

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA ALANTOÍNA A PARTIR DE FLORES DE *Cordia alba* (Jacq)

ISOLATION AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF ALLANTOIN FROM FLOWERS OF *Cordia alba* (Jacq)

MARÍA GABRIELA COVA¹, HELLEN BRUZUAL¹, OSCAR CRESCENTE¹, GUSTAVO LIENDO²,
ALEXANDER BRICEÑO³, WILLIAN HENRÍQUEZ GUZMÁN¹

Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Química, ¹Laboratorio de Productos Naturales, ²Laboratorio de Nuevos Materiales, Cumaná, Venezuela, ³Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Centro de Química, Laboratorio de Síntesis y Caracterización de Nuevos Materiales, Caracas, Venezuela
E-mail: whenriquez66@gmail.com

RESUMEN

A partir de extractos metanólicos de flores de *Cordia alba* (Plantae: Boraginaceae) se aisló la alantoína en forma cristalina. Esta fue caracterizada estructuralmente mediante análisis de resonancia magnética nuclear uni y bidimensional, difracción de rayos X de cristal único y espectrometría de masas mediante ionización por electronebulización. La existencia de alantoína en *C. alba* justifica el uso etnobotánico de especies de *Cordia* como cicatrizante en la medicina folclórica. Además, esto demuestra que la alantoína es un posible marcador quimiotaxonómico en este género vegetal.

PALABRAS CLAVE: Cordianina, marcador quimiotaxonómico, estructura cristalina.

ABSTRACT

From methanolic extracts of flowers of *Cordia alba* (Plantae: Boraginaceae), allantoin was isolated in crystalline form. It was structurally characterized by analysis of uni- and two-dimensional nuclear magnetic resonance, single crystal X-ray diffraction and mass spectrometry using electrospray ionization. The existence of allantoin in *C. alba* justifies the ethnobotanical use of *Cordia* species as a healing agent in folk medicine. Results shows that allantoin is a possible chemotaxonomic marker in this vegetable genus.

KEY WORDS: Cordianine, chemotaxonomic scoreboard, crystal structure.

INTRODUCCIÓN

El género *Cordia* pertenece a la familia Boraginaceae, formada por unas 300 especies distribuidas en todo el mundo, principalmente en las regiones más cálidas (Thirupathi *et al.* 2008). Muchas especies de *Cordia* son utilizadas en la medicina tradicional como cicatrizante, astringente, anti-inflamatorio, antihelmíntico, antipalúdico, antidiurético, febrífugo, supresor del apetito y la tos, además para el tratamiento de infecciones urinarias y lepra (Agnihotri *et al.* 1987, Sertié *et al.* 1990, Kuppast y Nayak 2006, Thirupathi *et al.* 2008, Al-Musayeib *et al.* 2011). Varios tipos de compuestos como flavonoides (Wang *et al.* 1996, Al-Musayeib *et al.* 2011), terpenos (Jane *et al.* 2001, Bina *et al.* 2006), saponinas (Renata *et al.* 2003, 2007), alcaloides (Parks *et al.* 2010) y ácidos grasos (Geller *et al.* 1997), que poseen una amplia gama de bioactividades han sido aislados de diferentes órganos de plantas del género *Cordia*. La presencia de algunos de estos compuestos confirman la utilización de diferentes especies del género *Cordia* en la medicina tradicional (Ioset *et al.* 2000, Jean-Robert *et al.* 2000, Menezes *et al.* 2005, Afzal *et al.* 2007, Mori *et al.* 2008, Ferrari

et al. 2011). La especie *Cordia alba* (Jacq), es comúnmente conocida por sus frutos de color blancuzco con una pulpa clara, jugosa, comestible ligeramente dulce con un jugo mucilaginoso que se emplea como pegamento (Méndez 2000). Las hojas, además, se utilizan en la medicina casera como emolientes, sus flores en infusión como expectorante y sudorífico, mientras que el fruto en cocimiento es antidiarreico (Font Quer 1973, Méndez 2000, Acero 2005, Chízmar 2009). Esta planta es muy común en los alrededores de Cumaná, particularmente en las áreas de drenajes y al lado de los caminos (Torres 1968). En el presente estudio se aisló la alantoína (también llamada 5-ureidohidantoína, glioxildiureído o cordianina) a partir de un extracto metanólico de flores de *Cordia alba*, este es su primer reporte sobre el aislamiento de esta fuente vegetal, siendo una contribución fitoquímica al conocimiento de los constituyentes de esta planta, además respalda su denominación como marcador quimiotaxonómico en este género vegetal, en correlación con Tapondjou *et al.* (2005) y Peña-Andrade (2007). La alantoína es farmacológicamente activa, ejerce efectos benéficos para la piel, tales como regenerador celular en heridas con recuperación lenta,

