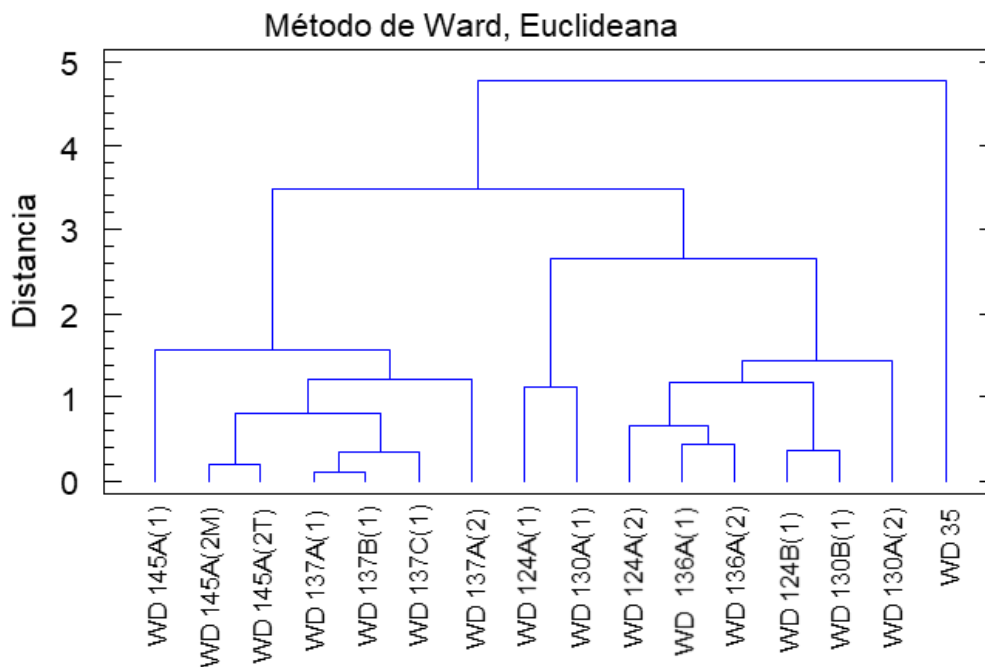
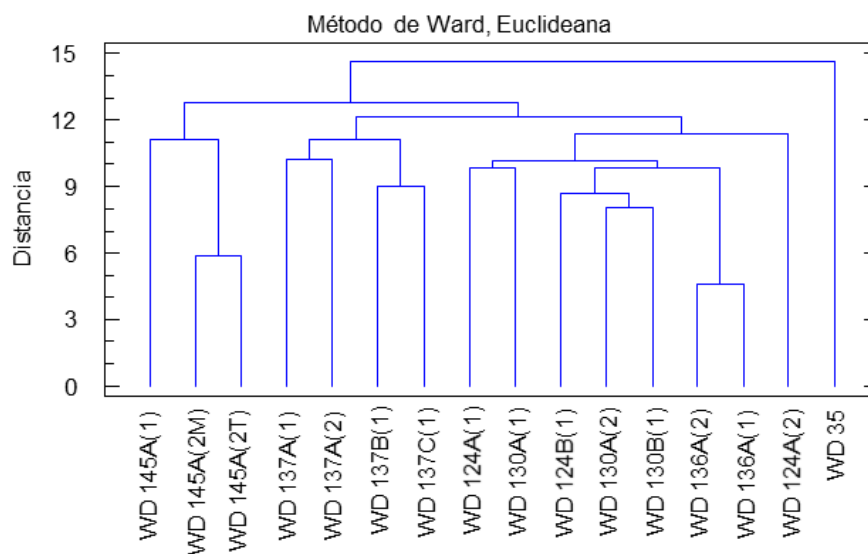


Figura 41: Análisis de conglomerados de la composición detallada de los aceites esenciales de especies del género *Aniba*.



Para *A. puchury-minor* se calcularon porcentajes de extracción de aceite esencial entre 0,40 y 0,42%, mientras que para *A. robusta* se calcularon porcentajes de extracción entre

0,50 y 0,55%. El aceite esencial obtenido de la muestra WD145, (*A. puchury-minor*) colectada en Santa Bárbara (Santander) presenta índices de similitud entre el 71,6 y 82,8% con respecto a las muestras de la misma especie identificadas con los códigos WD137-A1, WD137-A2, WD137-B, WD137-C que fueron colectadas en Fusagasugá (Cundinamarca). Así mismo, muestras de aceites esenciales obtenidas del mismo individuo en épocas diferentes (WD137-A1, WD137-A2) y muestras de distintos individuos de la misma población (WD137-A2, WD137-B, WD137-C) muestran índices de similitud entre 88,0 y 98,4%. (**Tabla 10**).

Los aceites esenciales obtenidos de muestras de *A. robusta* (WD124-A1, WD124-A2 y WD124-B) colectados en La Vega (Cundinamarca) pertenecientes a diferentes individuos de la misma población o a el mismo individuo muestreado en épocas diferentes, muestran índices de similitud entre 77,8 y 83,2%. Los aceites de las muestras de *A. robusta* identificadas como WD130-A1, WD130-A2 y WD130-B, colectados en Paipa (Boyacá) pertenecientes a diferentes individuos de la misma población o al mismo individuo muestreado en épocas diferentes, muestran índices de similitud ligeramente mayor entre 81,1 y 86,2%. A su vez la similitud entre las muestras de las dos localidades (La Vega y Paipa) se encuentran entre 62,5 y 94,0%. (**Tabla 11**).

Tabla 10: Matriz de similitudes calculadas por el método de Bray Curtis calculadas con base en la composición química detallada de los aceites esenciales de especies del género *Aniba puchury-minor*.

Matriz de similitudes de aceites esenciales de <i>Aniba puchury-minor</i> (Bray Curtis)							
Muestras	WD145A	WD145M	WD145T	137A1	137A2	137B	137C
WD145A	100,0						
WD145AM	65,3	100,0					
WD145AT	68,7	88,4	100,0				
WD137A1	77,9	88,8	70,6	100,0			
WD137A2	71,6	81,9	72,4	92,9	100,0		
WD137B	79,6	90,5	80,1	98,4	91,1	100,0	
WD137C	82,8	93,7	77,3	94,8	88,0	96,4	100,0

Tabla 11: Matriz de similitudes calculadas por el método de Bray Curtis calculadas con base en la composición química detallada de los aceites esenciales de especies del género *Aniba robusta*.

Matriz de similitudes de aceites esenciales de <i>Aniba robusta</i> (Bray Curtis)							
Muestras	WD124A1	WD124A2	WD124B	WD130A1	WD130A2	WD130B1	WD130B2
WD124A1	100,0						
WD124A2	81,9	100,0					
WD124B	77,8	83,2	100,0				
WD130A1	79,4	78,9	92,3	100,0			
WD130A2	80,7	86,8	94,0	86,2	100,0		
WD130B1	75,6	81,5	87,0	79,6	83,2	100,0	
WD130B2	62,5	70,2	84,9	82,7	81,1	91,1	100,0

En total se pudieron determinar de forma certera 79 compuestos como constituyentes de los aceites esenciales de las especies del género *Aniba*, solo seis corresponden a compuestos monoterpénicos, 41 hidrocarburos sesquiterpénicos, 25 sesquiterpenoides, dos ésteres de ácido benzoico, un éster de ácido salicílico un hidrocarburo lineal de cadena larga y dos compuestos diterpénicos.

Los compuestos mayoritarios de tipo monoterpénico solo tienen como núcleo base el pinano, los de tipo sesquiterpénico tienen como núcleo base (cubebano, copaano, elemeno, cariofilano, selinano, eremofilano, humulano, germacrano, biciclogermacrano, panasinsano, bisabolano, cadinano, eremofilano, aromadendrano y farnesano) y los diterpénicos fitano y kaurano. La muestra identificada como WD 35 es la única que presenta los compuestos Eremofileno y Kaureno que tienen por estructuras base los núcleos de eremofilano y kaurano respectivamente.

El α -Copaeno, β -Elemeno, Cariofileno, α -Humuleno, Germacrano D, δ -Cadineno, Espotulenol y Óxido de cariofileno son los compuestos presentes en la mayor parte de las muestras analizadas. α y β -Selineno, β -Eudesmol y Nerolidol solo están presentes en las especies de *A. puchury-minor*.

En cuanto a los ésteres de los ácidos benzoico y salicílico solo se encuentran en *A. robusta* y *A. coto*. Solo en *A. coto* se detectó el sesquiterpeno Zingibereno.

Los resultados de la composición determinados para *A. puchury-minor* contrastan con los

reportados previamente para esta especie colectada en la Amazonía. Así, en el estudio anterior se reportan como componentes mayoritarios en las hojas compuestos tipo arilpropano (Elemicina (21,5%), (E)-Isoelemicina (8.3%), Miristicina (6,4%)) y compuestos de tipo sesquiterpénico biciclogermacreno (15.4%), Espatulénol (11.3%), alfa-Copaeno (6.6%) y β -Selineno (6.3%). Y en el aceite obtenido de corteza (E)-Metiliseugenol (43.1%), (E)-Asarona (30.0%), (Z)-Metiliseugenol (9.0%), y (E)-Isoelemicina (5.0%) (Taveira, da Silva & Maia, 2003). En los cinco aceites esenciales obtenidos de hojas de *A. puchury-minor* analizados en el presente estudio, bajo las condiciones de análisis empleadas, en ninguno se detectó la presencia de compuestos aromáticos de tipo arilpropano.

En ninguno de los aceites esenciales se detectaron compuestos oxigenados de tipo monoterpénico, solo en el extracto obtenido de corteza de la especie *A. puchury-minor* se detectaron dos compuestos de esta naturaleza (Eucaliptol y Alcanfor) aunque en proporciones relativas menores al 5% (**Anexo B**).

➤ **Extractos etanólicos de corteza de especies de *Aniba***

Al comparar la composición del Aceite obtenido de la corteza del material proveniente de la Amazonía (Taveira, da Silva & Maia, 2003) y compararlo con la caracterización del extracto etanólico obtenido de la corteza del material colectado en Fusagasugá, se encuentra una situación similar a la observada con los aceites esenciales de hojas, pues no se detectó ningún compuesto tipo arilpropano; solo se detectaron compuestos de tipo terpénico.

Según los datos encontrados, solo en la especie *A. hostmanniana* se ha encontrado un aceite esencial en el cual la composición química está dominada por compuestos de tipo arilpropano, este tipo de aceites son más comunes en especies pertenecientes al género *Ocotea* como *O. bofo*, *O. opifera* y *O. quixos* (Bruni, Medici, Andreotti, Fantin, Muzzoli, Dehesa & Sacchetti, 2004; Lorenzo, Loayza, Leigue, Frizzo, Dellacassa & Moyna, 2001; Guerrini, Sacchetti, Muzzoli, Moreno G., Medici, Besco & Bruni, 2006).

El extracto etanólico de corteza de *A. robusta*, (**Tabla 12**) está dominado por ésteres derivados de ácidos benzóicos; hecho que está de acuerdo con lo reportado para otras

especies de este género (Taveira, *et al.*, 2003; Gotlieb, 1972). En las **Figuras 42 a 44**, se muestran los espectros de masas y las estructuras tres de los compuestos determinados en el extracto etanólico de *A. robusta*.

Tabla 12: Caracterización mediante CG-EM de los extractos etanólicos de corteza de las especies de *Aniba* incluidas en este estudio.

Compuesto	Extracto etanólico		
	WD 137	WD 124	WD 136
α -Pinoeno	3,28	-	-
Camfeno	3,38	-	-
β -Pinoeno	3,82	-	-
Eucaliptol	3,2	-	-
Alcanfor	1,45	-	-
α -Cubebeno	2,88	-	1,08
α -Copaeno	19,02	-	2,33
α -Bergamoteno	3,42	-	-
<i>cis</i> -Calameneno	-	0,72	-
β -Selineno	3,05	-	-
α -Gurjuneno	2,67	-	-
δ -Cadineno	-	-	1,54
γ -Cadineno	2,16	-	-
Espatuleno	1,91	-	-
β -Eudesmol	14,76	-	-
Benzoato de bencilo	-	12,86	15,81
2-Metoxibenzoato de bencilo	-	21,76	2,06
2,6-Dimetoxibenzoato de bencilo	-	16,65	-
Salicilato de bencilo	-	4,98	0,58
(E)-6-(3,4-dimetoxiestiril)-4-metoxi-2H-piran-2-ona	-	-	3,09
(E)-6-(3,4-dimetoxiestiril)-2H-piran-2-ona	-	-	71,07
(E)-6-(metoxiestiril)-2H-piran-2-ona	-	-	0,79
(E)-6-(3,4-metilendioxiestiril)-2H-piran-2-ona	-	-	3,36

En el extracto etanólico de la corteza de *A. coto* además de los ésteres de ácido

benzoico se detectaron compuestos tipo 2-pirona; este tipo de metabolitos han sido identificados como marcadores químiotaxonómicos de algunas especies de este género de la familia Lauraceae. En las **Figuras 42 a 48**, se muestran los espectros de masas y las estructuras correspondientes.

La presencia de benzoatos y salicilatos en algunas especies del género *Aniba* implica la existencia de rutas metabólicas especializadas; aunque no se han aislado todas las enzimas involucradas en biosíntesis de este tipo de compuestos, se sabe que se originan a partir de la fenilalanina al igual que los compuestos de tipo arilpropano. En una etapa inicial de proceso biosintético la fenilalanina es transformada en ácido *trans*-cinámico mediante la enzima Fenilalanina amonio liasa (PAL) y este a su vez es transformado por distintas vías en ácido benzoico y activado como Benzoil coenzima A (BenzoilCoA).

Figura 42: Espectro de masas y estructura de Benzoato de bencilo

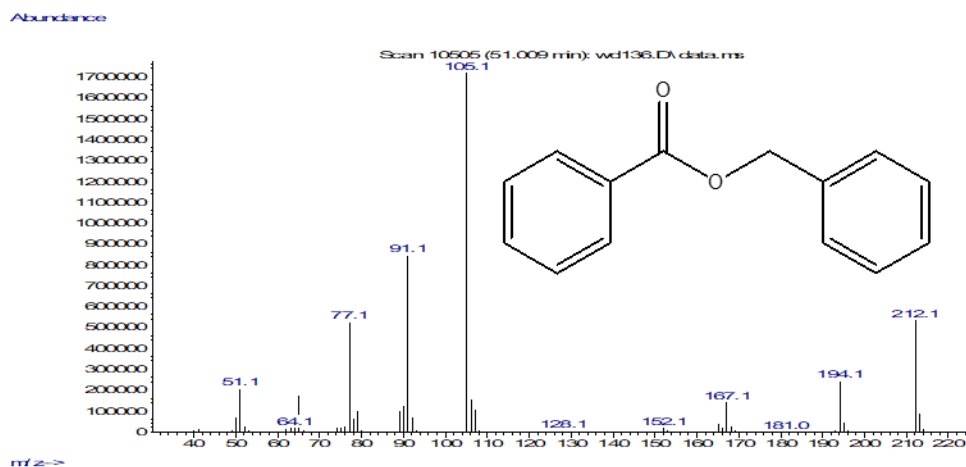


Figura 43: Espectro de masas y estructura de Benzoato de fenetilo

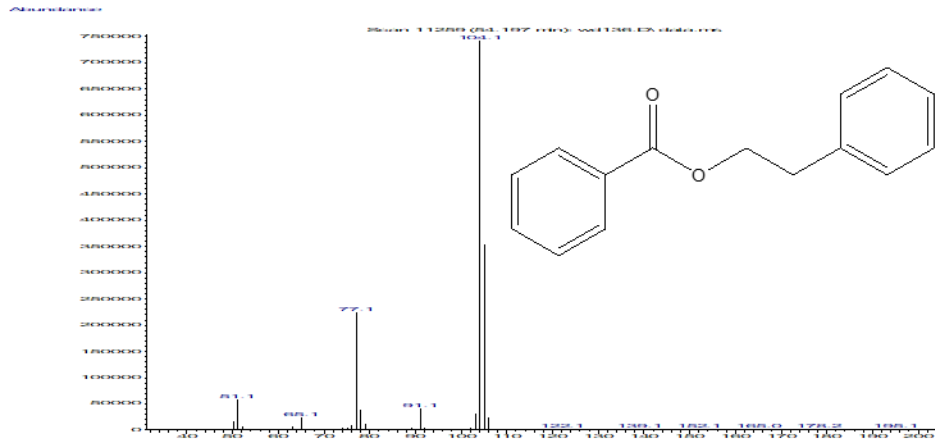
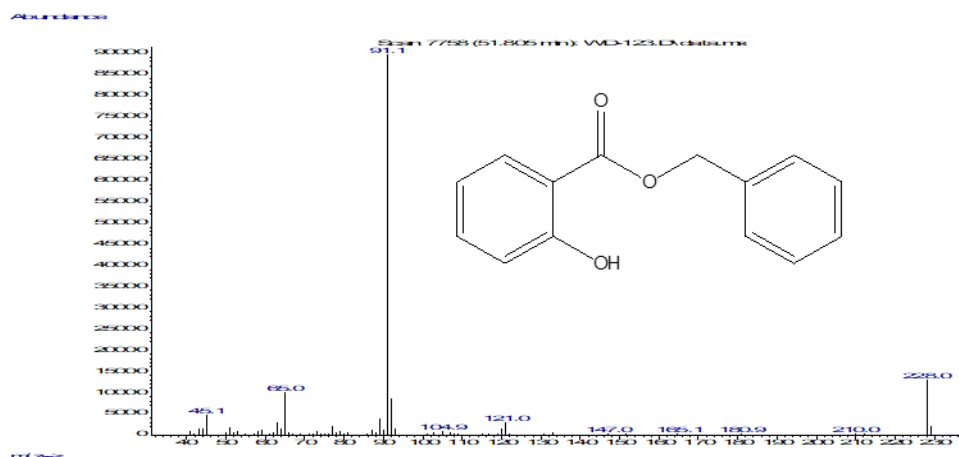
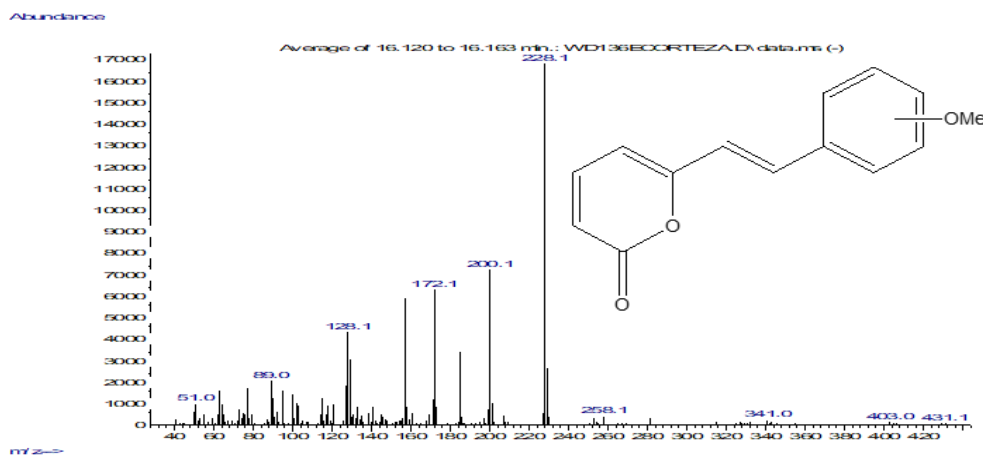


Figura 44: Espectro de masas y estructura de Salicilato de bencilo**Figura 45:** Espectro de masas y estructura del compuesto (*E*)-6-(metoxiestiril)-2H-piran-2-ona

También a partir del ácido *trans*-cinámico por sucesivas reacciones de descarboxilación y reducción es generado el alcohol bencílico el cual por reacción con BenzoilCoA y por acción de la enzima BenzoilCoA: Benzoil alcohol/2-feniletanol benzoil transferasa (BPBT) origina el benzoato de bencilo (Muhlemann, Klempien & Dudareva, 2014; Moerkercke, Schauvinhold, Pichersky, Haring & Schuurink, 2009).

Figura 46: Espectro de masas y estructura del compuesto (*E*)-6-(3,4-dimetoxiestiril)-2H-piran-2-ona

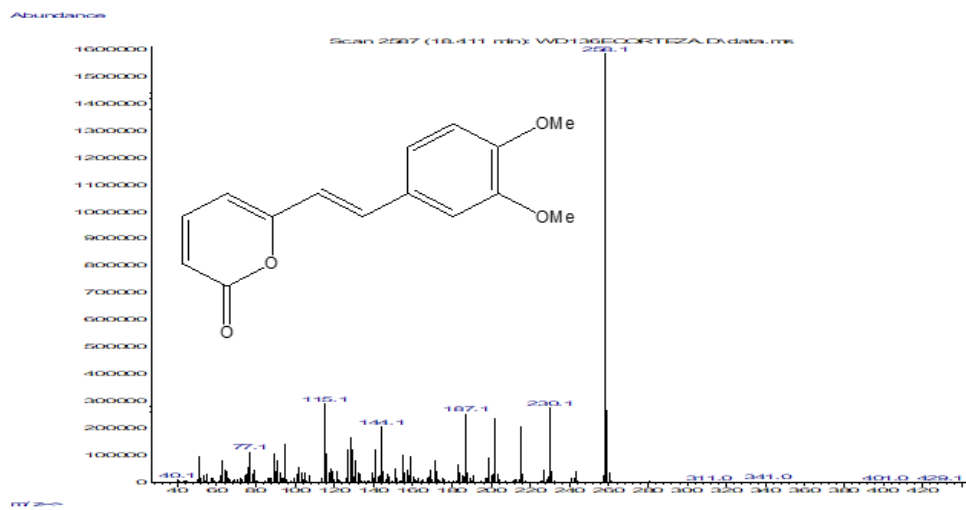
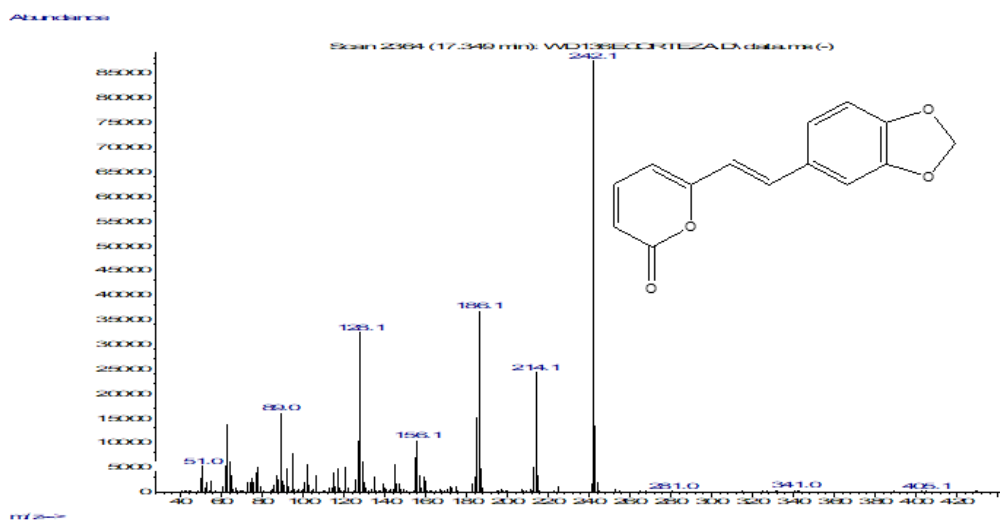
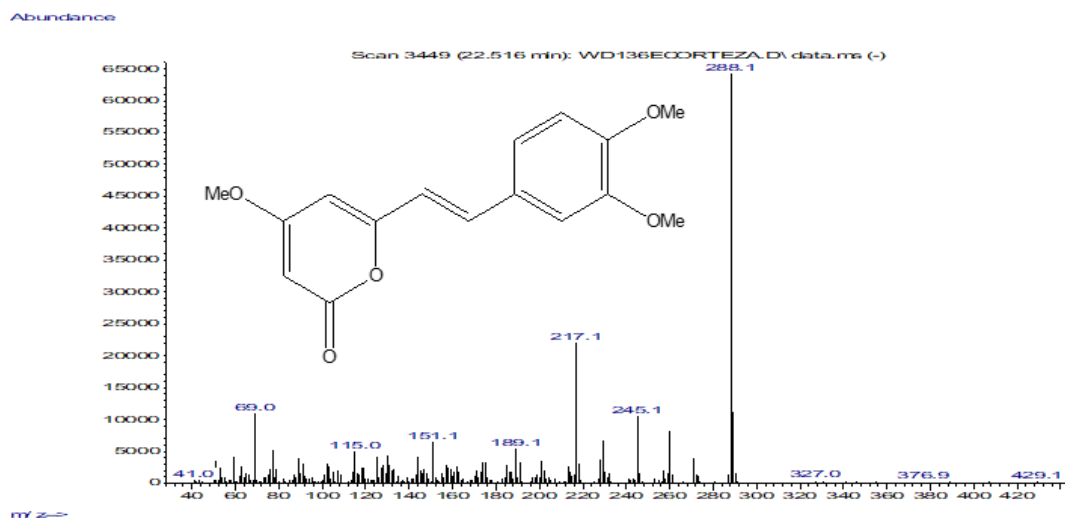


Figura 47: Espectro de masas y estructura del compuesto (*E*)-6-(3,4-metilendioxiestiril)-2H-piran-2-ona



Por otra ruta también a partir de fenilalanina, esta puede ser transformada en 2-fenilacetaldehído a partir del cual por catálisis de la enzima fenilacetaldehído reductasa (PAR) se produce 2-fenil etanol y este con el benzoilCoA y la enzima BenzoilCoA: benzoil alcohol/2-feniletanol benzoil transferasa (BPBT) se produce el benzoato de fenetilo. En la **Figura 49**, se observa la posible ruta biosintética que conduce a la formación de los benzoatos de bencilo y fenetilo descubiertos en rosas y petunias (Muhlemann, *et al.* 2014; Moerkercke, *et al.*, 2009).