especialmente osteomielitis (Saito 1984), suavizante, calmante y queratolítico (Moore y Wilkinson 1990). Además, es el producto final del metabolismo de degradación de las bases de purina en animales como reptiles, aves y algunos mamíferos, no obstante, el hombre no la excreta debido a la falta de la enzima uricasa (Chen 1996). Sin embargo, se encuentran rastros de esta sustancia en la sangre humana, debido a la oxidación del ácido úrico, ya que es un importante antioxidante y neutralizador de radicales libres para los seres humanos (Meadows y Smith 1986). Adicionalmente, se expenden cremas con base en alantoína (0,5-2,0%) como productos farmacéuticos para la piel, que promueven la cicatrización de los tejidos dentro del cuerpo, protegen a los tejidos en el estómago, acelerando los procesos de curación de éste y de los intestinos (Xu *et al.* 2011). Además, en combinación con otras sustancias terapéuticas, la alantoína sinergiza su actividad farmacológica, reduciendo sus efectos secundarios, ampliando su acción farmacológica en productos comerciales usados como antitranspirantes y astringentes (Klippel y Margraf 1974), bronceadores o bloqueadores solares y blanqueadores de la piel (Mecca 1975) y dispositivos poliméricos en prótesis de válvulas e injertos arteriales de diámetro pequeño para evitar la formación de trombos e infecciones en las mismas (Margraf 1976).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las flores de la planta *Cordia alba* (Jacq) fueron recolectadas en las adyacencias de la autopista Antonio José de Sucre, Cumaná-estado Sucre-Venezuela, entre julio y agosto de 2010. La identificación de la planta fue realizada por comparación con especímenes depositados en el herbario Isidro Ramón Bermúdez Rodríguez (IRBR) del Departamento de Biología, Núcleo de Sucre de la Universidad de Oriente. El material vegetal secado a temperatura ambiente y a la sombra, fue pulverizado en un molino eléctrico, macerado en metanol y el filtrado concentrado a presión reducida para obtener los extractos crudos. Los extractos crudos resuspendidos en metanol fueron tratados con acetato de plomo acuoso al 4% y dejado en reposo por 24 h, se filtró y la solución resultante fue concentrada a presión reducida. Adicionalmente, a la solución acuosa resultante le fueron realizadas biparticiones orgánicas con cloroformo y n-butanol, para obtener fracciones primarias en cada solvente, además de un remanente acuoso. En el remanente acuoso, secado espontáneamente a temperatura ambiente, se formaron cristales amarillos en forma tubular que por lavados sucesivos con metanol y posterior recristalización en agua bidestilada a ebullición y enfriamiento lento se

obtuvieron cristales de alantoína.

Los análisis espectroscópicos de los cristales de alantoína aislados fueron realizados en un espectrómetro Bruker Advance de 500 MHz para análisis de Resonancia Magnética Nuclear de protones (RMN ^1H) y experimentos bidimensionales, mientras que para RMN ^{13}C se usó un espectrómetro Bruker advance de 300 MHz. La recolección de los datos de intensidad se llevó a cabo con un difractor de cuatro círculos Rigaku AFC7S equipado con un detector de área bidimensional, operando con radiación $\text{Mo K}\alpha$ ($\lambda = 0,7107 \text{ \AA}$) monocromada por un cristal de grafito. La estructura cristalina se resolvió usando el programa CrystalClearTM 1.3.6 SP2 (Copyright © 2006-2009, Rigaku Americas Corporation) y se refinó con el programa SHELXTL V5.2 (Bruker SHELXTL-NT 1998). Las posiciones atómicas y los parámetros de desplazamientos fueron utilizados para realizar las representaciones gráficas de la estructura con el programa DIAMOND 2.1e (Brandenburg 1996-2001). Los análisis de espectrometría de masas mediante ionización por electrospray (ESI-MS) fueron realizados en un espectrómetro de masas cuadrupolar (QMS) Finnigan TSQ Quantum Thermo Scientific-Scientific instruments. El punto de fusión fue determinado en un fusiómetro Thermolyne (Dubuque, Iowa. USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los extractos crudos tratados con acetato de plomo al 4% acuoso, se obtuvieron mediante biparticiones con cloroformo masas de 0,1140 y 0,3482 g, de la flor-1 (FCF1), flor-2 (FCF2), respectivamente, con rendimientos en masas de 2,07%, 3,62%, respecto al extracto crudo. Además, masas de 0,9686 y 0,3361 g para las biparticiones en n-butanol de la flor-1 (FBF1) y flor-2 (FBF2), respectivamente, con rendimientos de 17,62%; 3,50%, respecto al extracto crudo. Además, un remanente acuoso de la flor-1, del cual se aisló un compuesto cristalino de color amarillo, incoloro una vez recristalizado en agua, presentó un punto de fusión de 240-242°C y masa de 0,2276 g. Este compuesto fue analizado por RMN, ESI/MS y difracción de rayos-X de cristal único para su identificación.

Análisis espectroscópicos

Análisis de resonancia magnética nuclear (RMN)

El espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO d_6) de los cristales de alantoína aislados muestra señales con desplazamientos químicos (δ , ppm) en todas las regiones del espectro. A campo bajo,

presenta tres señales que integran para un protón, dos en forma de singulete con δ 10,49 y 8,04 ppm, y un doblete con δ 6,89 ppm ($J = 8,01$ Hz). A campo intermedio se observa un singulete con δ 5,78 ppm, que integra para dos protones y un doblete con δ 5,24 ppm ($J = 8,01$ Hz), que integra para un protón. Esta última señal de protón se acopla con la señal de protones con δ 6,89 ppm, siendo estas las únicas correlaciones entre protones vecinales en el espectro. Los desplazamientos químicos observados sugieren la conectividad de protones a átomos muy electronegativos, principalmente átomos de nitrógeno, por dar el compuesto positivo con el

reactivo de Dragendorff. El espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO d_6) muestra cuatro señales, tres de ellas con desplazamientos químicos (δ) a campo bajo (173,62, 157,43 y 156,81 ppm) correspondientes a carbonos de grupos carboxílicos tipo amida y la otra señal a campo alto con δ de 62,46 ppm. Dos de las tres señales que aparecen a campo bajo corresponden a carbonos unidos a átomos electronegativos donadores de densidad electrónica por efecto de resonancia que causan apantallamiento del núcleo de carbono, como nitrógeno, de acuerdo con los valores de desplazamiento químico (157,43 y 156,81 ppm) (Tabla 1).

Tabla 1. Desplazamientos químicos (ppm) de las señales de RMN de la alantoina, 500 MHz, DMSO d_6 .

	δ ^1H , ppm (H, mult, J=Hz)		δ ^{13}C , ppm	Grupo
H1	5,78 (2H, s)			-NH ₂
		C1	173,62	C=O
H2	6,89 (1H, d, $J = 8,1$)			-NH
		C2	156,81	C=O
H3	10,49 (1H, s)			-NH
		C3	62,46	-CH
H4	8,04 (1H, s)			-NH
		C4	157,43	C=O
H5	5,24 (1H, d, $J = 8,1$)			-CH

El experimento de correlación homonuclear COSY H-H (500 MHz, DMSO d_6), sólo evidencia correlación entre los protones H5 y H2. De manera similar, hay un acoplamiento entre los protones H5 y H4, no obstante, la señal H4 se observa como un singulete, sugiriendo un acoplamiento débil a larga distancia en forma de W. Los protones H3 y H1 no presentan correlación en este espectro. En el experimento de correlación cuántica múltiple heteronuclear C-H, HMQC (500 MHz, DMSO d_6), sólo exhibe conectividad entre H5 y C3, confirmando lo observado en el espectro de carbono, en el cual, tres de las cuatro señales corresponden a carbonos carboxílicos tipo amida, indicando que H1, H2, H3 y H4 están unidos a átomos de N. El experimento de correlación heteronuclear a larga distancia H-C, HMBC (500

MHz, DMSO d_6), generó un espectro en el que se observan doce señales; un carbono carboxílico (C1, δ 173,62 ppm) que interacciona con los protones H4, H5 y H2, las dos primeras correlaciones son a dos enlaces y la tercera a tres enlaces. Existen otras correlaciones, a dos enlaces entre C4 (δ 157,43 ppm) con los protones H1 y H2 y otra a tres enlaces con H5. También, se observan correlaciones entre otro carbono carboxílico C2 (δ 156,81 ppm) con los protones H4, H5, H1 y H2 a dos, tres y a cuatro enlaces, esta última en forma W. Un carbono metilénico asimétrico C3 (δ 62,46 ppm) muestra conectividad directa con H5, además de interacciones con los protones H4 y H1 a tres y cuatro enlaces (esta última en forma W), así como una interacción vecinal a tres enlaces con H2, enlazado a nitrógeno (Tabla 2).

Tabla 2. Correlaciones homonuclear (COSY H-H) y heteronuclear (HMQC y HMBC), 500 MHz, DMSO d_6 , de las señales de RMN de la alantoina.

	^1H	COSY	HMQC	HMBC
	δ ^1H (ppm)	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
H4	8,04 (s)	5,24 (d)	-	156,81; 173,62 y 62,46
H5	5,24 (d)	6,89 (d) y 8,04 (s)	62,46	173,62; 156,81 y 157,43
H2	6,89 (s)	5,24 (d)	-	156,81; 62,46; 173,62 y 157,43
H1	5,78 (s)	-	-	157,43 y 62,46

Los resultados espectroscópicos de RMN permitieron establecer las diferentes conectividades H-C en la estructura de la alantoina y denotarlos con números para su mejor

comprensión. El desplazamiento químico de H3, enlazado a N3, se debe a que forma interacción puente de hidrógeno con el oxígeno unido al C4, esto se debe a que en solución hay menor

restricción de rotación de enlace. Esto es reforzado en el espectro HMBC donde se observa fuerte interacción H-C, a su vez el C4 interacciona con los protones H1 y H2, enlazados a N1 y N2, respectivamente. Sugiriendo la cercanía entre ambos grupos de protones e indicando la existencia de un resto ureido $-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ en la molécula. El protón H4, unido a N4, no genera interacción en el espectro HMQC. Sin embargo, presenta correlaciones a larga distancia en el espectro HMBC con los carbonos carboxílicos C1 y C2, esto indica interacciones vecinales tipo imida; a su vez, ambos carbonos interaccionan con el H5 enlazado a C3. Esto supone una estructura cíclica de cinco miembros que incluye al nitrógeno (N3) enlazado al protón H3. Además, se determinó la unión del residuo ureido $-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ con el carbono metilénico asimétrico C3, $-\text{CH}-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$, para dar lugar a la estructura de la alantoína. Las interacciones observadas indican

un anillo heterocíclico de 5 miembros propio de una hidantoína.