Figura 48: Espectro de masas y estructura del compuesto (*E*)-6-(3,4-dimetoxiestiril)-4-metoxi-2H-piran-2-ona



El análisis teniendo en cuenta los componentes mayoritarios de los aceites esenciales obtenidos de diferentes especies del género *Aniba* reportados en estudios anteriores, (Luz, da Silva, Zoghbi, Andrade & Maia, 2002; Andrade, Zoghbi & Maia, 2003 ;Maia & Andrade, 2009) permite hacer la clasificación mostrada en la **Figura 50**. De esta forma, dependiendo del tipo de compuestos predominantes en la composición se pueden establecer nueve categorías de aceites, cuatro de estas categorías corresponden a aceites que están representados mayoritariamente por un solo tipo de compuestos (Monoterpénicos, Sesquiterpénicos, Arilpropánicos o derivados de ácidos benzoicos) y otras cinco categorías en las cuales el aceite está representado mayoritariamente por al menos dos tipos de compuestos.

Es de notar, que no se presenta intersección entre los círculos que delimitan los compuestos aromáticos de tipo arilpropano y el de los compuestos aromáticos tipo derivados de ácidos benzoicos. En cuanto a las especies incluidas en este estudio, se ubican en las primeras cuatro categorías; *A. robusta* en la categoría de los derivados de ácidos benzoicos y *A. puchury-minor* en la categoría de compuestos sesquiterpénicos. La especie de *A. puchury-minor* proveniente de la Amazonía se ubica en una categoría que representa compuestos de tipo sesquiterpénico y también compuestos tipo arilpropánicos.

Figura 49: Rutas biosintéticas resumidas para la formación de los benzoatos encontrados en algunas especies del género *Aniba*.

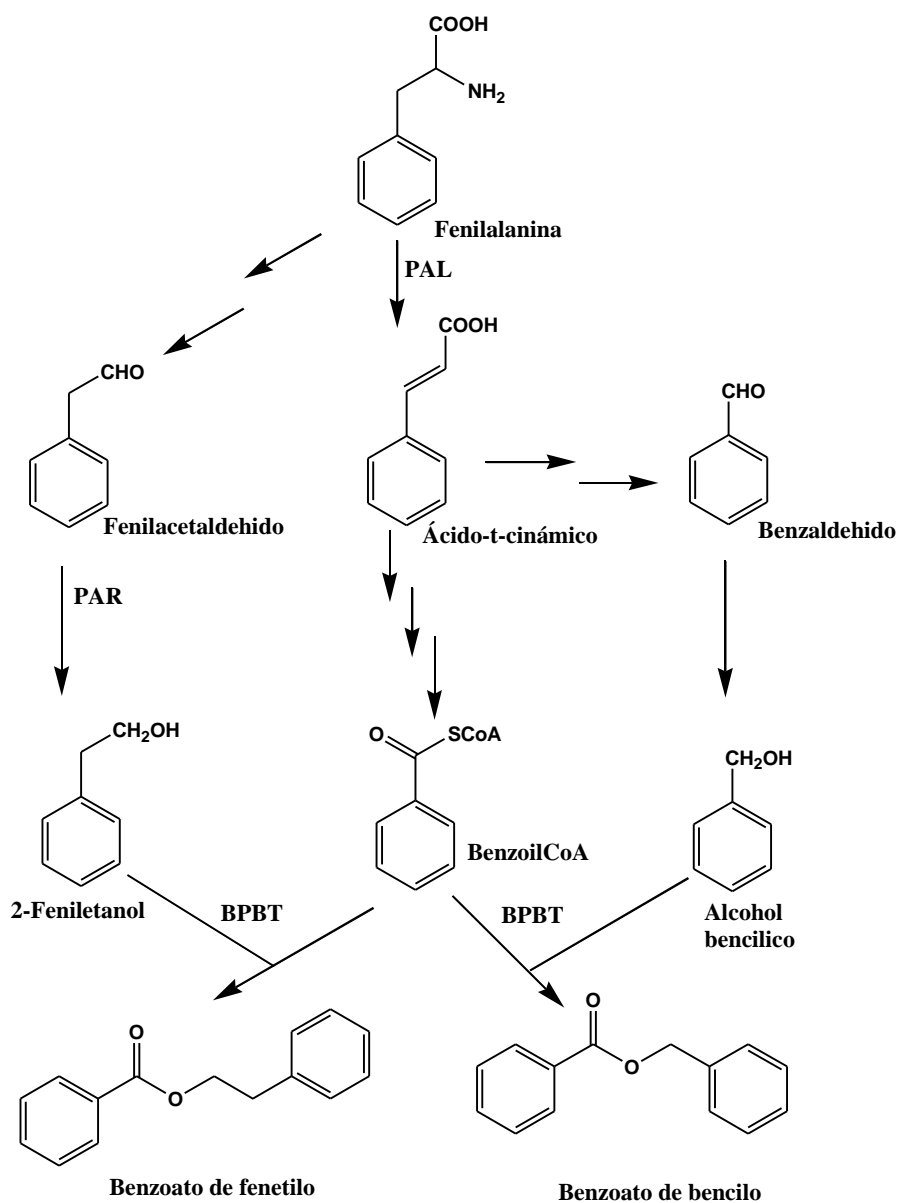
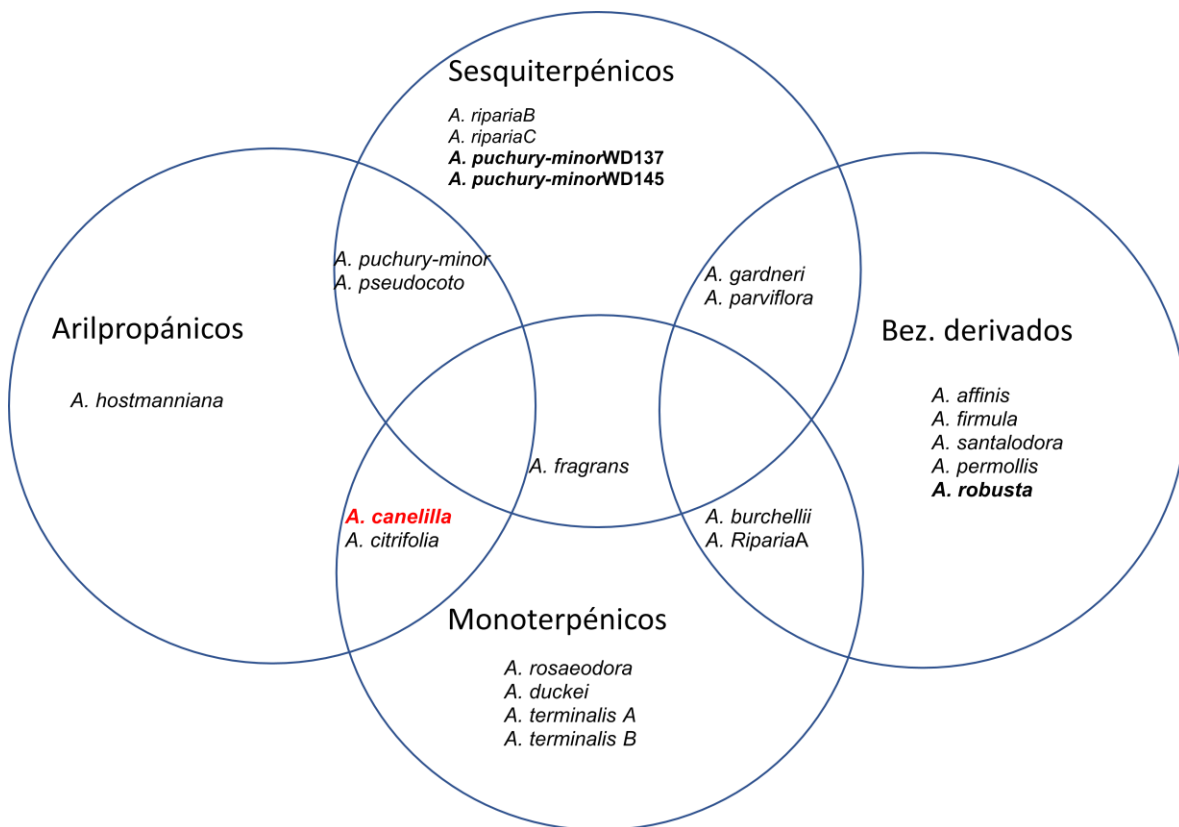


Figura 50: Diagrama de clasificación de especies del género *Aniba* en función de los compuestos mayoritarios encontrados en sus aceites esenciales.

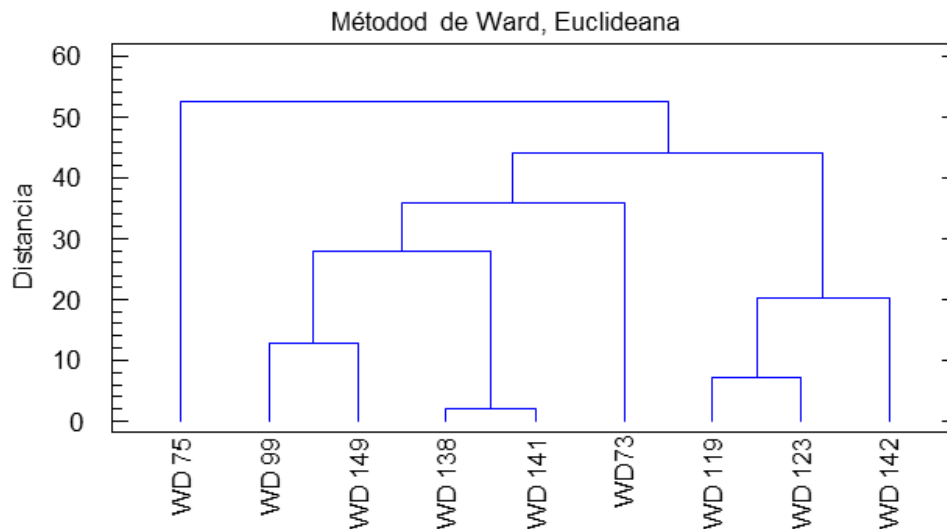


4.3.3 Aceites esenciales de las especies de *Nectandra* (Lauraceae)

En el caso de los aceites de las especies de *Nectandra* se observó que todos los aceites muestran en su composición monoterpenos, sesquiterpenos y sesquiterpenoides, siendo siempre mayoritarios los sesquiterpenos (62-92%); *N. membranacea* y una de las muestras de *N. reticulata* (WD 73 y WD 149) poseen compuestos de tipo diterpenoide; éstas muestras además presentan dos hidrocarburos de cadena larga.

En los nueve aceites esenciales analizados pertenecientes a cinco especies de *Nectandra* se determinaron 10 monoterpenos, en los cuales los de mayor abundancia y frecuencia son α y β - Pineno y β -(E)- Ocimeno. También se determinaron cincuenta hidrocarburos sesquiterpénicos y 27 sesquiterpenoides.

Figura 51: Análisis de conglomerados realizado con base en la composición química relativa detallada de los aceites obtenidos de especies del género *Nectandra*.



En la **Figura 51** se observa un análisis de conglomerados teniendo en cuenta la composición detallada de los aceites esenciales obtenidos de las cinco especies del género *Nectandra* (**Anexo C**). El primer conglomerado en formarse está integrado únicamente por la especie *N. reticulata*, (WD 75) colectada en Granada, el siguiente conglomerado está conformado por tres muestras *N. reticulata*, (WD 142) colectada en Chiquinquirá, *N. lineata* (WD 119) y *N. cuspidata* (WD 123) un tercer conglomerado se forma con las muestras WD 73. (*N. membranacea*), WD 149 y WD 99 (*N. reticulata*) y por las dos muestras de *N. acutifolia* (WD 138 y WD 141).

Los compuestos mayoritarios encontrados en la composición de los aceites se pueden ajustar a quince núcleos base (pinano y 2,6-dimetiloctano, Copaano, alfa y beta-santalano, humulano, guaiano, germacrano, cadinano, selinano, aromadendrano, biciclogermacrano, cadinano y eudesmano).

Al examinar la composición del aceite obtenido de *N. reticulata* (WD 75) colectada en Granada, se observa que presenta compuestos que están ausentes tanto en las otras muestras de *N. reticulata* colectadas en otras regiones como en las demás especies de *Nectandra* (α y β -Santaleno, Aromadendreno, Farneseno, γ -Maaleno, Elemol, *Tau*-Cadinol y β -Eudesmol); sin embargo, por núcleo de tipo de compuesto, solo los santalenos y el farneseno, (α y β -Santalano y Farnesano) no están presentes en las

demás muestras.

La predominancia de compuestos terpenicos (mono y sesquiterpenos) en aceites esenciales de *Nectandra* ya ha sido documentada, en especies como *N. antillana* (Pino, Rodríguez, Beldarraín & Blandariz, 2014) en la cual se encontró 7,7% de monoterpenos, 1,8% de monoterpenoides, 38, 2% de sesquiterpenos y 47,1% de sesquiterpenoides; en *N. salicina* (Ciccío, Chaverri & Díaz, 2009) con 7,0-17,5% de monoterpenos, 0-1,6% de monoterpenoides, 0,7-51 y 40,7–51,1% de sesquiterpenos y 22,4 –36,2% de sesquiterpenoides; *N. leucantha* (Grecco, Martins, Girola, de Figueiredo, Matsuo, Soares & Lago, 2015) con 12,62% de monoterpenos, 0,22% de monoterpenoides, 58,78% de sesquiterpenos y 22,63% de sesquiterpenoide. En *N. cuspidata* (da Silva, Andrade, Mourao, Maia, Dosoky & Setzer, 2017) 76,0% de sesquiterpenos y 18,0% de sesquiterpenoides. En *N. angustifolia* (Torres, Ricciardi, Agrelo de Nassif, Ricciardi & Dellacassa, 2005). En *N. cuspidata* se han reportado 2,0% de monoterpenos, 0,5% de monoterpenoides, 19,8% de sesquiterpenos y 3,8% de sesquiterpenoides.

Ademas de los compuestos de tipo terpénico, solo en *N. puberula* y *N. megapotamica* se ha reportado la presencia de compuestos de tipo arilpropano (da Silva, Andrade, Mourao, Maia, Dosoky & Setzer, 2017; Romoff, Ferreira, Padilla, Toyama, Fávero & Lago, 2010).

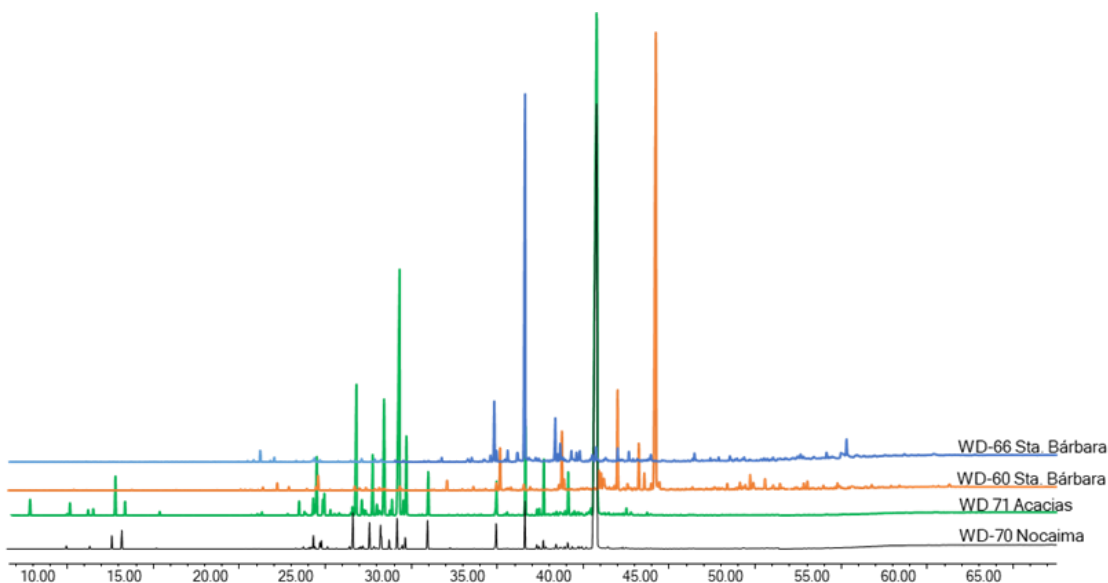
4.3.4 Aceites esenciales de las especies de *Cinnamomum* (Lauraceae)

Los aceites de *Cinnamomum*, muestran como característica general la presencia de sesquiterpenos oxigenados como compuestos predominantes, un exámen más detallado muestra además que dentro de estos compuestos hay uno que es mayoritario. Así; en los aceites de *C. triplinerve* (WD 70 y WD 71) colectados en Nocaima y Acacias respectivamente, muestran como compuesto mayoritario α -Bisabolol (42,4- 50,0 y 67,9-80,5); la muestra WD 60 colectada en Santa Bárbara presenta como compuesto mayoritario Farnesol (43,5-47,5); y en *C. cinnamomifolium* WD 66 el compuesto mayoritario es Nerolidol (30,8-34,8).

En la **Figura 52** se observan los perfiles cromatográficos obtenidos mediante CG-EM de

los aceites esenciales de especies del género *Cinnamomun*.

Figura 52: Perfiles cromatográficos obtenidos mediante CG-EM de los aceites esenciales de especies del género *Cinnamomun*.

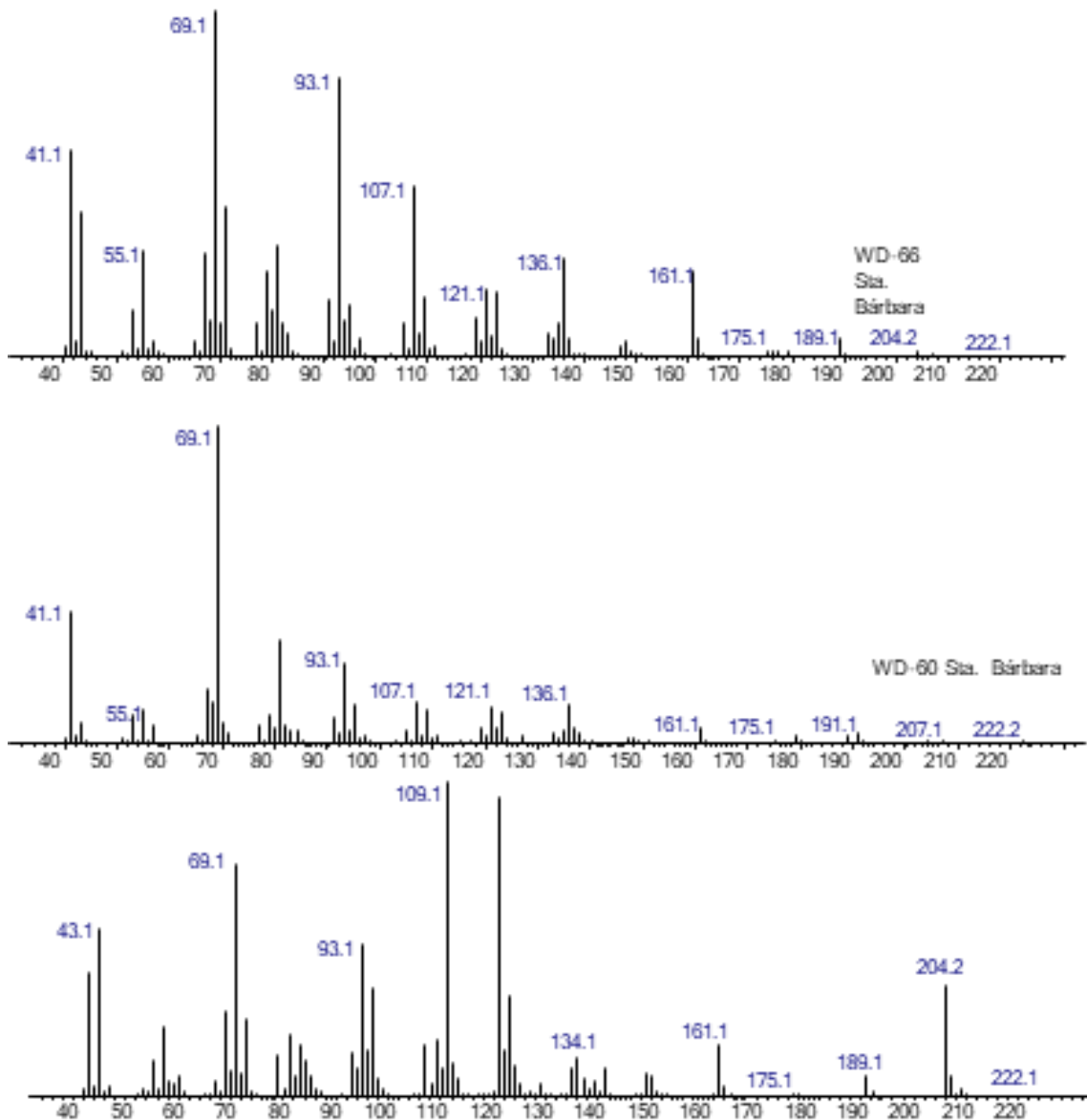


en la **Figura 53** se muestran los espectros de masas obtenidos del pico cromatográfico de mayor intensidad determinado en cada uno de los aceites analizados. Además de los sesquiterpenoides, en todas las muestras se encuentran los hidrocarburos sesquiterpenicos correspondientes, en las tres muestras de *C. triplinerve* se detectaron monoterpenos, y en WD 60 se detectaron además apocarotenoides como principales características de la composición relativa encontrada en estos aceites. En el **Anexo D** se lista la composición química relativa establecida para los aceites esenciales obtenidos de las especies del género *Cinnamomum*.

Es importante resaltar que las muestras de *C. triplinerve* colectadas en Nocaima y Acacias (WD 70 WD 71) además de una composición química relativa similar presentan también caracteres morfológicos parecidos, por otro lado, la muestra WD 60 aunque también fue determinada como *C. triplinerve* presenta algunos caracteres morfológicos distintivos, se presenta como árbol de mayor porte (6-7 m de altura) crecimiento recto, hojas mucho más grandes, con coloraciones verde más oscuro, frutos también de mayor tamaño, en contraste WD 70 WD 71 son árboles de 4-5 m de altura, muy ramificados desde la base y de crecimiento irregular, hojas más angostas y menos coriáceas, frutos

de tamaño relativamente menor al de WD 60 pero en mayor cantidad.

Figura 53: Espectros de masas de los productos de hidrogenación de los compuestos característicos de las especies del género *Cinnamomum*.



En cuanto a la diversidad química, de los 55 compuestos determinados como constituyentes de los aceites esenciales obtenidos de especies del género *Cinnamomum*, 9 son monoterpenos, 27 son sesquiterpenos, 13 son sesquiterpenoides, 3 son derivados de ácidos grasos, 2 son apocarotenoides y un diterpenoide.

Los 9 monoterpenos tienen como núcleo base el Pinano y el 2,6-dimetiloctano, los sesquiterpenos y sesquiterpenoides corresponden a núcleos de Copaano (1 compuesto), Bisabolano (8 compuestos), Cariofilano (1 compuesto), Guaiano (2 compuestos), Aromadendrano (3 compuestos), Humulano (1 compuesto), Farnesano (5 compuestos), Eudesmano (2 compuestos), Germacrano (1 compuesto) y Cadinano (1 compuesto). El diterpeno corresponde a un núcleo de fitano. La **Tabla 13** muestra los núcleos de los terpenos encontrados en la composición de los aceites esenciales de las especies del género *Cinnamomum*.

Tabla 13: Núcleos de los terpenos encontrados en la composición de los aceites esenciales de las especies del género *Cinnamomum*.

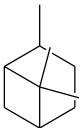
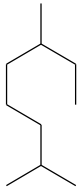
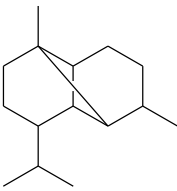
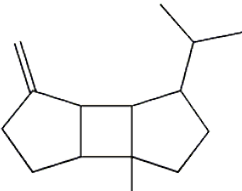
Núcleo	Compuestos	Especies
Pinano 	α -Pineno β -Pineno	<i>C. triplinerve</i> WD 70 <i>C. triplinerve</i> WD 71
2,6-dimetiloctano 	β -Mirceno (E)- β -Ocimeno (Z)- α -Ocimeno	<i>C. triplinerve</i> WD 70 <i>C. triplinerve</i> WD 71
Copaano 	Copaeno	<i>C. cinnamomifolium</i> WD 66
Bourbonano 	β - Bourboneno	<i>C. triplinerve</i> WD 60 <i>C. cinnamomifolium</i> WD 66

Tabla 13: Núcleos de los terpenos encontrados en la composición de los aceites esenciales de las especies del género *Cinnamomum*. (Continuación)

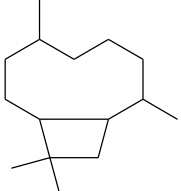
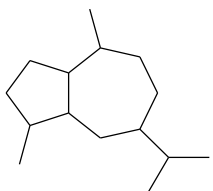
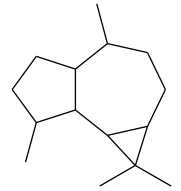
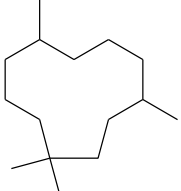
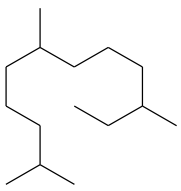
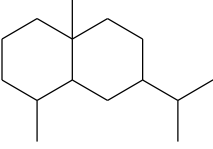
Núcleo	Compuestos	Especies
Cariofilano 	Cariofileno	<i>C. triplinerve</i> WD 70 <i>C. triplinerve</i> WD 71 <i>C. triplinerve</i> WD 60 <i>C. cinnamomifolium</i> WD 66
Guaiano 	3,7-Guaiadieno Guaiol	<i>C. triplinerve</i> WD 70 <i>C. triplinerve</i> WD 71
Aromadendrano 	Isoledeno Espatulenol	<i>C. triplinerve</i> WD 60 <i>C. cinnamomifolium</i> WD 66
Humulano 	Humuleno	
Farnesano 	(E)-Farneseno (E)-Acetato de farnesilo Farnesal Farnesol	<i>C. triplinerve</i> WD 70 <i>C. triplinerve</i> WD 71 <i>C. triplinerve</i> WD 60 <i>C. cinnamomifolium</i> WD 66
Eudesmano 	β -Selineno β -Eudesmol	<i>C. triplinerve</i> WD 70

Tabla 13: Núcleos de los terpenos encontrados en la composición de los aceites esenciales de las especies del género *Cinnamomum*. (Continuación)

Núcleo	Compuestos	Especies
Germacrano 	Germacreno B	<i>C. triplinerve</i> WD 71
Cadinano 	Torreyol	<i>C. triplinerve</i> WD 70

Además de establecer los núcleos base de los compuestos terpénicos mediante el estudio de la composición determinada por CG-EM se realizó la hidrogenación catalítica de los aceites con lo cual se redujo la complejidad de las muestra con lo cual se definieron los núcleos básicos y así establecer la posible ruta biosintética, pues en el caso de este tipo de compuestos la diferencia entre uno y otro puede ser la posición de las insaturaciones que al hidrogenarse conducen a un menor número de estructuras.

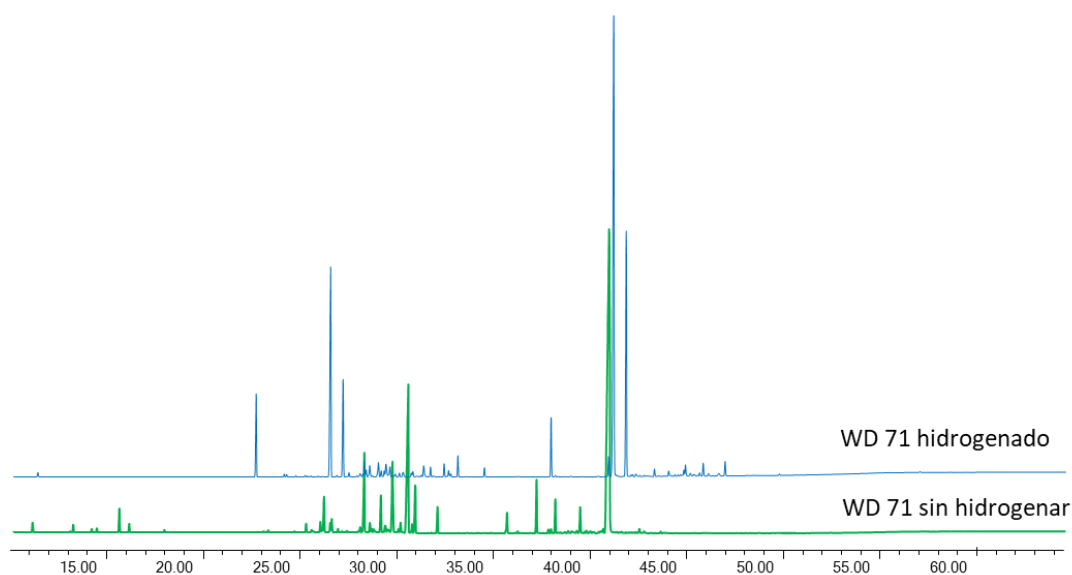
Así por ejemplo en la **Figura 54** se comparan los cromatogramas del aceite esencial de *C. triplinerve* antes y después de la hidrogenación, se observa el cambio en el perfil cromatográfico y se pueden observar como compuestos mayoritarios los productos de hidrogenación el dihidrobisabolol y el bisabolano. Es de resaltar, que se observan picos dobles para cada tipo de producto en una proporción aproximada 70:30; este fenómeno explicado por la formación de los correspondientes isómeros *cis-trans*. Este fenómeno de isomerización durante la hidrogenación se observó también con otros núcleos cíclicos.

A diferencia de los aceites esenciales de especies de *Cinnamomum* provenientes de Asia, en las cuatro muestras analizadas no se detectaron compuestos de tipo aril propano como cinnamaldehído representativo de y *C. verum* sinonimia de *C. zeylanicum*, mas conocido como canela (Unlu, Ergene, Unlu, Zeytinoglu & Vural, 2010), *C. osmophloeum* (Chang, Chen & Chang, 2001) y *C. cassia* (Giordani, Regli, Kaloustian & Portugal, 2006) o monoterpenoides como el alcanfor y 1,8-cineol, compuestos

representativos de *C. camphora* (alcanforero) (Guo, Geng, Zhang, Liang, Wang, Deng & Du, 2016).

Una característica general observada durante todos los procesos de extracción por arrastre con vapor realizada sobre especies del género *Cinnamomun* fue la generación de compuestos volátiles azufrados, los cuales se detectaron por su olor característico y por la generación de sulfuro de plomo al entrar en contacto con un papel de filtro impregnado con acetato de plomo.

Figura 54: Cromatogramas del aceite esencial de *C. triplinerve* (WD 71) antes y después de la hidrogenación



4.3.5 Aceites esenciales de las especies de *Endlicheria* (Lauraceae)

En los aceites de las especies *Endlicheria* predominan los compuestos sesquiterpénicos, en los aceites de las tres especies estudiadas se determinaron en total 52 compuestos, 29 sesquiterpenos, 18 sesquiterpenoides, 3 aldehídos de cadena larga y un hidrocarburo de cadena larga insaturada.

Al comparar entre sí la composición de cada uno de los aceites de las tres especies de *Endlicheria* analizadas se encuentran índices de similitud (Is) mayores de 50 (Is_{WD 34-WD56} = 56,0; Is_{WD 34-WD67} = 54,8; Is_{WD 67-WD56} = 70,7). Como compuestos mayoritarios fueron

determinados beta y δ -Elemeno, Cariofileno, Germacreno, Germacreno D y B, Biciclogermacreno, Nerolidol y Epatulenol.

Un estudio reciente sobre la composición y actividad biológica de *E. arenosa* (da Silva, da Trindade, Maia & Setzer, 2016) reporata una composición similar en cuanto al porcentaje de hidrocarburos sesquiterpémicos (77,6%) comparado con 81,9% en la muestra WD 56, sin embargo, en el estudio citado encuentran como compuesto mayoritario el Biciclogermacreno (42,2%) y en la muestra WD 56 se encuentra como compuesto mayoritario el Germacreno D (34,7%). La mayor diferencia entre los dos estudios radica en que en el estudio citado además de los compuestos sesquiterpenicos, identifican también compuestos monoterpénicos (Limoneno 33,2% y 4-Terpineol 15,6%), en nuestro estudio en ninguna de las tres muestras de aceites de especies de *Endlicheria* se detectaron compuestos de tipo sesquiterpénico por encima del nivel de trazas. La composición química detallada de los aceites de las especies de *Endlicheria* se reportan en el **Anexo E**.

Tanto los tres aceites de *Endlicheria* analizados en este estudio y el reportado por (da Silva, et al, 2016) son muy contrastantes con los resultados obtenidos por (Yamaguchi, Veiga, Pedrosa, Vasconcellos & Lima, 2013) para el aceite obtenido de la especie *E. citrifolia*, pues en este producto, se reporta una composición en la cual el componente mayoritario es Geranato de metilo en concentraciones superiores al 90%, además de este compuesto se reportan como minoritarios otros compuestos biogénicamente relacionados como el Ácido geránico (1,9%) y Linalool (2,8%), el contenido de sesquiterpenos está únicamente representado por Cariofileno con un 1,5% de abundancia relativa.

4.3.6 Aceites esenciales de las especies de *Persea* (Lauraceae)

De las tres especies de *Persea*, solo de dos (*P. caerulea* y *P. perseiphylla*) fue posible obtener metabolitos volátiles, pero en cantidades muy bajas; el aceite de *P. caerulea* presenta en su composición monoterpénicos, sesquiterpenos (mayoritarios), sesquiterpenoides y derivados de ácidos grasos. De *P. perseiphylla* se obtiene un material resinoso de color blanco en baja proporción, este material está constituido en más de un 80% por compuestos derivados de ácidos grasos y el 7% corresponde a

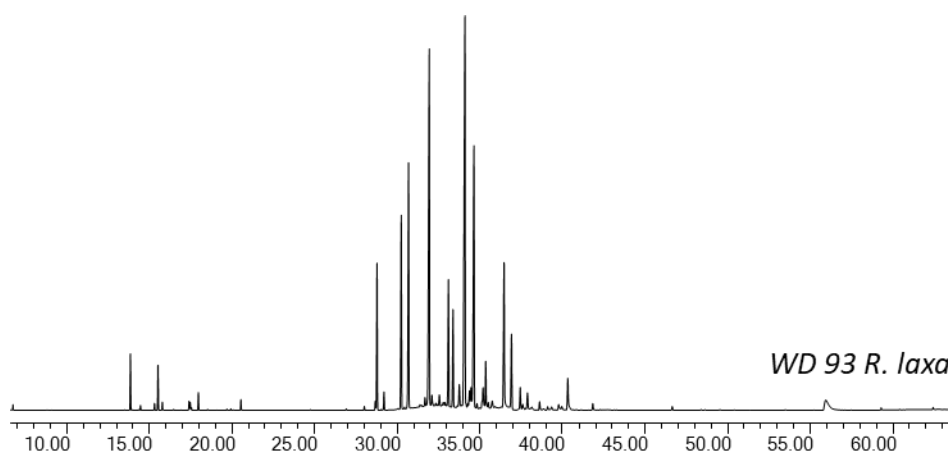
sesquiterpenos y diterpenos, entre ellos se determinó la presencia de Curcumeno. La composición química relativa del aceite esencial obtenido de *P. perseiphylla* se observa en el **Anexo F**.

En general, las especies de *Persea* estudiadas fueron las que presentaron el menor rendimiento en aceites esenciales y además los productos obtenidos presentan compuestos mayoritarios diferentes a los encontrados en los aceites esenciales de los otros géneros examinados.

4.3.7 Aceites esenciales de la especie de *Rhodostemonodaphne laxa* (Lauraceae)

El aceite obtenido de la muestra de *Rhodostemonodaphne laxa* muestra una composición dominada por hidrocarburos sesquiterpénicos que representan más del 80% de la composición relativa, en segundo lugar, se encuentran los sesquiterpenoides representando un 10% de la composición, en tercer lugar, compuestos diterpénicos con apenas el 5% y los monoterpenos representan menos del 3% de la composición relativa. De forma general, el aceite de *R. laxa*, muestra una composición química similar a la determinada para las especies de *Ocotea* que forman la agrupación mas homogénea.

Figura 55: Perfil cromatográfico mediante CG-EM del aceite esencial de *R. laxa* colectada en el municipio de Acacias- Meta



Los compuestos mayoritarios identificados en el aceite esencial de *R. laxa* corresponden a: Germacreno D (18,04%), Cariofileno (14,74%), biciclogermacreno, (10,61%), β -Cubebeno (8,11%), Nerolidol (5,93%), Germacreno B (5,36%) α -Humuleno (4,46) %. La composición química relativa del aceite esencial obtenido de *R. laxa* (WD 93) se observa en el **Anexo F**. La **Figura 55** muestra el perfil cromatográfico del aceite esencial de *R. laxa* analizado. Estudios en otras especies de *Rhodostemonodaphne* (*kunthiana* y *parvifolia*) también han mostrado que los hidrocarburos sesquiterpénicos como Germacreno D Cariofileno, Germacreno B Ylangeno y Biciclogermacreno son los compuestos de mayor abundancia en los aceites esenciales (Palazzo, Agius, Wright, Haber, Moriarity & Setzer, 2009; Alcántara, Yamaguchi, Silva & Veiga, 2010).

4.3.8 Características de los aceites esenciales obtenidos de la especie de *Beilschmiedia costaricensis* (Lauraceae)

Por último, el aceite de *Beilschmiedia costaricensis* muestra la más alta proporción de monoterpenos cercana al 50% y en segundo y tercer lugar se encuentran sesquiterpenos y sesquiterpenoides con un 41% y 8% respectivamente. La composición encontrada en este estudio es muy diferente de la reportada por (Nadkarni, Schaefer, Matelson & Solano, 2002) quienes encontraron que el aceite esencial de las hojas de *B. costaricensis* está dominado por sesquiterpenoides (82,0%) y más específicamente por α - Bisabolol como compuesto mayoritario en una concentración relativa del 72,1%. La composición química relativa del aceite esencial obtenido de *B. costaricensis* (WD 122) se observa en el **Anexo F**.

Una revisión acerca de la composición de los aceites esenciales obtenidos de especies de *beilschmiedia* indica que los compuestos predominantes son de tipo terpénico; En *B. tirairie*, *B. Alloiophylla*, *B. péndula*, *B. miersii* y *B. costaricensis* (WD 122) y *B. sp.* (Chancho blanco) los compuestos de tipo monoterpénico son representativos; dentro de estos monoterpenos los de mayor frecuencia y abundancia relativa son α y β -Pineno, (*E*) y (*Z*) β -Ocimeno, α Terpineno, Sabineno y 4 Terpeneol. En *B. brenesii*, *B. costaricensis*, *B. tilaranensis* y *B. erythrophloia* los compuestos predominantes son de tipo sesquiterpénico, siendo los más frecuentes y abundantes, Germacreno D, Cariofileno, Biciclogermacreno. (Salleh, Ahmad & Yen, 2015).

Las diferencias marcadas en la composición de la especie de *Beilschmidia costaricensis* encontrada en este estudio con la reportada previamente, podría atribuirse a que se trata de quimiotipos diferentes, o a variaciones causadas por el ambiente o incluso a que se trata de especies diferentes.

4.3.9 Características de los aceites de *Ocotea cymbarum* (Cascarillo y Sasafrás)

A diferencia de los demás aceites extraídos y analizados, éstos muestran composiciones muy diferentes. En la **Tabla 14**, se muestran los resultados de las mediciones de las constantes fisicoquímicas de los aceites estudiados; allí se observa que estos productos poseen diferencias muy marcadas especialmente en los valores de peso específico y rotación específica. Al analizar los datos de composición química, se encuentra que tanto el aceite de cascarillo como el de sasafrás son de tipo monoterpénico (93,5% para el aceite de cascarillo y 96,7% para el aceite de sasafrás).

Tabla 14: Valores de las constantes fisicoquímicas medidas para los aceites de cascarillo y sasafrás.

Determinación	Aceite de cascarillo	Aceite de sasafrás
Peso específico (20 °C)	0,793	0,866
Índice de refracción (20 °C)	1,4734	1,4755
Rotación específica (20 °C)	-7,6	+57,1

En el aceite de cascarillo, la fracción monoterpénica se encuentra distribuida en 71,1% de monoterpenos y 22,4 de monoterpenoides y en el aceite de sasafrás se encuentra un 35,1% de monoterpenos y 61,6% de monoterpenoides. Además, en el aceite de cascarillo se encontró un 4,5% de sesquiterpenos, mientras que en el aceite de sasafrás solo se encontró un sesquiterpenoide en una proporción relativa menor del 1%. En el aceite de sasafrás se detectaron compuestos de tipo arilpropano en una proporción del 1,2% y menos del 1% en el aceite de sasafrás. En la **Tabla 15** se muestra la composición química relativa detallada de los dos aceites de cascarillo y sasafrás estudiados, determinada mediante CG-EM.

Tabla 15. Composición química relativa de los aceites de cascarillo y sasafrás, determinados mediante cromatografía de gases de CG-EM y comparación de índices de retención lineal.

COMPUESTO	IRL calculado HP-5, (IRL literatura) (Adams, R., 1997)	IRL calculado DB-Wax, (IRL literatura) (Jennings, W., 2012)	Cascarillo (% relativo)	Sasafrás (% relativo)
α -Pinoeno	938, (939)	--	47,2	18,5
1-Fencheno	952, (952)	--	--	0,4
Camfeno	954, (953)	--	1,2	1,6
β -Pinoeno	985, (890)	1128, (1124)	4,2	2,4
δ -3-Careno	--	1165	0,4	--
β -Mirceno	989, (991)	1183, (1176)	7,2	0,6
α -Felandreno	1011, (1005)	1179, (1177)	1,1	--
Isocineoleno	1022	--	--	0,2
α -Terpineno	1025, (1018)	--	--	0,3
<i>p</i> -Cimeno	1033, (1026)	1277, (1272)	0,5	1,5
Limoneno	1036, (1031)	1209, (1206)	1,2	5,1
β -Felandreno	1038, (1031)	1217, (1216)	8,1	--
1,8-Cineol	1042, (1033)	1219, (1228)	--	1,5
γ -Terpineno	1070, (1062)	1255, (1251)	--	0,3
α -Terpinoleno	1101, (1088)	1290, (1287)	--	4,2
Fenchona	1103, (1094)	--	--	0,2
M.O.N.I.	1116	1554	1,0	--
Longiciclono	--	1490	0,6	--
Sativeno	--	1519	0,4	--
Acetato de bornilo	--	1581, (1580)	--	2,1
Fenhol	1129, (1117)	1586, (1574)	--	6,3
β -Terpineol	1163, (1159)	1601, (1616)	--	1,3
Alcanfor	1154, (1143)	1508, (1498)	21,4	0,5
Exo-metil camfenilol	1171	-	--	0,2
Isoborneol	1167, (1156)	--	--	0,7
Borneol	1175, (1165)	1666, (1664)	--	6,2

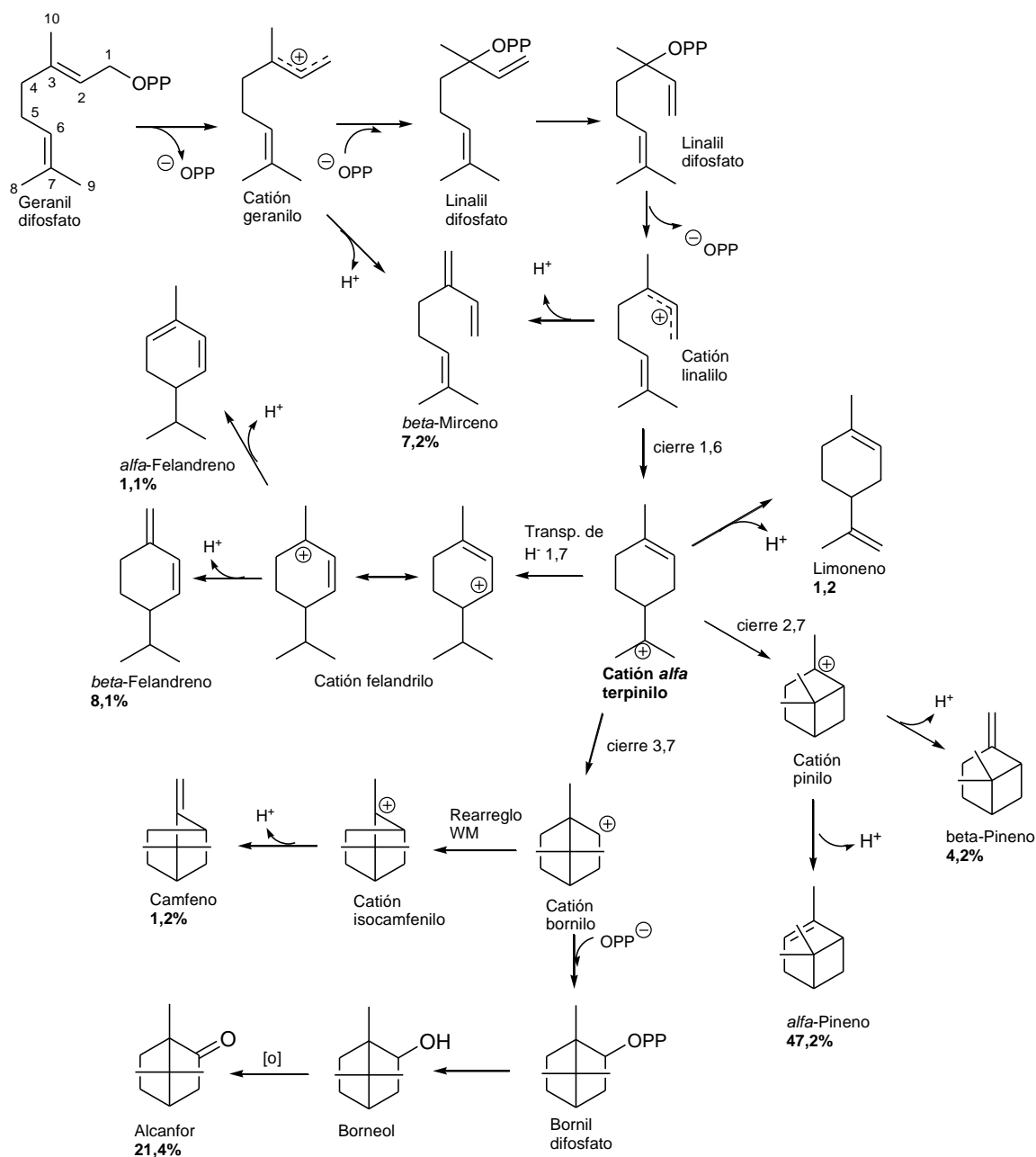
4-Terpineol	1184, (1177)	1633, (1628)	--	1,1
Estragol	1202, (1203)	1663, (1652)	0,8	--
Acetato de Terpinilo	--	1691, (1687)	--	2,6
α -Terpineol	1202, (1189)	1700, (1711)	--	34,9
Acetato de fenchilo	1229, (1226)	1469, (1473)	--	0,7
Acetato de isobornilo	1307, (1304)	--	--	1,3
γ -Terpineol	1315	--	--	0,1
M.O.N.I.	1330	--	--	0,2
M.O.N.I.	1358	--	--	1,6
α -Longipineno	1358, (1351)	1463	0,4	--
Longifoleno	1426, (1418)	1559, (1574)	3,1	--
Isobutirato de bornilo	1471	--	--	0,1
(<i>E</i>)-Nerolidol	1561, (1564)	2039, (2054)	--	0,3
1,2,3,4-Tetrametoxi-5 (2-propenil) benceno	1585, (1591)	2100	--	0,4
Timol	--	2110, (2100)	--	0,6
Apiol	1772, (1680)	2390	--	0,2
Total monoterpenos			71,1	35,1
Total monoterpenoides			22,4	61,6
Total sesquiterpenos y sesquiterpenoides			4,5	0,3
Total arilpropanoides			0,8	1,2