Estos resultados de RMN están en concordancia con lo reportado por Ferreira *et al.* (2000) para la alantoína, que señalan la ausencia de interacciones entre H5 y el protón vecinal H3 debida a la conformación que mantiene un ángulo diedro alrededor de 90° entre ellos, explicando lo observado en este estudio en cuanto a la inexistencia de acoplamiento entre ambos protones. En otro orden de ideas, la conformación estructural de la alantoína, es justificada por los acoplamientos tipo W entre los protones H4 y H5, una interacción poco común de observar en un espectro COSY. Además de la correlación observada en el espectro HMBC entre el carbono C3 y H1; y la correlación entre C2 y H2. Previo a este estudio no ha habido reporte del aislamiento y caracterización de alantoína de la planta *Cordia alba* (Fig. 1).

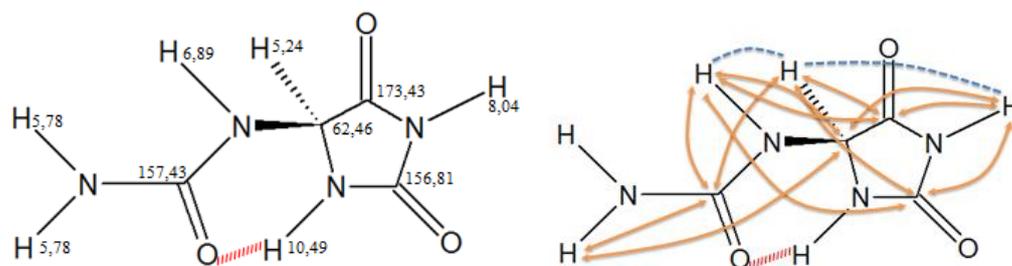


Figura 1. Estructura química de la alantoína deducida de datos espectroscópicos de RMN. (Izquierda) desplazamientos químicos (ppm) e interacción puente de hidrógeno (enlace punteado rojo), (Derecha) correlaciones establecidas mediante espectroscopia de correlación COSY (líneas punteadas azules), HMQC (enlace punteado negro) y HMBC (líneas curvas con doble punta de flecha).

Análisis por espectrometría de masas

El espectro de masas mediante ionización por electrospray (siglas en inglés, ESI-MS) presenta el pico del ion molecular en modo de ion negativo (M-1), con relación m/z de 156,96 uma, confirma la masa molar de la alantoína, $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3$ (158 g/mol). Otros iones derivados del ion molecular tienen relación m/z de 179,09 y 192,97 uma, corresponden a la formación de aductos de la alantoína con iones sodio y cloruro, respectivamente. También, se observa un pico de un ion con m/z 314,99, concordante con el doble de la masa de la alantoína (2M-1), esto sugiere la formación de un dímero por interacción puente de hidrógeno intermolecular entre moléculas de alantoína en solución. El análisis de ESI-MS/MS del ion molecular generó iones fragmentos con relaciones m/z de 114,09 $[\text{M}-\text{NH}_2\text{CO}]^-$, 97,00 $[\text{M}-1-\text{NH}_2\text{COHNH}]^-$, 70,75 $[\text{C}_2\text{NO}_2]^-$, 59,11 $[\text{NH}_2\text{CONH}]^-$ y 43,98 $[\text{H}_2\text{NCO}]^-$, 42,16 $[\text{NCO}]^-$.

Análisis por difracción de rayos-X de cristal único

Los datos cristalográficos de la alantoína indican que cristaliza en el sistema cristalino monoclinico con grupo espacial $P2_1/C$ y parámetros de la celda unidad: $a = 8,040(2) \text{ \AA}$, $b = 5,155(14) \text{ \AA}$, $c = 14,819(5) \text{ \AA}$, y $\beta = 93,03^\circ$. La tabla 3 muestra un resumen del resultado del refinamiento de la estructura cristalina de la alantoína.

La unidad asimétrica de la estructura cristalina, con desplazamientos anisotrópicos a un nivel de probabilidad de 50% se detalla en la Figura 2. Estructuralmente la unidad asimétrica consiste en un anillo de cinco miembros, con conformación semi-silla distorsionada, con un centro quiral con configuración R. La rigidez impuesta por el grupo amido entre los átomos C4 y N2 hace que el anillo heterocíclico y el átomo N1 se encuentren en posición *trans*. Esta rigidez hace posible la interacción de enlace de hidrógeno

entre el O1 y el H3.

Tabla 3. Datos cristalográficos y detalles del refinamiento de la estructura cristalina de la alantoína aislada de *Cordia alba*.

Parámetros	Experimental
Fórmula empírica	C ₄ H ₆ N ₄ O ₃
Masa molecular	158,13
Temperatura (K)	293
Longitud de onda (Å)	0,71070
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /C
Dimensiones de celda unitaria	a = 8,0410 (2) Å; α = 90 ° b = 5,1549 (14) Å; β = 93,03(1) ° c = 14,819 (5) Å; γ = 90 °
Volumen (Å ³)	614,25571
Z, Factor ocupacional	4
Densidad calculada (mg/cm ³)	1,71228
Coefficiente de absorción (mm ⁻¹)	0,147
F (000)	328
Tamaño del cristal (mm)	0,397 x 0,324 x 0,184
Rango theta para recolección de datos	2,54 ° a 27,86 °
Índices limitantes	-9 ≤ h ≤ 9, -5 ≤ k ≤ 4, -16 ≤ l ≤ 16
Reflexiones recolectadas/única	5041 / 1179 [R(int) = 0,0463]
Método de refinamiento	Full-matrix least-squares on F ²
Goodness-of-fit on F ²	1,096
índices R finales [I > 4σ(I)]	R ₁ = 0,0500, wR ₂ = 0,1266
Índices R (todos los datos)	R ₁ = 0,0701