M.O.N.I.: Monoterpeno no identificado

Fuente: Delgado, Cuca & Caroprese, 2016

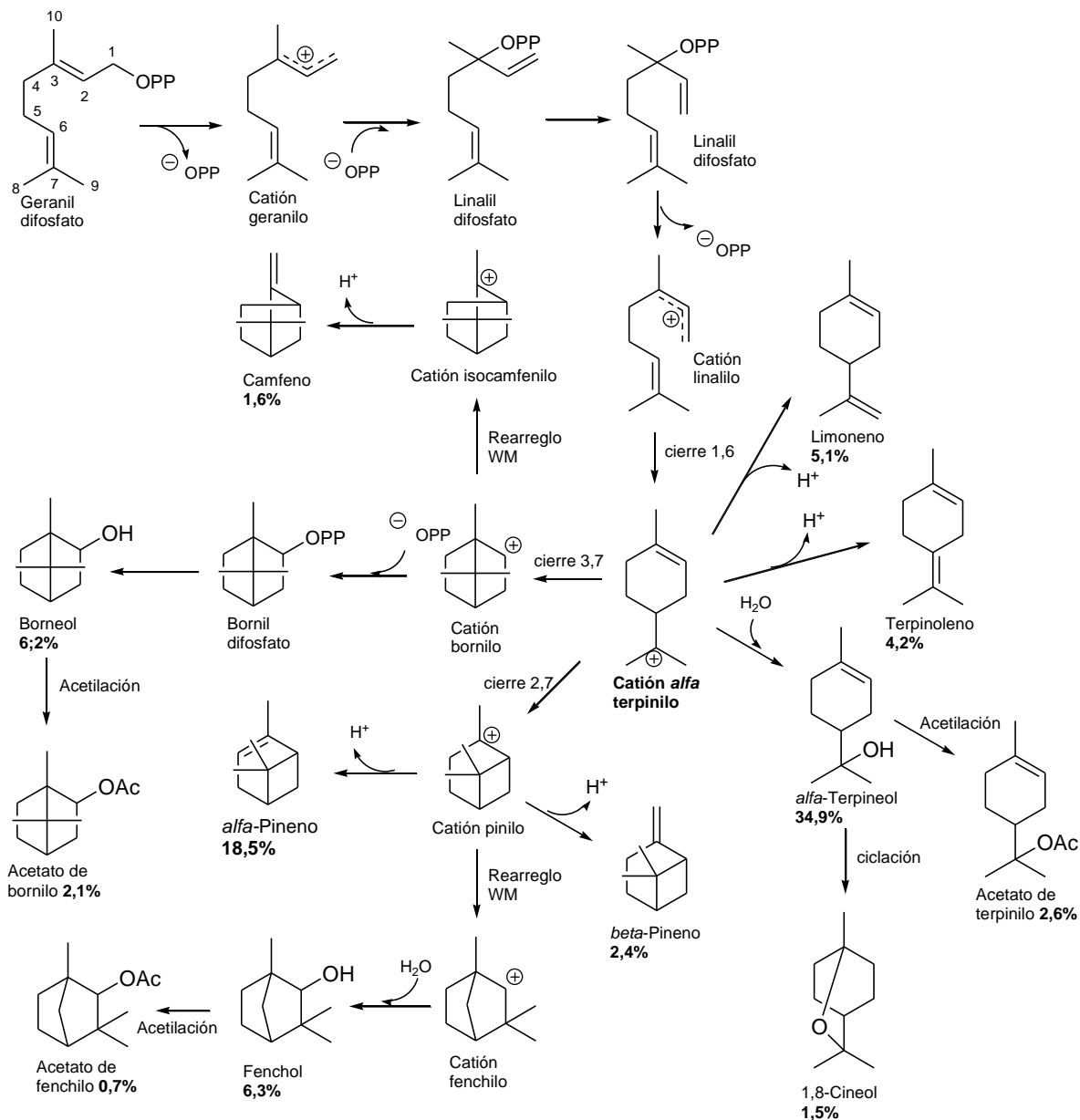
En las **Figuras 56** y **57**, se ilustran las rutas biosintéticas propuestas en otras angiospermas, que conducen a la formación de los productos mayoritarios de tipo monoterpénico detectados en cada aceite (Davis & Croteau, 2000; Degenhardt, Köllner & Gershenzon, 2009). En la **Figura 58**, se ilustran las rutas biosintéticas que conducen a la formación de los productos de tipo sesquiterpénico detectados en los aceites analizados en la que se observa que los tres compuestos detectados (longifoleno, α -longipineno y longiciclono) tienen como precursor la misma especie química, el catión himachelenilo. (Davis & Croteau, 2000)

Figura 56: Rutas biosintéticas que explican la formación de los compuestos monoterpénicos mayoritarios encontrados en el aceite cascarillo (Davis, E., & Croteau, R., 2000; Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J., 2009).



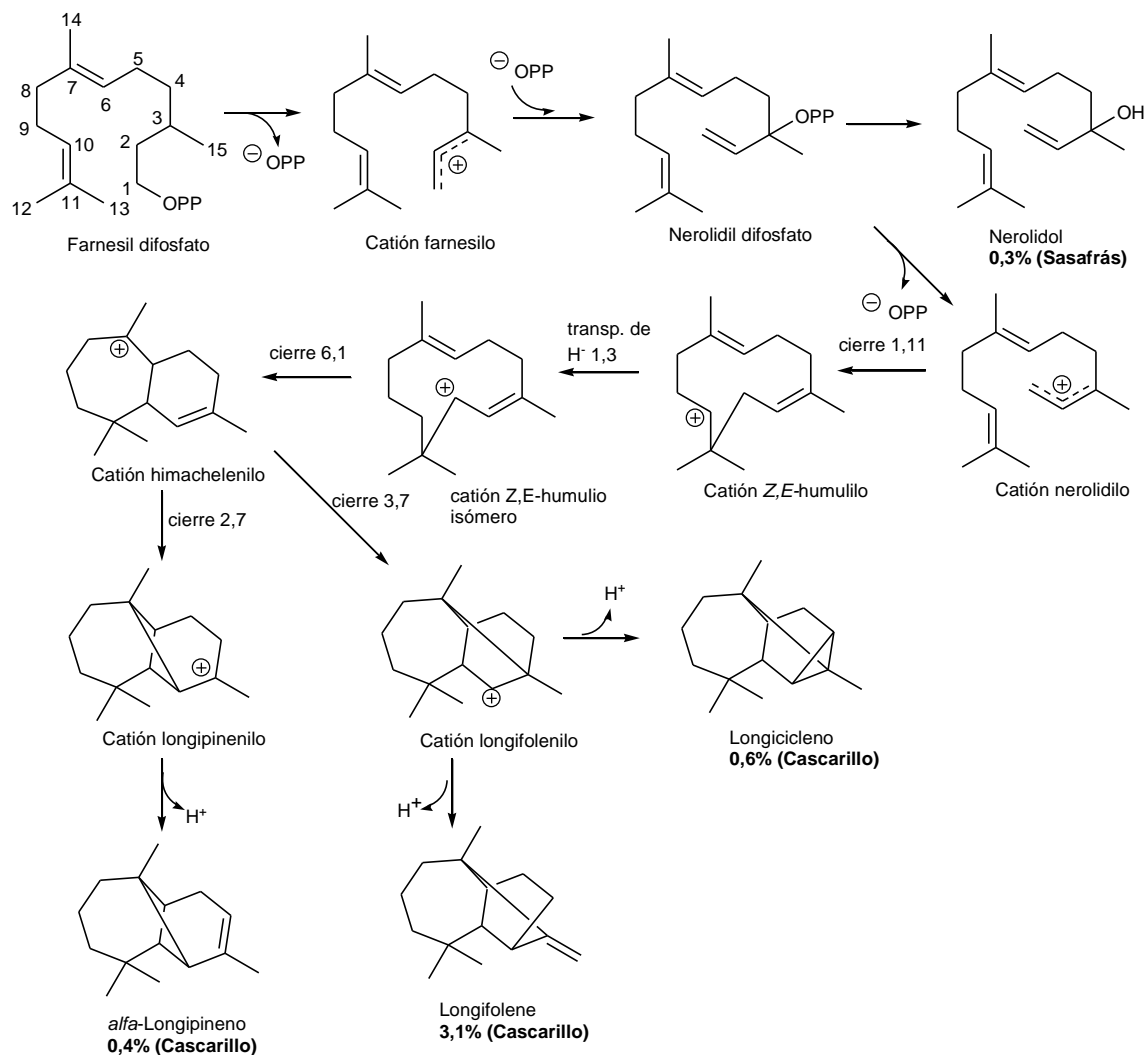
Fuente: Delgado, Cuca & Caroprese, 2016

Figura 57: Rutas biosintéticas que explican la formación de los compuestos monoterpénicos mayoritarios encontrados en el aceite sasafrás. (Davis, E., & Croteau, R., 2000; Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J., 2009)



Fuente: Delgado, Cuca & Caroprese, 2016

Figura 58: Rutas biosintéticas que explican la formación de los compuestos sesquiterpénicos encontrados en los aceites de cascarillo y sasafrás. (Davis, E., & Croteau, R., 2000; Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J., 2009)



Fuente: Delgado, Cuca & Caroprese, 2016

De acuerdo con Bandoni (2000) tanto el aceite de cascarillo como el aceite de sasafrás, (que se conoce en algunos lugares de Suramérica) son obtenidos de la especie *O. barcellensis*, sinonimia de *O. cymbarum*, y no de las especies *Sassafras albidum* u *O. pretiosa* como podría pensarse. Sin embargo, este autor resalta que los resultados de algunas investigaciones sobre la composición química de las esencias obtenidas de esta especie difieren significativamente. Así, en uno de los estudios encontraron como componentes principales de esta esencia *p*-Cimeno (92,31%) y limoneno (4,47%); y

reportan una rotación específica de +29,6, un índice de refracción de 1,4768 y una densidad de 0,8532 g/mL. Otro estudio reveló que el aceite obtenido de la madera del fuste de la misma especie tiene como compuestos mayoritarios α -Felandreno, *p*-Cimeno y α -Pinenos y en una tercera investigación se encontró β -Pinenos en una proporción del 97%. A su vez, estos tres estudios difieren de los resultados encontrados para los dos aceites analizados en el presente trabajo.

Al analizar las rutas biosintéticas que conducen a la formación de los compuestos mayoritarios detectados en los dos aceites, se encuentran diferencias significativas: Solo en el aceite de cascarillo se detectaron hidrocarburos sesquiterpénicos mayores del 1%, esto implica la presencia de enzimas de tipo preniltransferasa en el citosol, que a partir de nerolidil difosfato (NPP), (el cual es originado por la ruta alterna a la del ácido acético o ruta del gliceraldehído 3-fosfato a partir del cual se originan los compuestos de tipo sesquiterpénico) (Davis & Croteau, 2000) catalizan la formación del catión nerolidilo, seguida de una ciclación mediante cierre entre los carbonos 1 y 11 para generar el catión (*Z,E*)-humulilo. En la **Figura 58** se observa con más detalle la ruta biosintética que conduce a la formación de los sesquiterpenos detectados. Los tres compuestos sesquiterpénicos detectados poseen estructuras tricíclicas y se originan a partir del catión himachelenilo el cual a su vez es originado por una ciclación de los carbonos 6 y 1 y transposición de hidruro de tipo 1,3 del catión (*Z,E*)-humulilo. Es notoria la baja diversificación química encontrada, en esta ruta. En el aceite de sazafrán solo se detectó el sesquiterpenoide Nerolidol en una proporción relativa baja (0,3%).

En el caso de los compuestos monoterpénicos, también existen diferencias, aunque las dos especies presentan preniltransferasas que conducen a la formación del intermediario geranil pirofosfato, (GPP) y este a su vez da origen al intermediario catión α -terpinilo, y posteriormente mediante reacciones de ciclación a compuestos monocíclicos y bicíclicos.

En el caso de los componentes del aceite de cascarillo, los compuestos mayoritarios se originan inicialmente por reacciones de desprotonación de los cationes geranilo o linalilo, transposición de hidruro (1,7) cierres entre los carbonos 2 y 7 y 3 y 7 del catión α -terpinilo, y en una segunda y tercera etapa se evidencian reacciones de fosforilación desprotonación, rearrreglo WM y oxidación (**Figura 56**). Por otro lado, los compuestos

encontrados en el aceite de saсаfrás tienen también como principal intermediario el catión α -terpinilo y directamente a partir de éste, se originan productos finales mediante reacciones de desprotonación, (limoneno y terpinoleno) hidratación (terpineol) y a partir de estos la formación de productos secundarios como *p*-Cimeno, (a partir de limoneno) acetato de terpinilo y 1,8 cineol (a partir del terpineol).

Es común en los dos aceites la presencia de compuestos originados mediante cierre de los carbonos 2 y 7 del catión α -terpinilo que da origen a los α y β -Pinenos. El Fenchol y su derivado acetato de fenchilo también son originados a partir del catión pinilo seguido de un rearrreglo de tipo WM y una hidratación, solo se detectaron en el aceite de saсаfrás.

Otra reacción en común es la ciclación por un cierre entre los carbonos 3 y 7 que originan el catión bornilo y de este mediante un rearrreglo WM seguido de deshidratación se genera el camfeno presente en los dos aceites. Mediante reacciones de fosforilación, hidrólisis y acetilación borneol y acetato de bornilo en el aceite de saсаfrás, y mediante reacciones de fosforilación, hidrólisis y oxidación Borneol y Alcanfor en el aceite de cascarillo.

Al hacer un análisis de las proporciones relativas y los compuestos de tipo monoterpénico encontrados en los dos aceites y teniendo en cuenta los dos primeros postulados de evolución micromolecular, (a mayor grado de diversificación y mayor grado de oxidación mayor es el grado de evolución química (Gottlieb, O., 1982) se encuentra que el aceite de saсаfrás presenta una mayor diversificación a partir del catión α -terpenilo dando origen a compuestos de tipo hidrocarburo (monocíclico y bicíclico) y alcohol éster y éter cíclico. Y en el caso del aceite de cascarillo, la diversidad química es menor y está representada por hidrocarburos, (aciclicos, monociclicos y biciclicos) y cetona; aunque según la ruta biosintética la cetona tiene como precursor el alcohol, este no fue detectado. Se evidencia que no hay diferencias significativas en las ramificaciones de las rutas biosintéticas observadas, pero sí en la diversidad química observada y el grado de oxidación. Esto de acuerdo con los postulados de evolución micromolecular indicaría un mayor grado de evolución química de la especie de la cual se obtuvo el aceite de saсаfrás.

Las diferencias observadas en la composición química de los aceites son resultado de

diferentes tipos de reacciones catalíticas. Comparando las dos rutas metabólicas que conducen a la formación de los compuestos monoterpénicos, para el cascarillo, no se evidencian reacciones de acetilación, ciclación para formación de éter, e hidratación catiónica, que son las reacciones que dan origen a los principales compuestos oxigenados observados en el aceite de sazafrás. Por otro lado, para el sazafrás no se evidencian reacciones de oxidación que conduzcan a la formación de cetonas ni reacciones de transposición de hidruro.

La no coincidencia entre los diferentes estudios de composición referenciados y los realizados en este trabajo, las diferencias encontradas en las rutas biosintéticas que conducen a la formación de los componentes mayoritarios observados en los aceites, las diferencias en los tipos de reacciones involucradas en la formación de los componentes y el aparente mayor grado de evolución química observada en la composición de la fracción monoterpénica del aceite de sazafrás en comparación con el del aceite de cascarillo, son indicativos de que se trata de taxones con diferencias en cuanto a su química a pesar de que aparentemente se trata de la misma especie. Esto a su vez evidencia la alta complejidad en la sistemática de estas especies y en general de la familia Lauraceae, justificando el empleo de otras herramientas que puedan dar una mayor certeza en la identificación de estas especies vegetales.

Es posible que la diversidad química encontrada al analizar la composición de los aceites esenciales se deba a que no se trata de especies distintas, lo que indica un aumento de la diversidad biológica. Hecho que no es nuevo en la familia, pues como lo menciona el profesor Madriñan, parte de las nuevas especies de Lauraceae que se han descrito últimamente provienen de Colombia, y se ha observado que al realizar las revisiones botánicas de diferentes géneros de la familia el número de especies ha aumentado hasta en un 50% (Madriñan, 2015).

Dada la relativamente alta proporción de compuestos con comprobada actividad medicinal (alcanfor) y aplicaciones en la industria de la perfumería (α -terpineol y sus derivados) encontrados en los aceites analizados, es importante profundizar en los estudios de las especies vegetales de las cuales se extraen estos aceites, teniendo como primera medida la identificación correcta, su localización, estado de vulnerabilidad, y métodos de propagación y conservación. (Delgado, Cuca & Caroprese, 2016)

4.4 Caracterización de aceites esenciales por técnicas espectroscópicas

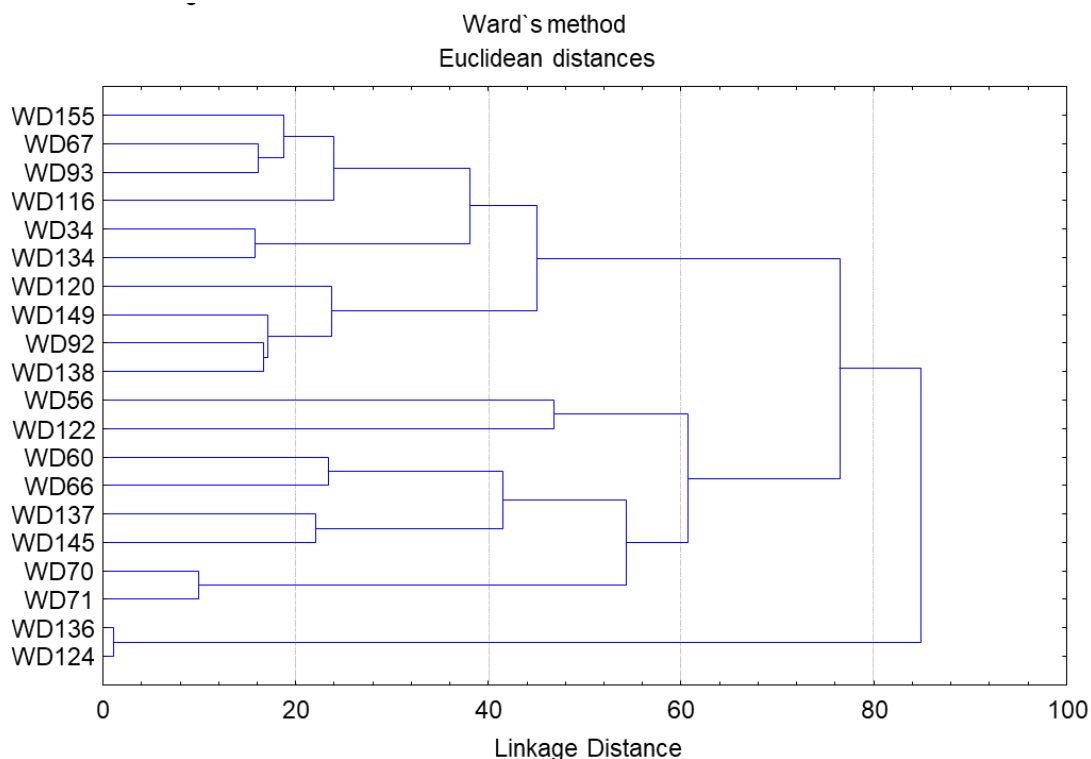
4.4.1 Análisis de los aceites esenciales mediante RMN ¹H

El análisis de la información generada en la caracterización de los aceites esenciales mediante RMN ¹H mostró que las muestras se distribuyen en dos conglomerados (**Figura 59**). El primero está compuesto por las muestras codificadas como WD 124 y WD 136 que corresponden a los aceites de las especies *A. robusta* y *A. coto*; la formación de esta agrupación seguramente está relacionada con las señales en común pertenecientes al compuesto mayoritario Benzoato de bencilo. Y el segundo conglomerado está formado por cuatro grupos, uno correspondiente a las muestras de *C. triplinerve* (WD 70 y WD 71), otro a las muestras de *A. puchury-minor* (WD 137 y WD 145) y un tercero por una muestra de *C. triplinerve* (WD 60) y el cuarto por *C. cinnamomifolium* (WD 66).

Al igual que el primer conglomerado, las agrupaciones deben estar influenciadas por las señales de los compuestos mayoritarios, a saber, α -Bisabolol en las muestras WD 70 y WD 71, Germacreno D y Bicyclgermacreno en las muestras WD 137 y WD 145 y finalmente Nerolidol y Farnesol para las muestras WD 66 y WD 60. Aunque el cuarto grupo de este conglomerado está conformado por las muestras correspondientes a las muestras WD 56 y WD 122 la similitud entre ellas es mayor comparada con las agrupaciones anteriores y no es fácil identificar que tipo de compuestos son los responsables del agrupamiento.

El último conglomerado en ser considerado en este gráfico e incluye los aceites de *Endlicherias*, *Ocoteas*, *Rhodostemonodaphne* y *Nectandra*, pero no se observa ninguna resolución entre ellas. Sin embargo, esto podría reflejar que las relaciones filogenéticas de estos géneros aún no han sido completamente establecidas (van der Werff, 1991; Rohwer, 2000; Chanderbali, 2001).

Figura 59: Análisis de conglomerados de la información obtenida mediante caracterización de los aceites esenciales mediante RMN ^1H de especies de Lauraceae.



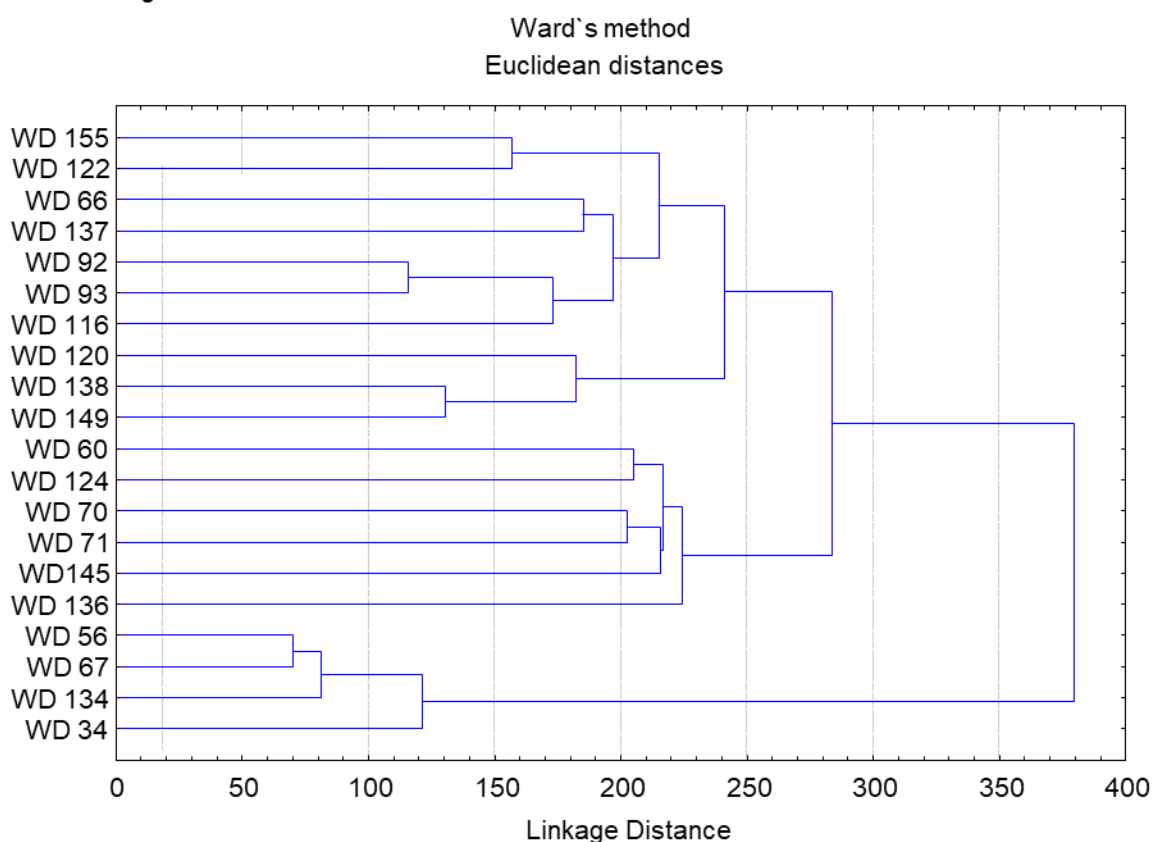
4.4.2 Análisis de los aceites esenciales mediante RMN ^{13}C

En el dendrograma del análisis de conglomerados teniendo en cuenta la caracterización de los aceites mediante RMN ^{13}C (**Figura 60**), se observa la separación de un primer conglomerado que reúne las tres muestras correspondientes a los aceites de especies del género *Endlicheria* (WD 34, WD 56 y WD 67) junto con la muestra WD 134 (*Ocotea discolor*). El segundo conglomerado formado, de mayor variación, es el primero que recoge las muestras de aceites de *A. coto* (WD 136), *A. robusta* (WD 124), *A. puchury minor* (WD 145) y *C. triplinerve* (WD 60, WD 70 y WD 71).

En el tercer conglomerado se ubican tres muestras *N. reticulata* (WD 149), *N. acutifolia* (WD 138) y *O. heterochroma* (WD 120). El conglomerado restante agrupa muestras de diferentes géneros, *Ocotea*, *Endlicheria*, *Cinnamomum*, *Aniba* y *Rhodostemonodaphne*.

A pesar de que el análisis de conglomerados con la caracterización mediante RMN ^{13}C es generado con mayor cantidad de información la resolución observada es menor que la generada con la información de RMN ^1H .

Figura 60: Análisis de conglomerados de la información obtenida mediante caracterización de los aceites esenciales mediante RMN ^{13}C de especies de Lauraceae.

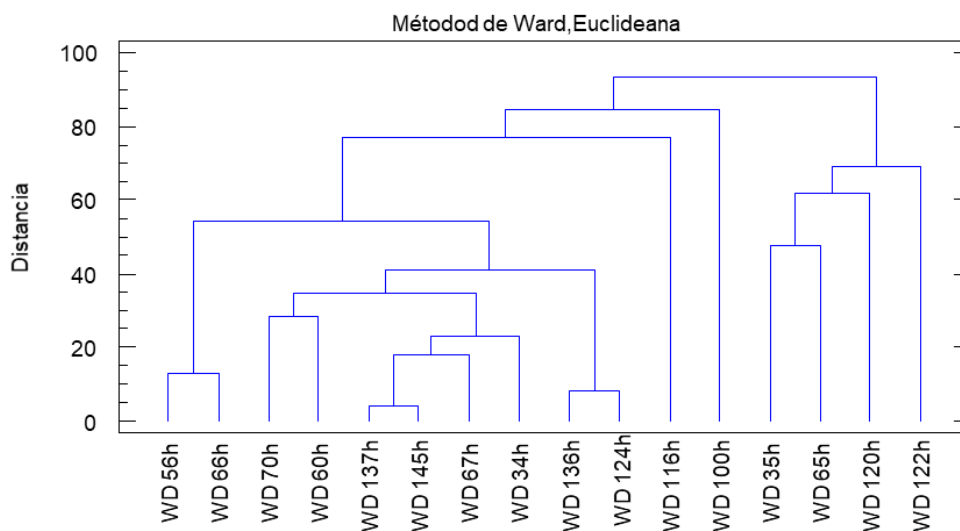


4.5 Análisis de extractos etanólicos mediante cromatografía en placa delgada bidimensional (CCD-2D)

Al realizar el análisis de conglomerados con la matriz de datos obtenida a partir de las placas cromatográficas obtenidas del desarrollo en cromatografía de placa delgada bidimensional de los extractos etanólicos de hojas de las diferentes especies de la familia Lauraceae. En la **Figura 61** se observa la formación de una primera agrupación en la que se incluyen los extractos de *B. costaricensis* (WD 122), *O. heterochroma* (WD 120), *P. caerulea* (WD 65) y *A. puchury-minor* (WD 35).

Posteriormente, formado agrupaciones únicas se separan las muestras de *P. perseiphylla* (WD 100) y *O. longifolia* (WD 116); teniendo en cuenta las distancias calculadas, estos tres primeros conglomerados presentan bajo grado de similitud. Las muestras de conglomerado de la izquierda presentan una mayor similitud y dentro de este se destaca las muestras de *C. triplinerve* (WD 60 y WD 70) quedan en un solo grupo, lo mismo sucede con las muestras de *A. robusta* y *A. coto* (WD 124 y WD 136), *A. puchury minor* (WD 145 y WD 137).

Figura 61: Análisis de conglomerados de la información obtenida mediante caracterización por cromatografía en placa delgada bidimensional de los extractos etanólicos de especies de Lauraceae.

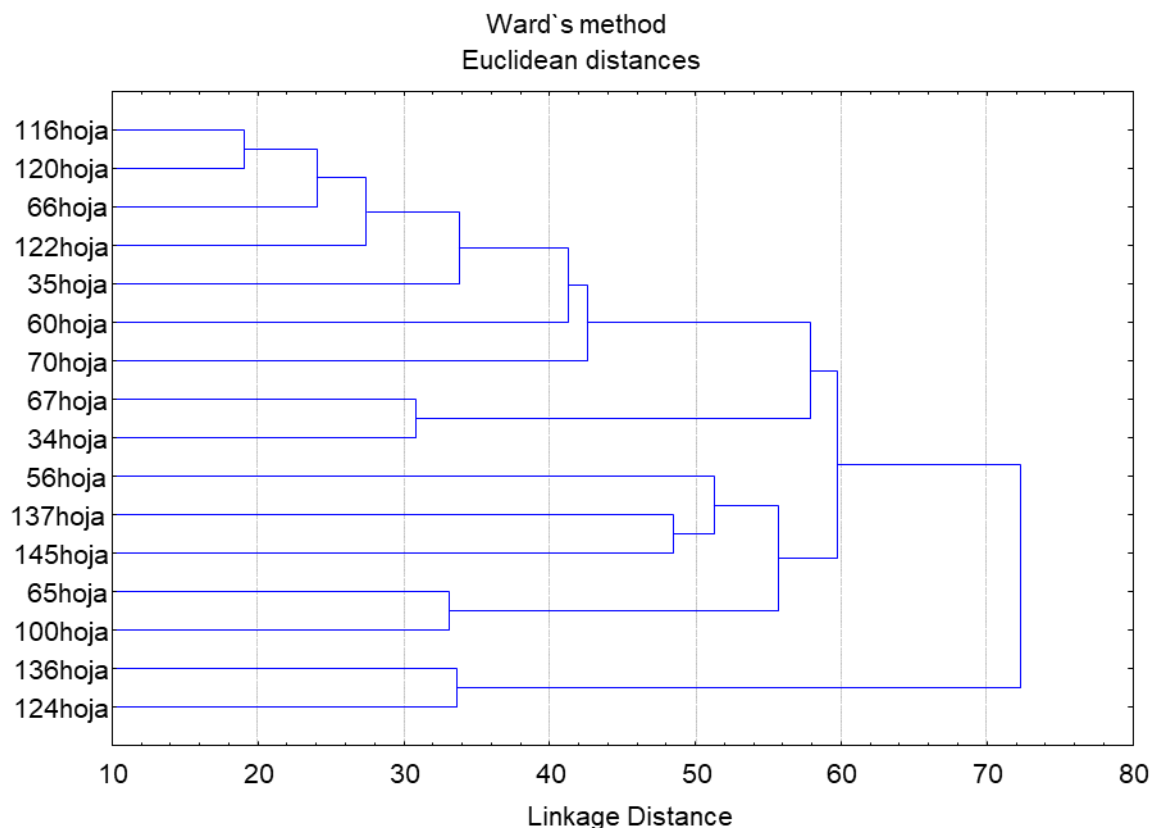


De forma general, se puede ver que en este conglomerado quedan incluidos, aunque no totalmente resueltos los tres extractos de las especies de *Endlicheria* (WD 56, WD 67 y WD 34), también se incluyen en este conglomerado las tres muestras de *Cinnamomum* y las cuatro muestras de *Aniba*. En un trabajo paralelo, se pudo establecer que mediante la técnica CCD-2D podían diferenciarse los extractos etanólicos de especies de Lauraceae obtenidos de diferentes partes de la planta (hojas y corteza); también en este trabajo se evidenció que el método de la cuadrícula para el registro de la información de los cromatogramas es más adecuado (Delgado & Cuca, 2016).

Al realizar la caracterización de los extractos etanólicos de hojas mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (CL-EM) y realizar un análisis de conglomerados con esta información (**Figura 62**) se observa en primer lugar la separación de un conglomerado formado por las especies *A. robusta* y *A. coto* (WD 124 y WD 136 respectivamente). En un segundo conglomerado, se encuentran cinco muestras donde también se aprecia una agrupación por género así, *P. perseiphylla* y *P. caerulea* forman un grupo y otro grupo formado por dos de las muestras de *A. puchury minor* (WD 145 y WD 137), la quinta muestra de esta agrupación corresponde al *E. arenosa* (WD 56). El tercer conglomerado está formado por las muestras de *E. oreocola* y *E. paniculata* (WD 34 y WD 67 respectivamente). La última agrupación que puede considerarse está formada por las muestras pertenecientes a los géneros *Cinnamomum*, *Beilschmiedia*, *Aniba*, y *Ocotea* (WD 70, WD 60, WD 66, WD 35, WD 66, WD 120 y WD 116); dentro de este conglomerado solo las muestras del género *Ocotea* forman un grupo (WD 116 y WD 120).

Las diferencias observadas entre las dos metodologías de análisis pueden estar relacionada con la cantidad y calidad de la información analizada en cada caso, así en la técnica mediante cromatografía en placa delgada solo se tiene en cuenta la presencia o ausencia de manchas que indican a su vez la presencia o ausencia de uno o varios compuestos, en el caso concreto de las muestras analizadas la cantidad de manchas oscilo entre 11 y 30 aproximadamente. En el caso de la metodología empleando CL-EM la cantidad de información es mucho mayor pues para cada muestra se tomaron 395 puntos de información, adicionalmente la información fue de mayor calidad pues no solo indica presencia o ausencia de compuestos, sino también información de tipo cuantitativo. Estos factores deben ser los responsables de la mejor resolución observada con esta metodología.

Figura 62: Análisis de conglomerados de la información obtenida mediante caracterización por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-EM) de los extractos etanólicos de especies de Lauraceae.



4.5 Análisis de las rutas biosintéticas de compuestos terpénicos

4.5.1 Rutas biosintéticas de compuestos monoterpénicos

En la **Tabla 16** se observa que las rutas biosintéticas más generalizadas en las diferentes especies de la familia son las que involucran la desprotonación de los cationes geranilo o linalilo (**Figura 56**) para originar los monoterpenos acíclicos Mirceno y β -Ocimeno.

También son generalizadas las reacciones de ciclación de tipo 1,6 del catión linalilo que conducen a la formación del catión α -terpenilo, seguido de una ciclación 2,7 para generar el catión pinilo y mediante la eliminación de un proton generar α o β Pineno, estos

compuestos junto con β -Ocimeno constituyen los compuestos monoterpénicos mayoritarios detectados en los aceites en los cuales hay compuestos monoterpénicos.

Otras rutas de menor ocurrencia son las que conducen a la formación de Limoneno, sabineno y *orto* y *para*-Cimeno, compuestos detectados en algunos aceites de especies de *Ocotea*, *Persea*, *Nectandra* y *Aniba*; todos estos géneros incluidos dentro del Complejo *Ocotea* (Chanderbali, 2001).

Las rutas biosintéticas conducentes a los productos Ciclofencheno, Terpinoleno, isoterpinoleno, α -Felandreno, Linnallol y β -Myrceno solo fueron representativos en las diferentes muestras de aceites obtenidos de *O. longifolia*.

4.5.2 Rutas biosintéticas de compuestos sesquiterpénicos

Los compuestos sesquiterpénicos de mayor ocurrencia en las muestras de aceites analizadas corresponde Cariofileno, Germacreno D, Humuleno, Biciclogermacreno, Germacreno B, Cadinenos, α y β -Copaeno y β y δ Elemeno. En la **Tabla 17** se presenta de forma resumida los tipos de reacciones que conducen a la formación de los compuestos sesquiterpénicos de mayor abundancia relativa (mayor a 3%) encontrados como constituyentes de los aceites esenciales analizados. Así, la ruta de biosíntesis más común implica un cierre o ciclación 2,10 del catión farnesilo para después de una transposición de hidrógeno de tipo 1,3 originar el catión germacrenilo, que por desprotonación produce el Germacreno D y C, (**Figura 63**) siendo estos compuestos intermediarios en la formación de α -Copaeno, α y δ -Amorfenos, α y δ -Cadineno, δ -Selineno y 6,9-Guaiadieno.

También, del producto generado de la ciclación 10,1 del catión farnesilo, pero sin la transposición de hidrógeno, se generan los productos Germacreno A y Germacreno B, los cuales son intermediarios de los sesquiterpenos bicíclicos α -Guaieno, α -Selineno y 3,7(11)-Selinadieno.

La coocurrencia en algunos aceites de Germacreno B con Biciclogermacreno podría indicar que la ruta de formación del Germacreno B no es a partir del catión farnesilo sino una ruta alterna a partir del catión nerolidilo (**Figura 63**) o la ocurrencia de las dos rutas.

Los otros productos de mayor frecuencia en los aceites analizados fueron el Humuleno y el Cariofelieno; la formación de estos compuestos implica la ciclación inicialmente la ciclación 11,1 del catión farnesilo y posterior desprotonación para la generación del Humuleno o previo a la desprotonación del producto de ciclación 11,1 una ciclación 2,10 seguida de desprotonación y así generar el cariofileno.

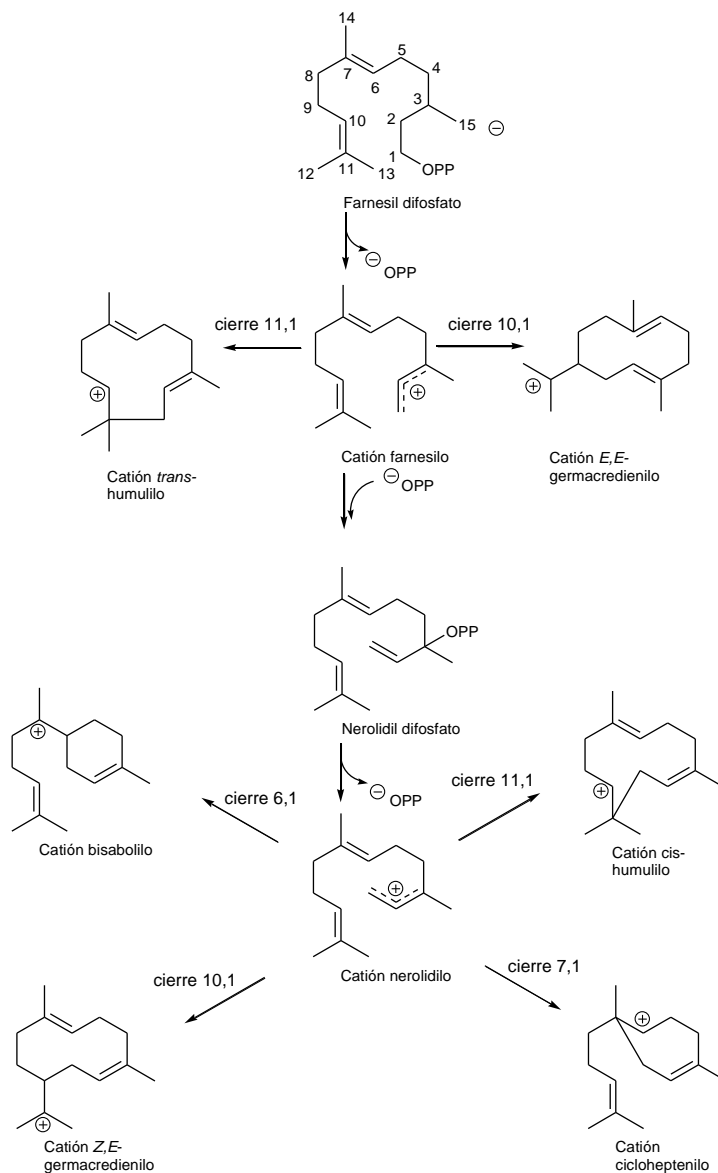
Una ruta metabólica detectada solo en *C. triplinerve* (WD 70 y WD 71) y *O. caudata* (WD 118), es la que conduce a la formación de farneseno, esta ruta solo implica la desprotonación del catión farnesilo. Otra ruta importante característica de *C. triplinerve* (WD 70 y WD 71) implica la formación del catión nerolidilo a partir del cisoide nerolidil difosfato, seguido de una ciclación de tipo 6,1, dando así origen al catión bisabolilo y por desprotonación de este último los *alfa*, *beta* y *gamma*- Bisaboleno y también sus respectivos productos oxigenados (α , β , γ -Bisabolol).

En la muestra de aceite de *N. reticulata* (WD 75) colectada en Granada Cundinamarca, también se encuentra esta ruta, pues los productos alfa y beta Santaleno se generan a partir de la ciclación 6,1 del catión nerolidilo, seguida de una segunda ciclación 3,7 y transposición de grupo alquilo.

En *P. perseiphylla* se detectó el compuesto α -Curcumeno, la formación de este no solo implica la ciclación 6,1 del catión nerolidilo sino una aromatozación del anillo formado.

En la **Tabla 16** se puede observar que los compuestos sesquiterpénicos de mayor complejidad por el número de ciclaciones y el grado de oxigenación, se encuentran en los aceites de *O. longifolia* (WD 28, WD 116, WD 117, WD 199), *O. tesmannii* (WD 74), *O. heterochroma* (WD 120), *A. coto* (WD 136), *A. robusta* (WD 123), *N. reticulata* (WD 75) y *A. puchury-minor* (WD 35); esto podría indicar un mayor grado de evolución micromolecular como lo señala el profesor Gottlieb (1882).

Figura 63: Rutas biosintéticas conducentes a los cationes que dan origen a los principales núcleos sesquiterpénicos.



Fuente: Davis & Croteau, 2000.

Tabla 16: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos monoterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae.

Compuesto	Ciclaciones			Transposiciones		Adiciones-eliminaciones			Especies
	6, 1	2, 7	2, 6	W-M	H ⁻	+ H ₂ O	-H ⁺	Ar	
α -Pinoeno	X	X					X		WD 69, WD 70, WD 71, WD 73, WD 75, WD 117, WD 135, WD 138, WD 141, WD 142
β -Pinoeno	X	X					X		WD 35, WD 65, WD 70, WD 71, WD 73, WD 74, WD 120, WD 124, WD 135, WD 138, WD 141, WD 142, WD 155
β -Ocimeno							X		WD 28, WD 35, WD 56, WD 70, WD 71, WD 71, WD 73, WD 116, WD 118, WD 122, WD 124, WD 137
Ciclofencheno	X	X		X					WD 28, WD 117
Sabineno	X		X		X		X		WD 65, WD 75, WD 117, WD 120
α -Cimeno	X						X	X	WD 35, WD 65, WD 117
Isoterpinoleno	X						X		WD 117
Terpinoleno	X						X		WD 28, WD 117
Limoneno	X						X		WD 28, WD 120, WD 124, WD 138, WD 141, WD 142
α -Felandreno	X						X		WD 28

Tabla 16: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos monoterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclaciones			Transposiciones		Adiciones-eliminaciones			Especies
	6, 1	2, 7	2, 6	W-M	H ⁺	+ H ₂ O	-H ⁺	Ar	
Linalool						X			WD 116, WD 199
β-Mirceno							X		WD 28, WD 71

Tabla 17. Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae.