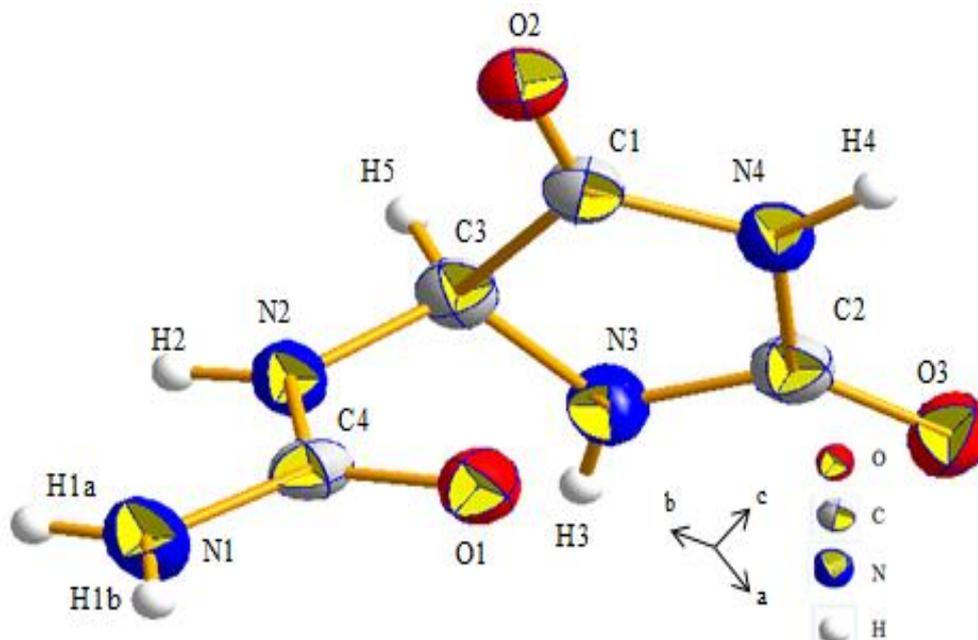


Figura 2. Estructura molecular de la alantoína, con elipsoides térmicos a un nivel de probabilidad de 50%.

El arreglo extendido de la alantoína se mantiene por una intrincada red de interacciones de enlace de hidrógeno intermoleculares, en las que participan tres átomos de oxígeno carboxílicos, un grupo imido, y cuatro átomos de hidrógeno amídicos. Estas interacciones generan un ensamblaje supramolecular en forma de "S" en

una dimensión a lo largo del eje c (Fig. 3). Así mismo, entre los ensamblajes unidimensionales, se observan interacciones enlace de hidrógeno entre los átomos de un apilamiento con átomos del apilamiento vecino, incrementando la estabilidad y completando así el arreglo tridimensional de la estructura cristalina.

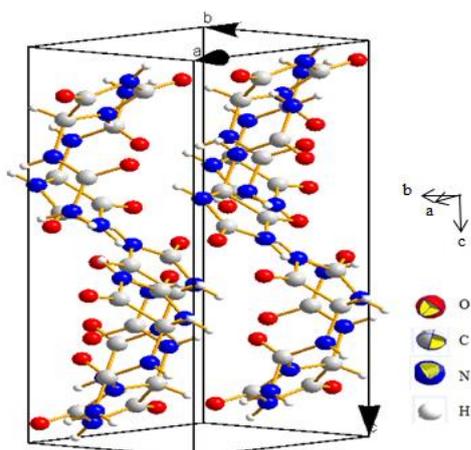


Figura 3. Apilamiento cristalino en forma de "S" de moléculas de alantoína dentro de la celda unidad, a lo largo del eje c, inducido por interacciones de enlace puente hidrógeno.

Las distancias de las interacciones de enlace de hidrógeno en el arreglo en una dimensión de la estructura cristalina de la alantoína son $N2-H2\cdots O3 = 2,7565 (6) \text{ \AA}$, $N1-H1b\cdots O2 = 2,6192 (8) \text{ \AA}$ y $H1a\cdots O2 = 3,1018 (8) \text{ \AA}$, estas dos últimas interacciones de enlace de hidrógeno son del tipo bifurcado, donde el grupo aceptor (O) puede enlazarse a la vez a más de un grupo donador (NH_2). Las distancias de las interacciones enlace de hidrógeno observadas entre arreglos unidimensionales individuales son $N3-H3\cdots O1 = 2,1089 (5) \text{ \AA}$, y $N2-H2\cdots O1 = 3,4610 (9) \text{ \AA}$ (Fig. 4).