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H ⁺ 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
Farneseno																	X		WD 70, WD 71, WD 118,
α-Bisaboleno				X													X		WD 70, WD 71
β-Bisaboleno				X													X		WD 70, WD 71
γ-Bisaboleno				X													X		WD 70, WD 71
α-Santaleno				X				X									X		WD 75
β-Santaleno				X				X									X		WD 75
α-Curcumeno				X													X	X	WD 100

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H ⁺ 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
trans- α -Bergamoteno				X		X											X		WD 74, WD 75, WD 100
Humuleno	X											X					X		WD 65, WD 67, WD 73, WD 74, WD 92, WD 93, WD 99, WD 124, WD 137, WD 138, WD 141, WD 142, WD 143, WD 155
Cariofileno	X		X														X		WD 28, WD 34, WD 56, WD 65, WD 70, WD 71, WD 73, WD 74, WD 75, WD 92, WD 93, WD 99, WD 118, WD 119, WD 120, WD 122, WD 123, WD 124, WD 137, WD 136, WD 138, WD 141, WD 142, WD 143, WD 145, WD 155,

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H ⁺ 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
9-epi-Cariofileno	X		X														X		WD 60, WD 93, WD 117,
Germacreno D		X										X					X		WD 28, WD 56, WD 67, WD 73, WD 92, WD 93, WD 99, WD 116, WD 118, WD 119, WD 122, WD 123, WD 124, WD 135, WD 136, WD 138, WD 141, WD 142, WD 143
Germacreno B		X															X		WD 34, WD 56, WD 65, WD 67, WD 71, WD 74, WD 92, WD 99, WD 119, WD 122, WD 123, WD 135, WD 141, WD 142, WD 143

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H' 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
Biclogermacreno	X	X										X					X		WD 28, WD 34, WD 65, WD 67, WD 73, WD 92, WD 93, WD 99, WD 116, WD 118, WD 119, WD 122, WD 123, WD 124, WD 135, WD 138, WD 143, WD 145
1(10),4-Cadinadieno		X		X								X					X		WD 28, WD 117, WD 118, WD 119, WD 123, WD 138, WD 142, WD 155
β-Cadineno		X		X								X					X		WD 73, WD 74, WD 92, WD 116, WD 117, WD 120, WD 124, WD 135, WD 136, WD 137, WD 141, WD 142
γ-Cadineno		X		X								X					X		WD 56, WD 142, WD 155

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H' 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
δ-Cadineno		X		X								X					X		WD 67, WD 70, WD 71, WD 99, WD 122, WD 143
α-Copaeno		X		X		X						X					X		WD 65, WD 66, WD 67, WD 74, WD 93, WD 99, WD 117, WD 118, WD 120, WD 124, WD 136, WD 137, WD 141, WD 142, WD 143, WD 145
β-Copaeno		X		X		X						X					X		WD 28, WD 34, WD 65, WD 67, WD 92, WD 93, WD 99, WD 124,
α-Cubebeno		X		X	X							X		X			X		WD 74

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H' 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
β-Elemeno		X				X					X	X					X		WD 34, WD 35, WD 56, WD 67, WD 74, WD 92, WD 119, WD 123, WD 135, WD 137, WD 142, WD 143, WD 145
γ-Elemeno		X				X					X	X					X		WD 67, WD 92
δ-Elemeno		X				X					X	X					X		WD 56, WD 67, WD 92, WD 93, WD 119, WD 122, WD 135, WD 141, WD 143
α-Selineno		X				X						X					X		WD 35, WD 74, WD 116, WD 137, WD 142, WD 145,
δ-Selineno		X				X						X					X		WD 75
4,11-Selinadieno		X				X						X					X		WD 35

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H' 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
β-Eudesmeno		X				X						X					X		WD 74, WD 92, WD 116, WD 137, WD 145
Maalieno	X	X				X						X					X		WD 35
Eremofileno		X				X						X	X				X		WD 65, WD 118
α-Gurjuneno	X	X			X							X					X		WD 120
γ-Gurjuneno	X	X			X							X					X		WD 93, WD 122
δ-Guaieno		X			X							X					X		WD 74, WD 145
6,9-Guaiadieno		X			X							X					X		WD 75
β-Bourboneno		X			X					X		X					X		WD 34, WD 60, WD 65, WD 66, WD 120, WD 137,
α-Muuroloeno		X		X								X					X		WD 120
γ-Muuroloeno		X		X								X					X		WD 117,
cis-Calameneno		X		X								X					X	X	WD 155

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H' 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
Isoledeno	X	X			X							X					X		WD 75, WD 117, WD 120
Aromadendreno	X	X			X							X					X		WD 141
allo-Aromadendreno	X	X			X							X					X		WD 120, WD 136,
α-Cubebeno		X		X	X							X					X		WD 65
Farnesol																X	X		WD 60, WD 142
Nerolidol																X	X		WD 34, WD 65, WD 66, WD 70, WD 71, WD 93, WD 99, WD 118, WD 137, WD 145
α-Bisabolol				X												X	X		WD 65, WD 70, WD 71
beta-Bisabolol				X												X	X		WD 71
Farnesal														X	X	X			WD 60

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H' 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
Óxido de cariofileno	X		X												X		X		WD 34, WD 60, WD 65, WD 66, WD 73, WD 122, WD 124, WD 138, WD 155
α -Cadinol		X		X								X				X	X		WD 28, WD 56, WD 93, WD 116, WD 119, WD 124, WD 135, WD 138
<i>tau</i> -Cadinol		X		X								X				X	X		WD 28, WD 56, WD 124, WD 138, WD 155
<i>tau</i> -Muurolol		X		X								X				X	X		WD 28, WD 119, WD 123, WD 124, WD 138,
Maaliol	X	X				X						X				X	X		WD 35, WD 74
α -Eudesmol		X				X										X	X		WD 74
β -Eudesmol		X				X						X				X	X		WD 56, WD 75, WD 145, WD 155

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H ⁺ 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
γ-Eudesmol		X				X						X				X	X		WD 74
Selina-6-en-4-ol		X				X						X				X	X		WD 123
Elemol		X				X					X	X				X	X		WD 56, WD 145
Intermedeol		X				X						X				X	X		WD 35, WD 120
Neointermedeol		X				X						X				X	X		WD 35, WD 56, WD 124, WD 135, WD 145
Espatulanol	X	X			X							X				X	X		WD 34, WD 60, WD 65, WD 66, WD 73, WD 74, WD 116, WD 124, WD 145
Iso-espatulanol	X	X			X							X				X	X		WD 56, WD 67, WD 122, WD 135, WD 155
Globulol		X			X							X				X	X		WD 56, WD 124, WD 155

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H' 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
<i>epi</i> -Globulol		X			X							X				X	X		WD 71, WD 75
Bulnesol		X			X							X				X	X		WD 116
Viridiflorol		X			X							X				X	X		WD 56, WD 120, WD 122
Guaiol		X			X							X				X	X		WD 70, WD 71, WD 116, WD 199
Ledol	X	X			X							X				X	X		WD 116, WD 122, WD 124
Palustrol	X	X			X							X				X	X		WD 116, WD 124
Cubebol		X		X	X							X				X	X		WD 99, WD 120, WD 124
<i>epi</i> -Cubebol		X		X	X							X				X	X		WD 118, WD 124, WD 141
Ciperenona		X							X			X		X	X	X	X		WD 142
Germacreno-D-4-ol		X										X				X	X		WD 124

Tabla 17: Tipos de reacciones implicadas en la formación de los productos sesquiterpénicos encontrados en los aceites esenciales de especies de la familia Lauraceae. (Continuación)

Compuesto	Ciclación										Otras reacciones								Especies
	11,1	10,1	2,10	1,6	2,6	2,7	2,6 [O]	3,7	10,6	1,7	R 4,5	H' 1,3	CH ₃ 7,2	H 1,2	Ox	+H ₂ O	-H ⁺	Ar	
7-Isopropil-4,10-dimetilciclododeca-5-en-1-ol		X										X				X	X		WD 136
<i>Ent</i> -germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 β -ol		X														X	X		WD 138
Shyobunol		X				X					X	X				X	X		WD 124
1,5-Epoxisalval-4(14)-eno		X					X			X		X				X	X		WD 34
4-Furanoedesman-6-ona		X				X						X		X	X	X	X	X	WD 28, WD 116, WD 117, WD 199
3,8a-Dimetil-5-metilen-5,6,7,8a,9-hexahidronafto[2,3-b]furan-4aH)-ona		X				X						X		X	X	X	X	X	WD 28, WD 116, WD 117, WD 199
Atractilona		X				X						X			X	X	X	X	WD 28, WD 116, WD 117, WD 199

4.6 Estudio de diversidad genética

De las 29 especies de la familia Lauraceae estudiadas en el presente trabajo se encontraron reportes en *GenBank* de 11 de estas especies: en la **Tabla 18** a continuación se listan las secuencias de marcador ITS1-5.8S-ITS2 encontradas y empleadas en el presente trabajo.

Tabla 18. Especies de la familia Lauraceae y números de acceso de de secuencias del marcador molecular ITS1-5.8S-ITS2 almacenados en *GenBank*.

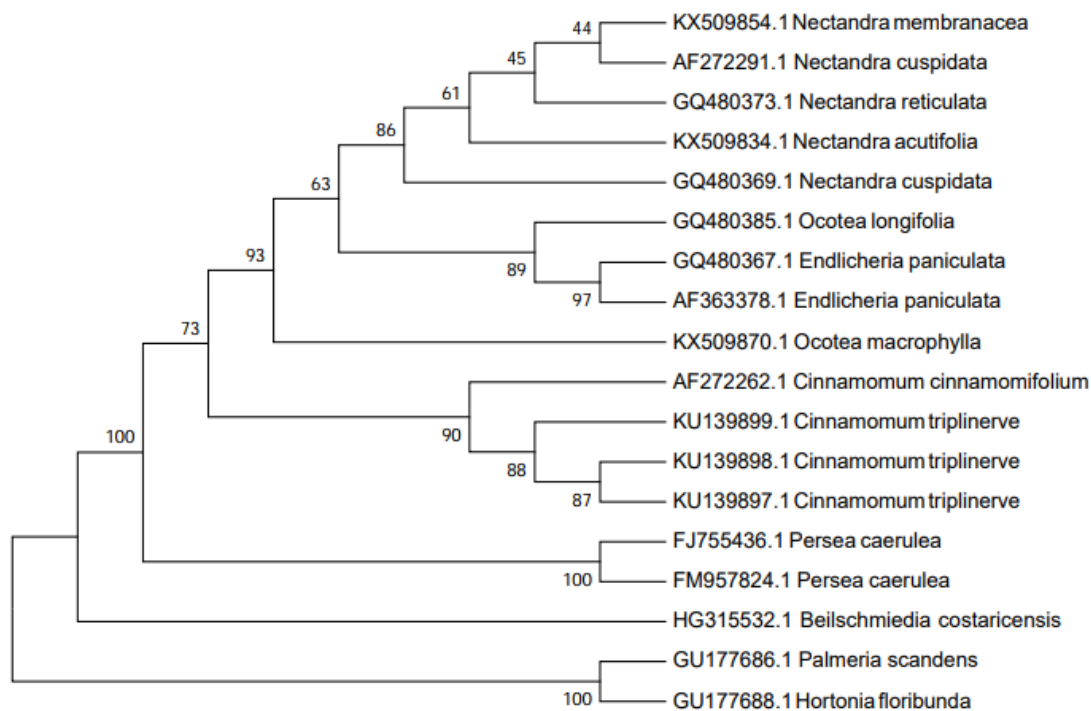
No.	Especie	No. Acceso (GenBank)
1	<i>Nectandra membranacea</i>	KX509854.1
2	<i>Nectandra cuspidata</i>	AF272291.1
		GQ480369.1
3	<i>Nectandra reticulata</i>	GQ480373.1
4	<i>Nectandra acutifolia</i>	KX509834.1
5	<i>Ocotea longifolia</i>	GQ480385.1
6	<i>Endlicheria paniculata</i>	GQ480367.1
		AF363378.1
7	<i>Ocotea macropylla</i>	KX509870.1
8	<i>Cinnamomum cinnamomifolium</i>	AF272262.1
9	<i>Cinnamomum triplinerve</i>	KU139899.1
		KU139898.1
		KU139897.1
10	<i>Persea caerulea</i>	FJ755436.1
		FM759824.1
11	<i>Beilschmiedia costaricensis</i>	HG315532.1
Grupo externo	<i>Palmeria scandens</i>	GU177686.1
Grupo externo	<i>Hortonia floribunda</i>	GU177688.1

En la **Figura 64**. Se puede observar el diagrama de árbol construido mediante el análisis de máxima parsinomia con los datos dados por las secuencias del marcador molecular ITS que muestra las relaciones filogenéticas de once de las especies incluidas en el

presente trabajo. En el diagrama se observa como la especie de *B. costaricensis* es la primera en separarse; la siguiente especie en separarse es *P. caerulea* y en tercer lugar las dos especies del género *Cinnamomum*.

La posición de *Beilschmiedia costaricensis* coincide con lo publicado por otros autores al ubicar a este género como uno de los más antiguos de la familia (van der Werff H. 1996 y Chanderbalí, A.S. 2001). Las especies de *Ocotea Endlicheria* y *Nectandra* ocupan la rama superior de este diagrama sin un soporte estadístico muy alto. Este resultado confirma lo dicho por van der Werff H. 1996 y Chanderbalí, A.S. 2001 quienes prefieren dejar estos géneros con algunos otros como un grupo no monofilético denominado Complejo *Ocotea*.

Figura 64: Árbol filogenético construido a partir de la información genética extraída de las secuencias del marcador ITS1-5.8S-ITS2 encontrados en la base de datos *GenBank* por el algoritmo de máxima parsimonia.



The evolutionary history was inferred using the Maximum Parsimony method. Tree #1 out of 6 most parsimonious trees (length = 580) is shown. The consistency index is (0.836022), the retention index is (0.860731), and the composite index is 0.770205 (0.719589) for all sites and parsimony-informative sites (in parentheses). The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (500 replicates) are shown next to the branches (Felsenstein J., 1985). The MP tree was obtained using the Tree-Bisection-Regrafting (TBR) algorithm (pg. 126 in ref. (Nei M. and Kumar S., 2000)) with search level 1 in which the initial trees were obtained by the random addition of sequences (10 replicates). The analysis involved 18 nucleotide sequences. There were a total of 842 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA7 (Kumar S., Stecher G., and Tamura K., 2016).

Figure. Maximum Parsimony analysis of taxa

The evolutionary history was inferred using the Maximum Parsimony method. The bootstrap consensus tree inferred from 500 replicates is taken to represent the evolutionary history of the taxa analyzed [1]. Branches corresponding to partitions reproduced in less than 50% bootstrap replicates are collapsed. The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (500 replicates) are shown next to the branches (Felsenstein J., 1985). The MP tree was obtained using the Tree-Bisection-Regrafting (TBR) algorithm (pg. 126 in ref. (Nei M. and Kumar S., 2000) with search level 1 in which the initial trees were obtained by the random addition of sequences (10 replicates). The analysis involved 18 nucleotide sequences. There were a total of 842 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA7 (Kumar S., Stecher G., and Tamura K., 2016).

5 Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

La diversidad química de los aceites esenciales de las especies Lauraceae estudiadas está representada mayoritariamente por compuestos de origen terpénico, siendo los más abundantes y generalizados los de tipo sesquiterpénico. Los sesquiterpenos presentes en la mayoría de las especies corresponden a Cariofileno, Bicyclogermacreno, Germacreno D que a su vez son precursores de Cadinenos, Copaenos, Selinenos, Gurjunenos, Cubebenos y Guaienos.

De acuerdo con, las rutas biosintéticas que conducen a los compuestos sesquiterpenos monocíclicos (Cariofileno y Germacrenos) son comunes a la familia Lauraceae y pueden considerarse como un carácter primitivo con bajo grado de evolución micromolecular. Los compuestos sesquiterpénicos bi o tricíclicos originados a partir de los monocíclicos son característicos de algunos géneros o especies, y debido a su mayor complejidad estructural se pueden catalogar como caracteres avanzados con mayor grado de evolución micromolecular.

Los aceites esenciales de las especies de *Cinnamomum* se caracterizan por presentar sesquiterpenos acíclicos o monocíclicos generados a partir de la ciclación 6,1 del catión Nerolidilo.

Los compuestos oxigenados encontrados en los aceites esenciales son alcoholes principalmente y en su mayoría productos de hidratación de los cationes bicíclicos generados por la ruta de los Germacrenos. Otros oxigenados como los furanoeudesmanos son productos de oxidaciones múltiples sobre los alcoholes que representan mayor complejidad estructural en cuanto al número de ciclos y grado de oxigenación asociado al grado de evolución de especies como *O. longifolia*, *O.*

tessmannii, *O. heterochroma* y *E. oreocola*.

Los compuestos oxigenados de los aceites esenciales de *O. longifolia* presentan una amplia variación en composición y cantidad relativa. Aunque, en todos ellos son comunes los compuestos tipo furanoeudesmano por lo que se proponen como quimiomarcadores de la especie.

El mayor grado de evolución química de la especie *O. longifolia* conlleva a que presente una mayor diversidad de rutas metabólicas que puede utilizar en los procesos de adaptación a los diferentes nichos ecológicos en los que se puede desarrollar y adaptar.

La presencia de ésteres de los ácidos benzoico, salicílico, y α -pironas en algunas especies del género *Aniba* (*robusta* y *coto*) es una característica en composición que puede permitir la diferenciación entre los géneros *Aniba* y *Ocotea*.

Los aceites esenciales obtenidos de las especies del género *Cinnamomum* incluidas en el estudio, muestran una composición rica en sesquiterpenoides alicíclicos (Nerolidol y Farnesol) y monocíclicos (α -Bisabolol) mientras que las especies de origen asiático tienen como mayoritarios los compuestos tipo arilpropano (Cinamaldehído) y monoterpenoides (Alcanfor).

La presencia de α -Bisabolol y compuestos biogenéticamente relacionados en alta proporción en dos de las muestras determinadas como *C. triplinerve* (W 70 y WD 71) permiten postular este compuesto como quimiomarcador de la especie.

La muestra WD 60 presenta diferencias, tanto morfológicas como de composición de su aceite esencial, respecto a las muestras WD 70 y WD 71 determinadas también como *C. triplinerve*. Lo que sugiere que puede tratarse de un quimiotipo o especie diferente.

La especie *O. cymbarum* posee un aceite esencial con predominancia de monoterpenoides, característica que la diferencia de las demás especies Lauraceae estudiadas.

El análisis de los perfiles metabólicos de los aceites esenciales y extractos etanólicos de

hojas de las especies de Lauraceae, por medio de los análisis de conglomerados, demuestra ser una herramienta útil para correlacionar filogenéticamente las especies a nivel de género; en el caso estudiado se observó esta relación en los géneros *Cinnamomum* y *Aniba*

Las especies de *Ocotea*, *Endlicheria* y *Rhodostemonodaphne*, con predominancia de hidrocarburos sesquiterpenicos en sus aceites esenciales, no se resuelven en los distintos análisis de conglomerados realizados. Esta falta de resolución se asocia a la ausencia de monofiletismo en estos taxones.

El analisis filogenético realizado con base en la información de tipo molecular, genera una separación clara a nivel de género entre *Beilschmiedia*, *Persea*, y *Cinnamomum*; pero no hay resolución entre *Nectandra*, *Endlicheria* y *Ocotea*, evidenciandose una vez mas el no monofeletismo de estos géneros. De esta forma, se concluye que la información generada de tipo químico puede ser comparable con la información de tipo molecular empleada en este estudio (ITS1-5.8S-ITS2) para efectos de análisis filogenéticos.

5.2 Recomendaciones

Con el propósito de dar una mayor robustes a los análisis realizados se recomienda ampliar el muestreo especialmente para las especies de las cuales solo se encontró un individuo.

Realizar la caracterización de tipo molecular para todas las especies estudiadas y así poder hacer un mayor contraste con la información de tipo químico.

Realizar una exploración más detallada de información generada en la caracterización de los extractos etanólicos de las especies en las cuales no se identificó una sustancia de los aceites esenciales como quimiomarcador a fin de detectar comopuestos que puedan ser postulados como quimiomarcadores

Complementar los estudios genómicos y metabólicos con estudios de proteómica y transcriptómica, estos ayudarán a la elucidación y/o verificación de muchas de las rutas metabólicas que aún se desconocen y al mismo tiempo pueden ser insumo para realizar análisis de filogenia más robustos.

5.3 Producción científica

5.3.1 Artículos científicos

1. Delgado, W., & Cuca, L., (2016). Clasificación de extractos etanólicos de especies de la familia Lauraceae por cromatografía en capa fina bidimensional y análisis estadísticos multivariado CCD-2D/PCA-cluster. *Revista Colombiana de Química*, 45(1), 10-14.
2. Delgado, W., Cuca, L. & Caroprese, J. (2016). Composición química del aceite esencial de *Ocotea cymbarum* Kunth (cascarillo y/o sasafrás) de la región Orinoquia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(3), 248-260.

5.3.2 Participación en eventos científicos

1. Delgado, W., & Cuca, L., (2011). XI Congreso Colombiano de fitoquímica, Medellín. Diversidad química en aceites esenciales de diez especies de Lauraceae colombianas.
2. Delgado, W., & Cuca, L., (2012). Simposio internacional de Química de productos naturales y sus aplicaciones, Talca, Chile. Caracterización de aceites esenciales obtenidos de especies de la familia Lauraceae de la Amazonía colombiana.
3. Delgado, W., & Cuca, L., (2014). XV COLACRO, Cartagena. Composición química de los aceites esenciales de Cascarillo y Sasafrás (Lauraceae) de la región del Orinoco.
4. Delgado, W., Cuca, L. & Caroprese, J. (2014). XV COLACRO, Cartagena. Aplicación de 2D-TLC/PCA para la clasificación de extractos etanólicos de especies de la familia Lauraceae.

5. Delgado, W., & Cuca, (2016). V Congreso Iberoamericano de Productos naturales, Bogotá. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de especies de *Aniba* (Lauraceae) encontradas en Colombia.
6. Delgado, W., & Cuca, (2016). V Congreso Iberoamericano de Productos naturales, 2016, Bogotá. Composición química de aceites esenciales de tres especies de *Nectandra* (Lauraceae).

A. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies del género *Ocotea*.

No.	Compuesto	WD 118	WD 117	WD 57	WD 143	WD 134	WD135	WD 120	WD 155
1	α -Tujeno		0,22						
2	α -Pinene	0,18	1,90			0,33	6,74		2,80
3	Camfeno		0,22				0,42		0,90
4	β -Pineno	0,22	0,92			0,23	5,22	6,72	1,10
5	β -Tujeno		1,13				0,40		0,50
6	Sabinene						0,39	14,14	
7	δ -3-Careno		13,57		0,43				
8	α -Felandreno		0,50				0,43		
9	β -Mirceno							0,61	
10	Limoneno	0,07	0,42				0,94	3,34	0,40
11	β -Felandreno							0,83	
12	(E)- β -Ocimemo	0,10	0,79				1,07		
13	γ -Terpineno		0,26					1,45	
14	(Z)- β -Ocimemo	1,28	1,64				6,25		
15	<i>orto</i> -Cimemo		0,32				0,05		
16	<i>para</i> -Cimemo							0,97	
17	α -Terpinoleno		1,20				0,05	0,81	
18	γ -Terpinoleno						0,06		
19	Terpinolene		1,17				0,25		
20	α -Cubebeno			1,48	0,35	0,45			
21	δ -Elemeno	1,94	0,10	0,23	2,21		0,40		
22	Ylangeno	0,40	0,42	0,42					
23	α -Copaeno	1,27	3,56	6,84	0,97	1,02	0,64	0,70	1,14
24	β -Bourboneno							0,81	
25	α -Gurjeneno					0,30			

No.	Compuesto	WD 92	WD 116	WD 28	WD 74	WD 48	WD 199	WD 20
1	α -Pinene	0,10						0,10
2	Camfeno	0,10						0,13
3	β -Pino				10,38			0,10
4	δ -3-Careno		1,31	2,64				
5	α -Felandreno			4,07				
6	β -Mirceno			1,42				
7	α -Terpineno			1,05				
8	Limoneno	0,01		1,05	0,54		0,13	0,01
9	(E)- β -Ocimemo		1,87				0,21	
10	γ -Terpineno			0,60			0,23	
11	(Z)- β -Ocimemo		10,58	1,69			0,16	
12	<i>orto</i> -Cimemo						0,19	
13	α -Terpinoleno			69,89				
14	Acetato de bornilo	0,01						0,01
15	α -Cubebeno	0,15			3,42			
16	δ -Elemeno	1,55				1,72		4,05
17	Ciclosativeno				0,85			
18	Ylangeno	0,53						0,45
18	α -Copaeno	1,58		3,06	8,25			
20	β -Bourboneno	0,24						
21	α -Gurjeneno				0,67		0,15	
22	β -Cubebeno	0,73						
23	α -Santaleno		0,70		1,41			
24	α -Bergamoteno		0,63		2,41			
25	β -Elemeno	12,15			3,6	2,01	0,18	16,8
26	Caryophyllene	1,40	0,51	0,65	14,61	5,37	2,82	2,68
27	α -Humuleno						0,58	2,01
28	Aromadendreno				0,71		1,20	0,30
29	γ -Elemeno							5,05
30	Alloaromadendreno		2,07	1,24			1,30	
31	β -Santaleno		1,25					
32	δ -Cadineno				0,66			1,80
33	2-Isopropenyl-4a,8- dimetil- 1,2,3,4,4a ,5,6,7- octahidronaftaleno	2,05			4,25	1,40		

34	α -Amorfeno							0,49
35	α -Muuroleno				1,26			
36	Iedeno				2,01			
37	γ -Gurjeneno	0,40						
38	Germacreno D	46,08	4,13	1,36		38,55		48,20
38	Epizonareno							0,37
40	β -Selineno	0,86	2,09		4,06		2,67	
41	α -Selineno				4,13			
42	β -Patchouleno	0,25						2,38
43	Biciclogermacreno	1,75	1,77		3,88	11,55	6,61	
44	γ -Cadineno			4,18	8,55			
45	Selina 3,7(11)-dieno		2,15					
46	β -Guaieno	8,57					0,58	
47	Sinularene	9,08						
48	Cadina-1,4-dieno				0,91			
49	Germacreno B	5,17				21,91		
50	cis-Calameneno				0,59			
51	Óxido de cariofileno	0,25			0,55			
52	(Z)- α -Bergamotol		0,60					
53	Ledol		5,82					
54	Nerolidol						0,75	
55	Globulol				0,63		2,60	
56	Elemol				0,91		2,50	
57	Veridiflorol		0,97				1,39	
58	Rosifoliol						0,74	
82	Guaiol		6,75				13,82	
59	Furanodiene		11,0				8,84	
60	Espatulenol		2,78		1,62	2,02	0,81	
61	γ -Eudesmol				0,98		2,37	
62	α -Cadinol	0,36	3,47	0,97				
63	Torreyol		0,69					0,11
64	Bulnesol		2,54				14,73	
65	α -Eudesmol				1,39		3,43	
66	5- <i>epi</i> -Paradisol	0,23						
67	5- <i>epi</i> -Neointermedeol				0,61			
68	Dehidrofukinona		0,64					
69	Compuesto Tipo Furanoeudesmano # 1		5,55	1,02			12,39	
70	Atractilona		2,02				1,49	

71	Compuesto Tipo Furanoeudesmano # 2		2,68					
72	4-Furanoeudesman-6-ona		8,38				9,08	
73	Compuesto Tipo Furanoeudesmano # 3		0,99					
74	Heptacosano				3,74			
75	Nonacosano				0,70			
76	Fitol				4,44	1,76		
	Total	93,42	83,94	94,89	93,56	86,29	91,95	84,74
	Monoterpenos	0,03	13,76	82,41	10,92		0,92	0,04
	Sesquiterpenos	92,8	21,72	10,49	67,62	82,51	16,09	84,59
	Sesquiterpenoides	0,84	54,88	1,99	6,69	2,02	74,94	0,11
	Hidrocarburos y derivados de ácido				4,44			
	Diterpenos				4,44	1,76		

18	α -Humuleno	0,97			1,53	1,63	2,19	30,15	0,66
19	(E)- β -Farneseno						2,28		
20	Aromadendreno	1,09	0,53	0,59			0,36		
21	α -Guaiano	0,6	0,21	0,2					
22	Selina-4,11-dieno								19,11
23	γ -Cadineno	2,29	1,39	1,86					
24	Acifileno		0,24	0,23					
25	α -Amorfeno		0,31	0,37		0,22	0,46		
26	Longifoleno			0,69					
27	Germacreno D	2,02	1,12	0,97	0,78	2,62	2,27	0,94	
28	α -Muuroloeno					0,3	0,53	0,28	
29	Germacreno A					0,39			
30	Biciclogermacreno		1,84	2,09					
31	α -Panasinseno								15,6
32	(E)- β -Bisaboleno					0,33	3,56	1,54	
36	γ -Cadineno			0,67					
33	β -Selineno	18,37	18,08	19,14	21,22	16,9	4,42	0,58	
34	α -Selineno	11,42	5,54	5,97	6,64	6,39	3,74	3,33	
35	Alloaromedendreno	2,37	0,53	0,59					
36	β -Elemeno	9,3			3,49				
37	7- <i>epi</i> - α -Selineno					0,28			
38	(E)- γ -Bisaboleno						0,61	0,25	
39	δ -Cadineno	0,93	0,79	0,81		3,06	9,52	2,58	
40	Zingibereno					0,18	0,24	0,18	
41	Calacoreno				0,49	0,38	1,34	2,58	
42	Elemol	4,25	5,41	5,78					
43	Nerolidol	0,97	1,37	1,4	6,16	8,66	5,1	3,92	
44	Palustrol					0,24			

45	Espatulol	1,74	1,93	2,05	1,42	1,42		0,6	0,73
46	Farnesol		0,57			2,2			
47	Óxido de cariofileno		0,36	0,36	6,55	7,19	3,39	2,29	
48	Ledol		0,43	0,44					
49	Globulol					0,78	0,53	0,18	0,59
50	5- <i>epi</i> -Neointermedeol		2,85	2,63					2,72
51	α -Bisabolol						4,32	2,59	
52	10,10-Dimetil-2,6-demetilbiccilo-[7.2.0]undecan-5-beta-ol				0,86				
53	α -Eudesmol		2,81	2,71					
54	γ -Eudesmol	1,21	1,56	1,42					
55	β -Eudesmol	2,21	3,28	3,16	16,15	17,13	8,77	17,15	
56	Guaiol		0,34	0,31					
57	Veridiflorol	3,36	0,3	0,3	0,88	1,23	0,4	0,42	
58	<i>tau</i> -Muurolol		0,26	0,25					
59	<i>tau</i> -Cadinol		0,37	0,36		0,91	1,17	0,55	
60	Longiborneol						7,33		
61	6-Isopropenil-4,8a-demetil-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidronaftaleno-2-ol	1,47				1,18	0,38	1,27	
62	Heptasosano		0,23	0,31					
63	Velerenol								0,72
64	Fitol								0,77
65	Kaureno								12,83
	TOTAL	96,87	84,37	87,41	89,34	94,15	90,92	92,69	84,6
	Monoterpenos					0,11	0,4	0,7	1,73
	Sesquiterpenos	81,66	62,3	65,93	55,21	52,05	55,74	59,4	64,51
	Sesterpenoides	13,74	21,84	21,17	32,51	40,14	32,35	30,28	4,04
	Aromáticos	1,47				1,18	0,38	1,27	

24	δ -Cadineno		3,24	4,32	6,45	6,87	5,68	1,64	1,54
25	Cadina-1,4-dieno		0,63						
26	Zingibereno							0,62	0,64
27	Calameneno		0,65						
28	Nerolidol						1,42		
29	Espatuleno		0,62	2,88		0,79	4,31	0,26	0,49
30	Óxido de cariofileno	1,08	0,70	1,05			0,67	0,43	0,56
31	Ledol			0,58					
32	Selina-4-(14)-en-1-ona							0,35	
33	Germacreno D-4-ol			0,87		2,63	0,92		
34	Globulol			0,55					
35	α -Cadinol		0,55	0,64		1,19	2,62	0,63	
36	Isoespatuleno			0,54					
37	5- <i>epi</i> -Neointermedeol			1,36	1,59	3,63			
38	Guaiol				1,09				
39	Veridiflorol				0,53	0,81			
40	<i>tau</i> -Muurool		0,88	1,08	1,11	0,95			
41	<i>tau</i> -Cadinol				1,97	1,66	1,04		
42	5- <i>epi</i> -Paradisol		1,63						
43	Benzoato de bencilo	56,35	65,44	50,28	44,71	54,05	41,14	60,9	70,82
44	Benzoato de fenetilo	1,48	2,36	0,65	1,02			6,08	5,05
45	Salicilato de bencilo		0,51						
46	Tetradecanal						0,62		
	TOTAL	90,2	96,54	93,7	90,99	93	95,05	93,65	96,3
	Monoterpenos	16,8	2,22	4,09	9,71	3,39			
	Sesquiterpenos	13,18	21,63	28,63	28,86	23,52	42,31	25	19,38
	Sesterpenoides	2,39	4,38	9,55	6,29	11,66	10,98	1,67	1,05
	Aromáticos	57,83	67,8	50,93	45,73	54,05	41,14	66,98	75,87

C. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies del género *Nectandra*.

No.	Compuesto	WD 75	WD 99	WD 149	WD7 3	WD 119	WD 123	WD 138	WD 142	WD 141
1	α -Tujeno	0,4	2,4							
2	α -Pinoeno	4,4	9,1	1,4	2,6	0,4	0,7	13,0	2,6	11,6
3	Camfeno				0,6			0,7		0,6
4	Sabineno						0,2	0,5		0,7
5	β -Mirceeno				1,2			0,5		0,5
6	β -Pinoeno		1,7	0,3	2,0			7,3	1,7	8,9
7	1-Felandreno		2,1	0,3						
8	Limoneno		0,6		0,4			1,5		1,4
9	(E)- β -Ocimeno		2,1	0,3	10,9	0,7				
10	(Z)- β -Ocimeno				1,9					
11	α -Cubebeno			0,4			0,9			
12	δ -Elemeno	0,5		1,1		1,8	2,6			1,3
13	α -Copaeno	0,4	9,5	7,6		0,9		0,7	5,2	1,1
14	β -Copaeno		4,6	3,8			0,6		1,0	
15	β -Bourboneno								0,6	
16	β -Elemeno	0,7			0,7		4,0		1,8	
17	α -Santaleno	19,1								
18	Cariofileno	8,3	27,2	25,4	21,4	3,8	10,0	22,5	1,3	18,9
19	β -Cubebeno							0,6	0,6	
20	Tetradecanal								0,5	
21	Cedreno V6								11,0	
22	gama-Elemeno					2,0	2,1		0,6	
23	α -Guaieno		1,1							
24	α -Humuleno		3,8	4,3	2,8	1,4	2,0	2,3	3,6	4,0
25	Alloaromadendre		0,5	1,3						

	no									
26	γ -Muuroleno		0,8	1,0				1,2	1,4	
27	(E)- α -Bergamoteno	4,0						0,2		0,5
28	3,7-Guaiadieno							0,8		0,5
29	6,9-Guaiadieno	11,6							0,5	
30	Isoledeno	1,9								0,5
31	Aromadendreno	2,8			0,8					
32	β -Santaleno	7,3								
33	α -Amorfeno	1,3			0,6			0,7		0,6
34	Ledeno				0,8					
35	α -Selineno				0,5					
36	(E)- β -Farneseno	0,4								
37	Germacreno D	0,6	15,8	18,3	21,4	39,0	29,6	30,7	15,4	26,5
38	<i>epi</i> -Biciclosesquifelandreno			0,4						
39	Biciclosesquifelandreno						0,9			
40	β -Selineno			0,9		1,0	0,5		1,4	
41	α -Muuroleno			0,6	0,4	1,1	1,3		1,2	
42	Germacreno A					2,3		2,1		3,6
43	Isoledeno	0,4								
44	γ -Cadineno					0,8	1,5	1,0	5,4	0,6
45	γ -Maaleno	1,5								
46	α -Selineno	2,1							4,1	
47	α -Gurjuneno	13,2							1,6	1,5
48	Biciclogermacreno	0,5	9,9	11,8	7,7	4,4	6,8	3,3		2,1
49	7- <i>epi</i> - α -selineno								1,1	
50	γ -Muuroleno					0,8				
51	δ -Cadineno	0,6	2,2	3,9	2,4	4,2	5,5		2,7	
52	δ -Selineno								13,5	
53	α -Cadineno						0,9			
54	Selina-3,7,(11)-dieno				0,8				0,6	
55	α -Farneseno		1,4							

56	(E,E)-4,8,12-Trimetil-1,3,7,11-tridecatetraeno			0,3		3,1				
57	Germacreno B			2,0	0,9	8,8	8,6	3,3	3,7	2,6
58	β -Maalieno								1,2	
59	Acifileno		1,5							
60	(3E,5E)- 2,6-dimetil (3,5,7-Octatrien-2-ol,)				0,8					
61	Cubebol		0,7	0,9						
62	<i>epi</i> -Cubebol		1,4	1,5						
63	Óxido de cariofileno		1,0	1,4	1,6			0,8	0,6	0,6
64	Elemol	0,3								
65	Germacren-D-4-ol			0,6						
66	Di- <i>epi</i> -1,10-Cubenol			0,3			1,1			
67	Globulol			0,3	1,0		1,7			
68	Veridiflorol			0,4	1,6					
69	Espatuleno				3,8			0,6		
70	Nerolidol			2,2						
71	Guaiol			0,3			0,8			
72	Junenol						1,1			
73	Espatuleno			0,7	0,4	1,3				
74	α -Cadinol			0,5	1,2			0,6		0,6
75	Alcanfor de juniper				0,3					
76	6-Hidroxi-cariofileno				2,5					
77	<i>tau</i> -Muurulol			0,4		3,4	4,4	0,3		
78	Pogostol			0,4						
79	α -Cadinol			0,9	0,7	3,1	4,3			
80	Torreyol				0,5					
81	Farnesol								8,0	
82	Acetato de farnesilo								0,4	
83	15-Copaenol			0,8						
84	<i>tau</i> -Cadinol	1,2								
85	β -Eudesmol	8,1								

86	Kaureno				1,0					
87	Fitol			2,5	0,5					
88	Tetracosano			0,9	0,6					
89	Nonacosano			0,3	0,4					
	Total	91,4	99,4	100,2	97,6	84,2	92,1	95,1	93,3	88,9
	Monoterpenos	4,8	18,0	2,3	19,6	1,1	0,9	23,5	4,3	23,6
	Sesquiterpenos	77,1	78,3	82,8	61,2	75,3	77,8	69,4	79,9	64,1
	Sesquiterpenoides	9,6	3,1	11,4	14,4	7,8	13,3	2,2	9,1	1,2
	Diterpenos			2,5	1,4					
	Hidrocarburos			1,3	0,9					

D.Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies del género *Cinnamomum*.

No.	Compuesto	WD 60-1	WD 60-2	WD 66-1	WD 66-2	WD 70-1	WD 70-2	WD 71-1	WD 71-2
1	α -Pinoeno					3,72	6,15		1,15
2	β -Pinoeno					1,54	2,49		
3	β -Mirreno		2,06			0,97	0,20		
4	α -Felandreno		1,35				0,73		
5	Limoneno					0,40	0,12		
6	(E)- β -ocimeno		9,21			2,77	3,65	1,28	2,61
7	(Z)- β -ocimeno	0,88	1,64			0,81	0,16	1,77	0,88
8	Allocimeno		0,40						
9	Biciclo[3.1.0]hex-2-eno					0,42			
10	Ciclosativeno			0,97					
11	α -Copaeno			7,17	6,12				
12	β -Bourboneno			0,30	0,86				
13	δ -Elemeno	0,81	0,49			0,65			
14	β -Copaeno		0,42						
15	β -Elemeno	0,83	1,45	1,06	1,15				
16	Cariofileno	11,89	10,1	7,74	10,33	2,24	3,21	1,25	2,78
17	γ -Elemeno			1,49	1,28				
18	β -Selineno			1,4	1,81				
19	α -Humuleno	1,87	1,43		0,54				0,65
20	Alloaromadendreno			0,29	0,29				
21	γ -Muuroleno			0,6					
22	Germacreno D	24,46	16,19	15,82	8,79			0,58	1,13
23	α -Bergamoteno		0,73	2,56	4,01	0,61	0,6		
24	6,9-Guaiadieno					0,51	0,39		

25	α -Muuroleno			0,65	0,99		0,14		
26	Isoledeno					0,71	0,53	0,65	0,28
27	α -Amorfeno				0,26			0,32	0,20
28	β -Maaleno							0,49	
29	Biclogermacreno	6,76	3,66	5,00	4,63	1,52	3,63		
30	α -Bisaboleno					3,46	3,06	1,21	1,10
31	α -Gurjuneno					2,17	1,16	3,63	4,08
32	β -Bisaboleno			0,42	0,36	3,82	3,6	3,18	2,96
33	γ -Bisaboleno					16,29	11,26	4,10	4,13
34	β -Sesquifelandreno				0,15			0,63	
35	Germacreno B	1,09		8,41	8,60	1,16	2,12	3,54	2,52
36	γ -Cadineno			1,29	0,90				
37	δ -Cadineno			3,90	4,40		0,24		
38	Nerolidol			29,86	33,22	2,68	3,04	2,23	0,82
39	Óxido de cariofileno			1,06	0,25				
40	Guaiol				0,26	1,71	0,68	0,44	
41	β -Eudesmol			0,53	0,44	0,40			
42	α -Cadinol			2,12	3,00				
43	1,6-Germacredien-5-ol	0,52							
44	Isoespatulenol							0,48	
45	Espatulenol	0,42							
46	β -Bisabolol								
47	α -Bisabolol					44,4	45,46	67,93	70,60
48	Farnesol	44,53	43,47						
49	Farnesal	0,56							
50	Acetato de farnesilo	2,40	2,84						
51	9-Octadecenal			0,75	1,84				
52	Hexadecanal			0,68	0,36				
	Total	97,02	95,44	94,07	94,84	92,96	92,62	93,61	95,89
	Monoterpenos	0,88	14,66			10,63	13,5	3,05	4,64
	Sesquiterpenos	47,71	34,47	59,07	55,47	33,14	29,94	19,48	19,83
	Sesquiterpenoides	48,43	46,31	33,57	37,17	49,19	49,18	71,08	71,42
	Derivados de ácidos grasos			1,43	2,2				

E. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies del género *Endlicheria*.

No.	Compuesto	WD 64-1	WD 64-2	WD 56-1	WD 56-2	WD 67-1	WD 67-2
1	α -Cubebeno	0,58	0,65	0,38		0,30	1,64
2	δ -Elemeno	0,37	0,81	1,48	1,62	18,12	4,26
3	Ylangeno			0,73	0,70	0,64	0,16
4	α -Copaeno	2,20	2,26	1,44	1,39	1,38	2,00
5	Decanal			0,22	0,11		
6	β -Bourboneno	2,18	1,49	0,61	0,82	0,37	0,52
7	β -Cubebeno			0,53	0,45		
8	β -Elemeno	4,15	4,04	2,74	1,96	2,86	1,87
9	Carriofileno	6,26	11,73	3,89	4,08	1,67	1,86
10	α -Gurjeneno	0,94		0,20		0,28	1,13
11	γ -Elemeno			0,85	0,76	2,31	4,21
12	6,9-Guaiadieno					0,36	
13	Alloaromadendreno	0,85	0,28	0,67	1,14		
14	α -Humuleno	1,35	0,96	1,90	5,47	1,60	2,04
15	α -Amorpheno	0,63	0,65	2,62	0,20		
16	Ledeno			1,35	1,26		
17	Germacreno D	48,47	37,15	34,71	37,81	34,96	40,60
18	γ -Muuroleno					0,27	
19	β -Selineno		0,09	0,68			
20	δ -Cadineno	0,99	1,13				0,27
21	β -Cadineno			2,84		0,63	0,15
22	α -Selinene			0,91			
24	α -muuroleno			1,22	0,36		
25	Biciclogermacreno	8,53	9,94	3,98	4,12	6,81	7,27
26	α -Farneseno	1,43	0,34				

27	Germacreno A					1,44	2,52
28	<i>epi</i> -Cubebol					1,41	0,83
29	δ -Cadineno			5,93	6,58	1,94	2,11
30	Elemol					0,51	
31	α -Cadineno			0,50			
32	Germacreno B			11,33	10,26	13,13	10,61
33	1,5-Epoxisalvial-4(14)-eno	0,81	7,26			0,41	
34	Óxido de cariofileno	2,24	1,46				
35	Salvial-4(14)-en-1-ona	0,22	0,38				
36	Ledol			0,38			
37	Nerolidol	4,91	0,85				
38	Veridiflorol		1,13	3,29			
39	Guaiol	0,89			2,53		
40	Bulnesol	1,26				2,66	
41	Espatulenol	5,52	3,22	1,19	2,28	0,87	3,11
42	Tetradecanal					0,58	
43	α -Cadinol			0,35	0,31		
44	<i>tau</i> -Muurolol			0,95	0,36		0,63
45	α -Eudesmol			0,33	0,72	0,30	0,55
46	Isospathulenol			0,63			
47	α -Cadinol			0,74	1,10		
48	Óxido de ledeno			0,60			
49	Pentadecanal	0,27	1,66			0,18	1,14
50	Heptadecanal		0,26			0,15	0,89
51	8-Heptadeceno	0,38	0,01				
	TOTAL	95,43	87,75	90,17	86,39	96,14	90,37
	Sesquiterpenos	78,93	71,52	81,71	79,09	90,99	84,05
	Sesquiterpenoides	15,85	14,30	8,46	7,30	4,82	4,29
	Derivados de ácidos grasos	0,65	1,93	0,00	0,00	0,33	2,03

F. Anexo: Composición química relativa de los aceites esenciales de especies de los géneros *Persea*, *Beilschmiedia* y *Rhodostemonodaphne*.

No.	Compuesto	WD 93	WD 65-1	WD 65-2	WD 122-1	WD 122-2	WD 100-1	WD 100-2
1	α -Pinoeno	1,35		0,23	0,77	4,15		
2	Camfeno	0,12						
3	Tujeno	0,17						
4	β -Pinoeno	1,13				2,16		
5	Sabineno	0,17	0,96	1,14				
6	β -Mirceno	0,20			1,40			
7	Limoneno	0,21						
8	(E)- β -Ocimemo	0,43			29,39	26,39		
9	(Z)- β -Ocimemo				17,07	8,04		
10	<i>para</i> -Cimemo		0,62	0,52				
11	α -Cubebeno	0,50	0,84	0,58				
12	δ -Elemeno	4,28			5,69	3,66		
13	α -Copaeno	5,97	2,38	3,26		0,05		
14	β -Bourboneno		1,86					
15	β -Cubebeno	8,11	0,83	0,69				
16	(E)- α -Bergamoteno						4,19	5,08
17	Calareno	0,44						
18	β -Elemeno	1,32						
19	Cariofileno	14,74	25,22	28,08	7,13	8,78		
20	Aromadendreno	0,20						
21	Alloaromadendreno	3,28						
22	α -Humulene	4,46	3,13	4,17	0,96	1,34		
23	(E)- β -Farneseno		0,94	1,11				

24	2-Isopropenil-4a,8-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidronaftaleno		0,79	0,25				
25	α -Amorfeno	0,85	1,16	1,75	0,96	1,12		
26	Ledeno		0,62	0,20	0,35			
27	Germacreno D	16,04	0,93	1,47	11,20	12,20		
28	Eremofileno	0,18						
29	β -Selineno		1,46	0,96				
30	α -Selineno		0,99	1,15				
31	α -Muuroloeno		0,75	0,36				
32	γ -Elemeno				2,29	2,16		
33	Biciclogermacreno	10,36	7,47	7,70		2,21		
34	γ -Muuroloeno	1,07						
35	δ -Cadineno		2,93	2,90	3,25	4,25		
36	α -Elemeno	3,70						
37	(E)- γ -Bisaboleno	0,21						
38	α -Guaieno	0,44						
39	Isocariofileno	0,72						
40	Cubebol	0,90						
41	α -Curcumeno						3,15	4,11
42	Cadina-3,5-dieno	0,27		1,18		0,08		
43	Cadina-1,4-dieno	0,34						
44	Germacrene B	2,80	1,64	1,40	2,56	2,79		
45	<i>cis</i> -Calameneno		0,78	0,66				
46	Óxido de cariofileno		8,76	4,44	3,05	6,13		
47	Palustrol				1,25	0,67		
48	Nerolidol	4,93	3,88	5,11				
49	Globulol		0,76	0,80				
50	Veridiflorol				2,03			
51	Espatuleno	0,24	9,40	7,16	1,99	0,45		
52	6,10,14-Trimetil-2-pentadecanona		0,85					
53	α -Bisabolol		7,44	11,10				
54	<i>tau</i> -Muurolool	1,18						
55	α -Cadinol	1,22						
56	Fitol	1,85					7,04	3,63
57	Undecanal						1,85	2,17
58	Dodecanal						13,30	16,47
59	Tridecanal						4,53	2,06

60	1-Undecanol						2,30	2,12
61	Tetradecanal						31,65	27,56
62	1-Trideceno						6,93	7,36
63	Pentadecanal						1,29	2,18
64	Heptacosano	1,35			0,87			
65	Ácido mirístico						14,37	16,18
66	Ácido carboxílico N.I.		5,60	3,23				
67	Ácido palmítico						4,37	4,01
	TOTAL	95,73	92,99	91,60	92,21	86,63	94,97	92,93
	Monoterpenos	3,78	1,58	1,89	48,63	40,74	0,00	0,00
	Sesquiterpenos	81,18	54,72	57,87	34,39	38,64	7,34	9,19
	Sesquiterpenoides	7,57	31,09	28,61	8,32	7,25	0,00	0,00
	Diterpenos	1,85	0,00	0,00	0,00	0,00	7,04	3,63
	Acidos grasos y derivados	1,35	5,60	3,23	0,87	0,00	76,22	76,10

Bibliografía

Acero, L. (2005). Plantas útiles de la cuenca del Orinoco. *Ecopetrol. BP. Corporinoquia. Editorial. Asociación Santiago de Las Atalayas, Corporinoquia, Bogotá*, 599p.