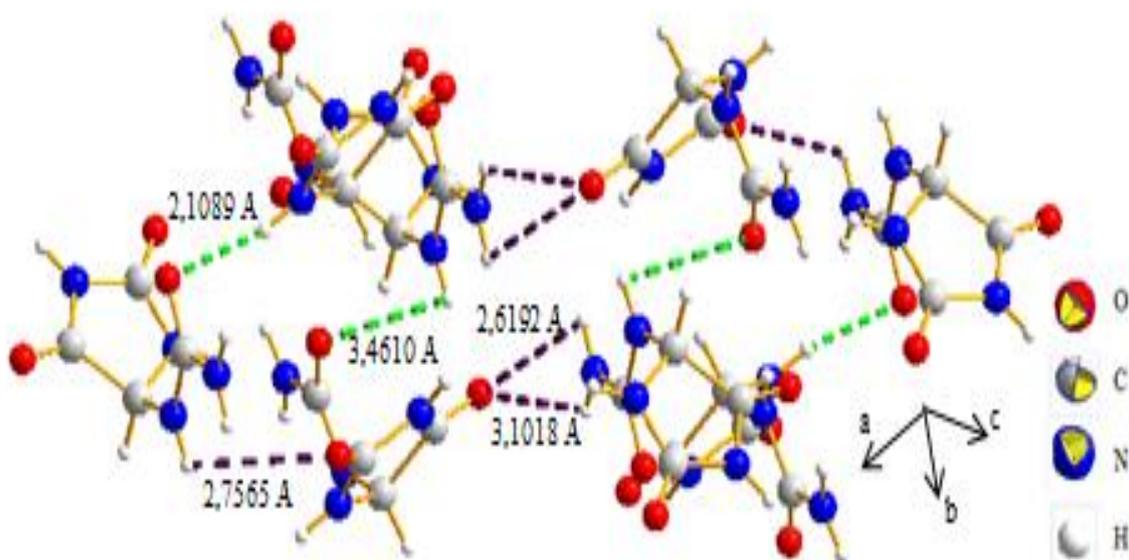


Figura 4. Interacciones puente de hidrógeno intermoleculares en moléculas de alantoína entre átomos de oxígeno carbonílicos y protones amidas en cadenas de diferentes apilamientos (verde) y entre moléculas para formar un mismo apilamiento (morado).

La extensiva estabilización de la arquitectura cristalina de la alantoína mediante interacciones de enlace de hidrógeno, entre los grupos polares amida y carboxilo, genera la arquitectura

supramolecular en tres dimensiones en las que se pueden observar canales claramente definidos que se extienden a lo largo del eje cristalográfico *a* (Fig. 5a) y *b* (Fig. 5b).

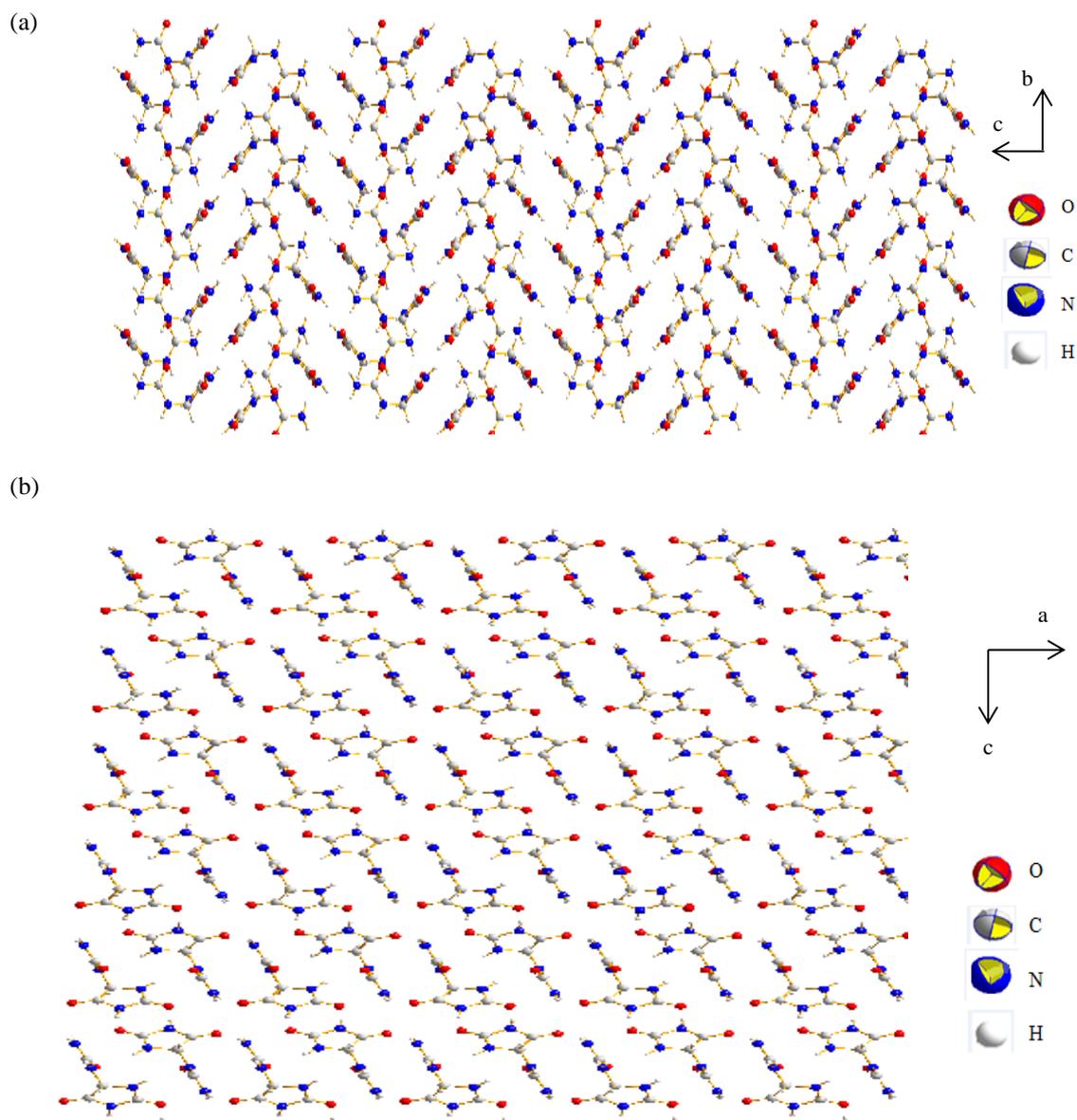


Figura 5. Empaquetamiento de las moléculas de alantoína a lo largo de las direcciones cristalográficas. (a) Arreglos extendidos de la estructura cristalina de la alantoína en el plano bc , (b) Arreglos extendido de la estructura cristalina de la alantoína en el plano ac .

Los datos cristalográficos de la alantoína aislada son comparables a los reportados en investigaciones previas (Mootz 1965), donde se encontró una conformación alrededor del enlace C3-N2 que dirige al átomo de O1 por encima del anillo heterocíclico, adoptando la molécula una geometría tipo escorpión, que dificulta la interacción enlace de hidrógeno entre O1 y H3, propuesta mediante análisis de RMN. Esto, probablemente, se debe a que, en solución la libre rotación del resto ureido de la molécula facilita que el átomo O1 interactúe con H3, permitiendo la formación de un enlace de hidrógeno que es evidenciada por el desplazamiento químico en el espectro de RMN de ^1H . Mientras que en estado sólido la molécula de alantoína tiene una mayor restricción de rotación de enlace, situándose estos átomos en ángulos a mayor distancia, adoptando

una configuración más estable en la que las tensiones torsionales y angulares son mínimas, lo cual es observándose por DR-X de cristal único.

CONCLUSIONES

La presencia de alantoína en flores de *Cordia alba* sustenta el uso de este género vegetal en la medicina tradicional como cicatrizante. Además, esto corrobora que es un marcador quimiotaxonomico del género *Cordia*. La alantoína aislada tiene configuración absoluta R en su único centro quiral, forma redes moleculares en forma de S mediante interacciones puente de hidrógeno intermolecular en estado sólido, así como también interacciones puente de hidrógeno en estado líquido, determinadas de los diferentes datos espectroscópicos de DR-X, RMN y ESI-

MS, aspectos que no han sido descritos para esta sustancia que le confieren alta estabilidad a la molécula.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACERO L. 2005. Plantas útiles de la cuenca del Orinoco. Ecopetrol y Corporinoquia. Bogotá, Colombia, pp. 605.
- AFZAL MC, OBUEKWE A, KHAN R, BARAKAT H. 2007. Antioxidant activity of *Cordia myxa* L. and its hepatoprotective potential. Electron J. Environ. Agric. Food Chem. 6(6): 2109-2118.
- AGNIHOTRI V, SRIVASTAVA S, SRIVASTAVA S, PITRE S, RUSIA K. 1987. Constituents of *Cordia obliqua* as potential anti-inflammatory agents. Indian J. Pharm. Sci. 49(2):66-69.
- AL-MUSAYEIB N, PERVEEN S, FATIMA I, NASIR M, HUSSAIN A. 2011. Antioxidant, Anti-Glycation and Anti-Inflammatory Activities of Phenolic Constituents from *Cordia sinensis*. Molecules. 16(12):10214-10226.
- BINA S, SOBIYA P, SABIRA B. 2006. Two new abietane diterpenes from *Cordia latifolia*. Tetrahedron. 62(43):10087-10090.
- BRANDENBURG K. 1996-2001. DIAMOND, version 2.1e. Cristal Import Gbr. Alemania.
- BRUKER SHELXTL-NT. 1998. BRUKER SHELXTL-NT Version 5.1. Bruker Axs Inc. USA.
- CHEN X. 1996. Determination of allantoin in biological, cosmetic and pharmaceutical samples. J. AOAC Int. 79(3): 625-635.
- CHÍZMAR C. 2009. Plantas comestibles de Centroamérica. 1ª edición. Instituto Nacional de Biodiversidad, INBio. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica, pp. 360.
- FERRARI F, MONACHE F, COMPAGNONE R, OLIVERI M. 2011. Chemical constituents of *Cordia latifolia* and their nematocidal activity. Chem. Biodiv. 8(5):850-861.
- FERREIRA D, ALVARES P, HOUGHTON P, BRAZ-FILHO R. 2000. Constituintes químicos das raízes de *pyrostegia venustae* considerações sobre a sua importância medicinal. Quim. Nova. 26(1):42-46.
- FONT QUER P. 1973. Plantas Medicinales. El Dioscórides Renovado". Labor, España, pp. 45-562.
- GELLER F, SCHMIDT C, GOTTEERT M, FRONZA M, SCHATTEL V, HEINZMANN B, WERZ O, FLORES E, MERFORT I, LAUFER S. 1997. Identification of rosmarinic acid as the major active constituent in *Cordia americana dentata* flowers. Fitoterapia. 68(1):88.
- IOSET J, MARSTON A, GUPTA M, HOSTETTSMANN K. 2000. Antifungal and larvicidal compounds from the root bark of *Cordia alliodora*. J. Nat. Prod. 63(3):424-426.
- JANE E, TELMA L, EDILBERTO R, RAIMUNDO B, OTÍLIA D, TRICHOTOMOL. 2001. A New Cadinenediol from *Cordia trichotoma*. J. Braz. Chem. Soc. 12(6):787-790.
- JEAN-ROBERT I, ANDREW M, MAHABIR P, KURT H. 2000. Antifungal and larvicidal cordiaquinones from the roots of *Cordia curassavica*. Phytochem. 53(5):613-617.
- KLIPPEL A, MARGRAF H. 1974. Anti-microbial compositions utilizing allantoin compounds and complexes. U.S. Pat. No. 3,830,908.
- KUPPAST I, NAYAK P. 2006. Wound healing activity of *Cordia dichotoma* Forst. f. fruits. Nat. Prod. Rad. 5(2):103-107.
- MARGRAF H. 1974. Silver zinc allantoin complex. U.S. Pat. No. 3,856,805.
- MARGRAF H. 1976. Silver-heparin-allantoin complex. U.S. Pat. No. 3,932,627.
- MEADOWS J, SMITH R. 1986. Uric acid protection of nucleobases from ozone-induced degradation. Arch. Biochem. Biophys. 246(2):838-845.
- MECCA S. 1975. Topical composition containing an allantoin ascorbic acid complex. U.S. Pat. No. 3,954,989.
- MÉNDEZ J. 2000. Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina. Proyecto de semillas forestales: Danida Forest Seed Centre. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE. Turrialba, Costa Rica, pp. 204.
- MENEZES J, LEMOS T, PESSOA O, BRAZ-FILHO R, MONTENEGRO R, WILKE D, COSTA-LOTUFO L, PESSOA C, MORAES M, SILVEIRA E. 2005. A cytotoxic meroterpenoid benzoquinone