Adams R. (1995). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Illinois: Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 469p.

Alcântara, J., Yamaguchi, K., Silva, J. & Veiga-Junior, V. (2010). Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais das folhas e caules de *Rhodostemonodaphne parvifolia* Madriñán (Lauraceae). *Acta Amaz*, 0, 567-572.

Andrade, E., Zoghbi, M. & Maia, J. (2003). Volatiles from *Aniba terminalis* Ducke. *Journal of Essential Oil Research*, 15(2), 81-82.

Andrianoelisoa, H., Menut, C., de Chatelperron, P., Saracco, J., Ramanoelina, P. & Danthu, P. (2006). Intraspecific chemical variability and highlighting of chemotypes of leaf essential oils from *Ravensara aromatica* Sonnerat, a tree endemic to Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(5), 833-838.

Arroyo, R., Martínez, J., Fernández, J. & Álvarez, R. (2001). AFLP evaluation of genetic similarity among laurel populations (*Laurus* L.). *Euphytica*, 122(1), 155-164.

Ballabeni, V., Tognolini, M., Bertoni, S., Bruni, R., Guerrini, A., Rueda, G., & Barocelli, E. (2007). Antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from wild *Ocotea quixos*

(Lam.) Kosterm. (Lauraceae) calices from Amazonian Ecuador. *Pharmacological Research*, 55(1), 23-30.

Bandoni, A. (2000). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Argentina. Editorial Universidad Nacional de la Plata, 410p.

Barrera, E., & Suárez, L. (2007). Metabolitos con actividad biológica aislados de especies pertenecientes a la familia Lauraceae. *Scientia et Technica*, 13(33), 363-364.

Barrera, E. & Suárez, L. (2009). Aporphine alkaloids from leaves of *Ocotea macrophylla* (Kunth) (Lauraceae) from Colombia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(4), 522-524.

Bentham, G. & Hooker, J. (1880). *Genera Plantarum III*. Lovell Reeve & Co.: London, 220p.

Botega, C., Pagliosa, F., Bolzani, V., Yoshida, M. & Gottlieb, O. (1993). Benzylisoquinoline alkaloids and eudesmane sesquiterpenes from *Ocotea pulchella*. *Phytochemistry*, 32(5), 1331-1333.

Bremer, B., Bremer, K., Chase, M., Fay, M., Reveal, J., Soltis, D., ... & Stevens, P. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 161, 105–21.

Brieskorn, C. & Noble, P. (1983). Two furanoeudesmanes from the essential oil of *myrrh*. *Phytochemistry*, 22(1), 187-189.

Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M., Dehesa, M., ... & Sacchetti, G. (2004). Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chemistry*, 85(3), 415-421.

Catálogo de la Biodiversidad de Colombia. Disponible en <http://www.biodiversidad.co>. Consultado en [2017-05-10].

Chanderbali, A., Milliken, W., Klitgård, B. & Baracat, A. (2009). Neotropical Lauraceae. Milliken W, Klitgård B, Baracat A (2009 onwards) Neotropikey-Interactive key and information resources for flowering plants of the Neotropics. [http://www. Kew. org/science/tropamerica/neotropikey/families/Lauraceae. htm](http://www.Kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Lauraceae.htm).

Chanderbali, A., van der Werff, H. & Renner, S. (2001). Phylogeny and historical biogeography of Lauraceae: evidence from the chloroplast and nuclear genomes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 104-134.

Chang, S., Chen, P. & Chang, S. (2001). Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(1), 123-127.

Chao, L., Hua, K., Hsu, H., Cheng, S., Liu, J. & Chang, S. (2005). Study on the antiinflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(18), 7274-7278.

Chaverri, C. & Ciccío, J. (2005). Essential oil of trees of the genus *Ocotea* (Lauraceae) in Costa Rica. I. *Ocotea brenesii*. *Revista de Biología Tropical*, 53(3-4), 431-436.

Cheng, S., Liu, J., Tsai, K., Chen, W. & Chang, S. (2004). Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(14), 4395-4400.

Christenhusz, M. & Byng, J. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, 261(3), 201-217.

Ciccío, J., Chaverri, C. & Díaz, C. (2009). Volatile compounds of *Nectandra salicina* (Lauraceae) from Costa Rica and their cytotoxic activity on cell lines. *Química Nova*, 32(2), 417-420.

Colombia, S. I. B. (2012). Sistema de información sobre biodiversidad de Colombia. Disponible en <http://www.sibcolombia.net> Consultado en [2017-04-16].

Coy, E., Cuca, L. & Sefkow, M. (2009). Macrophyllin-type bicyclo [3.2.1] octanoid neolignans from the leaves of *Pleurothyrium cinereum*. *Journal of Natural Products*, 72(7), 1245-1248.

Coy, E., Cuca, L. & Sefkow, M. (2009). PAF-antagonistic bicyclo [3.2.1] octanoid neolignans from leaves of *Ocotea macrophylla* Kunth. (Lauraceae). *Phytochemistry*, 70(10), 1309-1314.

Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, 1262p.

Cunha, A., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., & Cunha, A. (2005). Fármacos aromáticos (plantas aromáticas e óleos essenciais). *Farmacognosia e Fitoquímica*, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 339-401.

Da Silva, J., Sousa, P., Andrade, E. & Maia, J. (2007). Antioxidant capacity and cytotoxicity of essential oil and methanol extract of *Aniba canelilla* (HBK) Mez. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9422-9426.

Da Silva, J., da Trindade, R., Maia, J. & Setzer, W. (2016). Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Essential Oils of *Endlicheria arenosa* (Lauraceae) from the Amazon. *Natural Product Communications*, 11(5), 695-698.

Davis, E. & Croteau, R. (2000). Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes, and diterpenes. *Biosynthesis*, 53-95.

De Jussieu, A., & Usteri, P. (1791). *Genera plantarum*. Disponible en: www.biodiversitylibrary.org/page/5437140#page/170/mode/1up consultado: mayo 2017 consultado [2017-05-16].

Degenhardt, J., Köllner, T. & Gershenzon, J. (2009). Monoterpene and sesquiterpene

synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70(15), 1621-1637.

Delgado, W., Cuca, L. & Caroprese, J. (2016). Composición química del aceite esencial de *Ocotea cymbarum* Kunth (cascarillo y/o sasafrás) de la región Orinoquia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(3), 248-260.

Delgado, W., & Cuca, L., (2016). Clasificación de extractos etanólicos de especies de la familia Lauraceae por cromatografía en capa fina bidimensional y análisis estadísticos multivariado CCD-2D/PCA-cluster. *Revista Colombiana de Química*, 45(1), 10-14.

Díaz, M., Pérez, M., & Cabezudo, M. (2002). Effect of drying method on the volatiles in bay leaf (*Laurus nobilis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4520-4524.

Fang, J., Chen, S. & Cheng, Y. (1989). Quantitative analysis of the essential oil of *Cinnamomum osmophloeum* Kanehira. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(3), 744-746.

Felsenstein J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.

Fernandes, J., Gottlieb, O. & Xavier, L. (1978). Chemosystematic implications of flavonoids in *Aniba riparia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 6(1), 55-58.

Fernández J. (2009). Flora de Santa María (Boyacá). Guía de campo de los géneros de Angiospermas. Serie Guías de campo del ICN, (4), 279p.

Ferreira, Z., Gottlieb, O. & Roque, N. (1980). Chemosystematic implications of benzyltetrahydroisoquinolines in *Aniba*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 8(1), 51-54.

Figueiredo, A. Barroso, J. Pedro, L. & Scheffer, J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(4), 213-226.

Flamini, G., Cioni, P. & Morelli, I. (2002). Differences in the fragrances of pollen and different floral parts of male and female flowers of *Laurus nobilis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4647-4652.

Funasaki, M., Lordello, A., Viana, A., Santa, C., Floh, E., Yoshida, M., & Kato, M. (2009). Neolignans and sesquiterpenes from leaves and embryogenic cultures of *Ocotea catharinensis* (Lauraceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(5), 853-859.

Gil, E., Cuca, L., & Delgado, W. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of the leaves of *Ocotea caudata* (Nees) Mez (Lauraceae) from Colombia. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 15(4), 258-263.

Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., & Portugal, H. (2006). Potentiation of antifungal activity of amphotericin B by essential oil from *Cinnamomum cassia*. *Phytotherapy Research*, 20(1), 58-61.

Gottlieb, O. (1972). Chemosystematics of the Lauraceae. *Phytochemistry*, 11(5), 1537-1570.

Gottlieb, O. (1982). Micromolecular evolution, systematics and ecology: an essay into a novel botanical discipline. Springer Science & Business Media, 170p.

Gottlieb, O. & Kubitzki, K. (1981). Chemosystematics of *Aniba*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 9(1), 5-12.

Grau, R., Zgolicz, P., Gutierrez, C. & Taher, H. (1999). Liquid phase hydrogenation, isomerization and dehydrogenation of limonene and derivatives with supported palladium catalysts. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 148(1), 203-214.

Grecco, S., Martins, E., Girola, N., de Figueiredo, C., Matsuo, A., Soares, M., ... & Lago, J. (2015). Chemical composition and in vitro cytotoxic effects of the essential oil from *Nectandra leucantha* leaves. *Pharmaceutical Biology*, 53(1), 133-137.

Guerrini, A., Sacchetti, G., Muzzoli, M., Moreno, G., Medici, A., Besco, E., & Bruni, R. (2006). Composition of the volatile fraction of *Ocotea bofo* Kunth (Lauraceae) calyces by GC-MS and NMR fingerprinting and its antimicrobial and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7778-7788.

Guo, S., Geng, Z., Zhang, W., Liang, J., Wang, C., Deng, Z., & Du, S. (2016). The Chemical Composition of Essential Oils from *Cinnamomum camphora* and Their Insecticidal Activity against the Stored Product Pests. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(11), 1836.

Hayashi, N., & Komae, H. (1980). Chemistry and distribution of sesquiterpene furans in Lauraceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 8(4), 381-383.

Hikino, H., Agatsuma, K., Konno, C., & Takemoto, T., (1970). Structure of furanodiene and isofuranogermacrene (curzerene). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 18(4), 752-755.

Hilu, K., Borsch, T., Müller, K., Soltis, D., Soltis, P., Savolainen, V., ... & Sauquet, H. (2003). Angiosperm phylogeny based on matK sequence information. *American Journal of Botany*, 90(12), 1758-1776.

Ho, C., Wang, E., Tseng, Y., Liao, P., Lin, C., Chou, J., & Su, Y. (2010). Composition and antimicrobial activity of the leaf and twig oils of *Litsea mushaensis* and *L. linii* from Taiwan. *Natural Product Communications*, 5(11), 1823-1828.

Huang, J., Li, L., van der Werff, H., Li, H., Rohwer, J., Crayn, D., ... & Li, J. (2016). Origins and evolution of cinnamon and camphor: A phylogenetic and historical biogeographical analysis of the *Cinnamomum* group (Lauraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 96, 33-44.

Hutchinson, J. (1964). The genera of flowering plants. *The genera of flowering plants. Dicotylédones. Vol. 1*, 516p.

Interaminense, L., de Siqueira, R., Xavier, F., Duarte, G., Magalhães, P., da Silva, J., ... & Lahlou, S. (2011). Cardiovascular effects of 1-nitro-2-phenylethane, the main constituent of the essential oil of *Aniba canelilla*, in spontaneously hypertensive rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 25(6), 661-669.

Jayaprakasha, G., Jagan Mohan L., & Sakariah, K. (2000). Chemical composition of the flower oil of *Cinnamomum zeylanicum* Blume. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4294-4295.

Jennings, W. (2012). *Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography*. Elsevier, 480p.

Joshi, S., Padalia, R., Bisht, D., & Mathela, C. (2009). Terpenoid diversity in the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species. *Chemistry & Biodiversity*, 6(9), 1364-1373.

Joshi, S., Verma, A., & Mathela, C. (2010). Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1), 37-40.

Joshi, S. (2014). Spectral characterization, stereochemical assignments and thermal rearrangements of naturally occurring furanogermacranes and furanoelemenes. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 4 (5), 24-31.

Kilic, A., Hafizoglu, H., Kollmannsberger, H., & Nitz, S. (2004). Volatile constituents and key odorants in leaves, buds, flowers, and fruits of *Laurus nobilis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1601-1606.

Kostermans, A. (1957). Lauraceae. *Reinwardtia*, 4(2), 193-256.

Kumar, S., Stecher G., and Tamura K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870-1874.

Li, L., Li, J., Conran, J., Li, X., & Li, H. (2007). Phylogeny of *Neolitsea* (Lauraceae) inferred from Bayesian analysis of nrDNA ITS and ETS sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 269(3), 203-221.

Linnaeus, C. (1753). *Species plantarum*, 2 vols. *Laurentii Salvii, Holmiae*. Disponible en: www.biodiversitylibrary.org/item/13829#page/1/mode/1up consultado: consultado [2017-05 15].

Lorenzo, D., Loayza, I., Leigue, L., Frizzo, C., Dellacassa, E., & Moyna, P. (2001). Asaricin, the main component of *Ocotea opifera* Mart. essential oil. *Natural Product Letters*, 15(3), 163-170.

Luz, A., da Silva, J., Zoghbi, M., Andrade, E., & Maia, J. (2002). Essential Oil from *Aniba riparia* (Nees) Mez. *Journal of Essential Oil Research*, 14(3), 218-219.

Macías, V., Cuca, L., & Coy, E. (2015). Genus *Nectandra*: "Phytochemistry and Biological Activity". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14(4), 317-342.

Madriñan, S. (2014). Lauraceae Colombianae. Universidad de los Andes. Disponible en: <https://botanica.uniandes.edu.co/investigacion/lauraceae.htm> Consultado en: [2016-06-23].

Madriñan, S., (2015). Universidad de los Andes.edu.co-Laboratorio de Botánica y sistemática. [citado 10 Feb 2015]. Disponible en: <http://botanica.uniandes.edu.co/investigacion/lauraceae.htm>.

Maia, J., & Andrade, E. (2009). Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. *Quimica Nova*, 32(3), 595-622.

Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Tuveri, E., Sanjust, E., Meli, M., ... & Rescigno, A. (2007). Supercritical CO₂ extract of *Cinnamomum zeylanicum*: Chemical characterization

and antityrosinase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(24), 10022-10027.

Massoni, J., Doyle, J., & Sauquet, H. (2015). Fossil calibration of Magnoliidae, an ancient lineage of angiosperms. *Palaeontologia Electronica*, 18(1), 1-25.

Meissner, C. Lauraceae. In: De Candolle, A. (1864). *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*, v. 15 (1). Paris: Sumptibus Victoris Masson et filii, 260p.

Mez, C. (1889). *Lauraceae americanae: monographice descripsit* (Vol. 5). Gebrüder Borntraeger (E. Engers). Disponible en: <http://www.biodiversitylibrary.org/item/52601#page/9/mode/1up> consultado: [2017-05-19].

Moerkercke, A., Schauvinhold, I., Pichersky, E., Haring, M., & Schuurink, R. (2009). A plant thiolase involved in benzoic acid biosynthesis and volatile benzenoid production. *The Plant Journal*, 60(2), 292-302.

Monzote, L., García, M., Montalvo, A., Scull, R., & Miranda, M. (2010). Chemistry, cytotoxicity and antileishmanial activity of the essential oil from *Piper auritum*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(2), 168-173.

Muhlemann, J., Klempien, A., & Dudareva, N. (2014). Floral volatiles: from biosynthesis to function. *Plant, Cell & Environment*, 37(8), 1936-1949.

Nadkarni, N., Schaefer, D., Matelson, T., & Solano, R. (2002). Comparison of arboreal and terrestrial soil characteristics in a lower montane forest, Monteverde, Costa Rica. *Pedobiologia*, 46(1), 24-33.

National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; (1988) – [cited 2017 May 06]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Neesvon Esenbeck, C. (1836). *Systema laurinarum*. (www.biodiversitylibrary.org/item/9516#page/1/mode/1up consultado mayo 2017).

Nei M. & Kumar S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York, 333p.

Pabon, L., & Cuca, L. (2010). Aporphine alkaloids from *Ocotea macrophylla* (Lauraceae). *Química Nova*, 33(4), 875-879.

Palazzo, M., Agius, B., Wright, B., Haber, W., Moriarity, D., & Setzer, W. (2009). Chemical compositions and cytotoxic activities of leaf essential oils of four Lauraceae tree species from Monteverde, Costa Rica. *Records of Natural Products*, 3(1), 32.

Palomino, E., Maldonado, C., Kempff, M., & Ksebati, M. (1996). Caparratriene, an active sesquiterpene hydrocarbon from *Ocotea caparrapi*. *Journal of Natural Products*, 59(1), 77-79.

Pan, P., Cheng, M., Peng, C., Huang, H., Chen, J., & Chen, I. (2010). Secondary metabolites from the roots of *Litsea hypophaea* and their antitubercular activity. *Journal of Natural Products*, 73(5), 890-896.

Parthasarathy, V., Chempakam, B., & Zachariah, T. (Eds.). (2008). *Chemistry of spices*. Cabi, 455p.

Pax, F. (1889). Lauraceae. in A. Engler & K. Prantl (editors), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, vol. III. Engelmann, Leipzig, 106-126.

Penagos, J. & Madriñán S. (2017). En Bernal, R., Gradstein, S. & Celis, M. (eds.). 2015. *Catálogo de plantas y líquenes de Colombia*. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. <http://catalogoplantasdecolombia.unal.edu.co>.

Pham, V., Do, Q., & Do, T. (2009). Chemical composition of essential oil of *Machilus Japonica* Siebold & Zucc. (Lauraceae) from Vietnam. *VNU Journal of Science, Natural Sciences and Technology*, 25 81-83.

Pino, J., Rodríguez, D., Beldarraín, T., & Blandariz, S. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Nectandra antillana* Meisn. leaves from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 26(5), 359-362.

Prieto, J., Pabón, L., Patiño, O., Delgado, W., & Cuca, L. (2010). Constituyentes químicos, actividad insecticida y antifúngica. *Revista Colombiana de Química*, 39(2), 199-209.

Rali, T., Wossa, S., & Leach, D. (2007). Comparative chemical analysis of the essential oil constituents in the bark, heartwood and fruits of *Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm. (Lauraceae) from Papua New Guinea. *Molecules*, 12(2), 149-154.

Raven, P., & Axelrod, D. (1974). Angiosperm biogeography and past continental movements. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 61(3), 539-673.

Renner, S. (2011) Laurales. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester Disponible en: <http://www.els.net/WileyCDA/>. Consultado [2012-05-10].

Richter, H. (1981). Anatomie des sekundären Xylems und der Rinde der Lauraceae. *Sonderbande des Naturwiss. Vereins Hamburg*, 5, 148p.

Rohwer, J. (1993). Lauraceae. In *Flowering Plants. Dicotyledons*. Springer Berlin Heidelberg. p. 366-391.

Rohwer, J. (2000). Toward a phylogenetic classification of the Lauraceae: evidence from matK sequences. *Systematic Botany*, 25(1), 60-71.

Rohwer, J., & Kubitzki, K. (1993). Ecogeographical differentiation in *Nectandra* (Lauraceae), and its historical implications. *Plant Biology*, 106(1), 88-99.

Rohwer, J., De Moraes, P., Rudolph, B., & Van der Werff, H. (2014). A phylogenetic analysis of the *Cryptocarya* group (Lauraceae), and relationships of *Dahlgrenodendron*, *Sinopora*, *Triadodaphne*, and *Yasunia*. *Phytotaxa*, 158(2), 111-132.

Rohwer, J., & Rudolph, B. (2005). Jumping Genera: The Phylogenetic Positions of *Cassytha*, *Hypodaphnis*, and *Neocinnamomum* (Lauraceae) Based on Different Analyses of *trnK* Intron Sequences. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 92(2), 153-178. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/3298512>.

Romoff, P., Ferreira, M., Padilla, R., Toyama, D., Fávero, O., & Lago, J. (2010). Chemical composition of volatile oils from leaves of *Nectandra megapotamica* Spreng. (Lauraceae). *Química Nova*, 33(5), 1119-1121.

Salleh, W., Ahmad, F., & Yen, K. (2015). Chemical compositions and biological activities of the essential oils of *Beilschmiedia madang* Blume (Lauraceae). *Archives of pharmacal research*, 38(4), 485-493.

Sampaio, L., Maia, J., Parijós, A., Souza, R., & Barata, L. (2012). Linalool from rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) oil inhibits adenylate cyclase in the retina, contributing to understanding its biological activity. *Phytotherapy Research*, 26(1), 73-77.

Scora, R., & Ahmed, M. (1993). Terpenes of *Persea tolimanensis* (Lauraceae), an ancestor of the Guatemalan avocados. *Journal of agricultural and food chemistry*, 41(11), 1971-1973.

Simakova, I., Solkina, Y., Deliy, I., Wärnå, J., & Murzin, D. (2009). Modeling of kinetics and stereoselectivity in liquid-phase α -pinene hydrogenation over Pd/C. *Applied Catalysis A: General*, 356(2), 216-224.

Simić, A., Soković, M., Ristić, M., Grujić, S., Vukojević, J., & Marin, P. (2004). The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. *Phytotherapy Research*, 18(9), 713-717.

Stevens, P. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012 Disponible en: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> consultado [2017-05-15].

Takaku, S., Haber, W., & Setzer, W. (2007). Leaf essential oil composition of 10 species of *Ocotea* (Lauraceae) from Monteverde, Costa Rica. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(8), 525-532.

Taveira, F., da Silva, M., & Maia, J. (2003). Essential Oil of *Aniba puchury-minor* (Mart.) Mez Occurring in the Amazon. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 6(1), 27-30.

Telascrea, M., de Araújo, C., Marques, M., Facanali, R., de Moraes, P., & Cavalheiro, A. (2007). Essential oil from leaves of *Cryptocarya mandioccana* Meisner (Lauraceae): Composition and intraspecific chemical variability. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(4), 222-232.

The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; Disponible en: <http://www.theplantlist.org/> consultado [2017-05-20].

Toribio, A., Bonfils, A., Delannay, E., Prost, E., Harakat, D., Henon, E., ... & Renault, J. (2006). Novel seco-Dibenzopyrrocoline Alkaloid from *Cryptocarya oubatchensis*. *Organic Letters*, 8(17), 3825-3828.

Torras, J., Grau, M., López, J., & de las Heras, F. (2007). Analysis of essential oils from chemotypes of *Thymus vulgaris* in Catalonia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(12), 2327-2333.

Torres, A., Ricciardi, G., Agrelo de Nassif, A., Ricciardi, A., & Dellacassa, E. (2005). Examen del aceite esencial de *Nectandra angustifolia* (Schrad.) Nees & Mart. ex Nees. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas–Universidad Nacional del Nordeste*, E-013, 1-3.

Unlu, M., Ergene, E., Unlu, G., Zeytinoglu, H., & Vural, N. (2010). Composition, antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3274-3280.

van der Werff, H. (1991). A key to the genera of Lauraceae in the New World. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 377-387.

van der Werff, H., & Richter, V. (1996). Toward an improved classification of Lauraceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 409-418.

Vargas, W. (2002). Guía ilustrada de las plantas de las montañas del Quindío y los Andes Centrales. Universidad de Caldas, 813p.

Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3-19.

Wink, M. (2011). Annual Plant Reviews, Biochemistry of Plant Secondary Metabolism (Vol. 40). John Wiley & Sons, 445p.

Yamaguchi, K., Veiga-Junior, V., Pedrosa, T., Vasconcellos, M., & Lima, E. (2013). Biological activities of essential oils of *Endlicheria citriodora*, a methyl geranate-rich Lauraceae. *Química Nova*, 36(6), 826-830.