- from roots of *Cordia globosa*. *Planta Med.* 71(1):54-58.
- MOORE R, WILKINSON J. 1990. *Cosmetología de Harry*. Segunda edición. Ediciones Días de Santos, S.A. Madrid, España. pp. 1062.
- MOOTZ D. 1965. The crystal structure of DL-allantoin. *Acta Crystallogr.* 19(5):726-734.
- MORI K, KAWANO M, FUCHINO H, OOI T, SATAKE M, AGATSUMA Y, KUSUMI T, SEKITA S. 2008. Antileishmanial compounds from *Cordia fragrantissima* collected in Burma (Myanmar). *J. Nat. Prod.* 71(1):18-21.
- PARKS J, GYELTSHEN T, PRACHYAWARAKORN V, MAHIDOL C, RUCHIRAWAT S, KITTA KOOP P. 2010. Glutarimide alkaloids and a terpenoid benzoquinone from *Cordia globifera*. *J. Nat. Prod.* 73(5):992-994.
- PEÑA-ANDRADE N. 2007. *Química y Farmacología de Cordia collococca* (Boraginaceae). Maracaibo: Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias [Disertación Grado Licenciado en Química], pp. 76.
- RENATA P, FRANCISCO A, TELMA L, EDILBERTO R, RAIMUNDO B, OTILIA D. 2003. Structure elucidation and total assignment of ^1H and ^{13}C NMR data for a new bisdesmoside saponin from *Cordia piauhiensis*. *Magn. Reson. Chem.* 41(9):735-738.
- RENATA P, EDILBERTO R, DANIEL E, OTILIA D, FRANCISCO A, RAIMUNDO B. 2007. ^1H and ^{13}C NMR spectral data of new saponins from *Cordia piauhiensis*. *Magn. Reson. Chem.* 45(8):692-694.
- SAITO M. 1984. *Farmacognosia de Cordia ecalyculata* Vell. (Boraginaceae). São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas [Disertação Mestrado em Controle de Medicamentos e Matérias Primas], pp. 154.
- SERTIÉ J, BASILE A, PANIZZA S, MATIDA A, ZELNIK R. 1990. Anti-inflammatory activity and sub-acute toxicity of artemetin. *Planta Med.* 56(1):36-40.
- TAPONDJOU L, MITAINE A, SAUTOUR M, MIYAMOTO T, LACAILE M. 2005. Sphingolipids and other constituents from *Cordia platythyrsa*. *Biochem. Syst. Ecol.* 33(12):1293-297.
- THIRUPATHI K, SATHESH KUMAR S, RAJU V, RAVIKUMAR B, KRISHNA D, KRISHNA MOHAN G. 2008. A review of medicinal plants of the genus *Cordia*: Their chemistry and pharmacological uses. *J. Nat. Remed.* 8(1):1-10.
- TORRES A. 1968. *Algunas plantas leñosas de Cumaná*. Editorial Universidad de Oriente, Eudoriente. Cumaná, Venezuela, pp. 134.
- WANG Y, OHTANI K, KASAI R, YAMASAKI K. 1996. Flavonol glycosides and phenolics from leaves of *Cordia dichotoma*. *Nat. Med.* 50(5):367.
- XU B, SUNG C, HAN B. 2011. Crystal Structure Characterization of Natural Allantoin from Edible Lichen *Umbilicaria esculenta*. *Crystals.* 1(3):128-135.