

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA COMPOSICIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS ACEITES ESENCIALES EXTRAÍDOS DE *Lippia alba*, *Lippia organoides* y *Phyla dulcis*, ESPECIES DE LA FAMILIA *Verbenaceae*

RESUMEN

Se determinó por GC-MS la composición química de los aceites esenciales de dos quimiotipos de *Lippia alba*, citral y carvona; *Lippia organoides* y *Phyla dulcis*. Se evaluó la actividad antioxidante de cada uno de los aceites, como una medida de la capacidad antirradicalaria. Adicionalmente, se evaluaron la citotoxicidad en células Vero y las actividades antifúngica, antiparasitaria y antibacteriana. Los resultados obtenidos permitieron establecer que el aceite de *L. organoides*, fue la mezcla más promisorio, debido a su alta actividad en los diferentes ensayos biológicos, y su capacidad antirradicalaria, y a ser un aceite esencial no tóxico.

PALABRAS CLAVES: Aceite esencial, *Lippia alba*, *Lippia organoides*, *Phyla dulcis*, citotoxicidad, capacidad antirradicalaria, actividad antimicrobiana

ABSTRACT

The chemical compositions of the essential oils of Lippia organoides, Phyla dulcis, and of two chemotypes of Lippia alba, were determined by GS-MS. The radical scavenging capacity of the oils was determined as a measure of their antioxidant activity. Additionally, the cytotoxicity towards Vero cells and the antimicrobial, antiparasitic and antibacterial activities were evaluated. The results obtained allowed to establish that the oil of Lippia organoides was the most promising mixture, due to its high activity in the different biological tests, its radical scavenging capacity, and its very low toxicity.

KEY WORDS: Essential oils, *Lippia alba*, *Lippia organoides*, *Phyla dulcis*, cytotoxicity, radical scavenging capacity, antimicrobial activity

1. INTRODUCCIÓN

La familia *Verbenaceae* presenta extensa distribución en zonas tropicales y subtropicales, amplia diversidad de usos y variedad en la composición de sus aceites esenciales. La composición de cada una de las esencias, determina sus propiedades físicas, organolépticas, químicas y biológicas, y por ende, las aplicaciones comerciales de las mismas [1]. El objeto del estudio fue identificar la relación existente entre la composición química de los aceites esenciales de *Lippia alba* (quimiotipos citral y carvona), *Lippia organoides* y *Phyla dulcis*, sus citotoxicidad y actividades antioxidante, antifúngica, antibacteriana, y antiparasitaria.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Material vegetal

El material vegetal empleado (10-12 plantas por cada especie) fue colectado en la zona de cultivos experimentales del CENIVAM, en el campus principal

CLARA NATHALIA CELIS

Estudiante de Química
Universidad Industrial de Santander

PATRICIA ESCOBAR RIVERO

Bacterióloga, Ph. D.
Profesora Escuela de Bacteriología
Universidad Industrial de Santander
pescobar@uis.edu.co

JOSÉ HIPÓLITO ISAZA

Químico, Ph. D.
Director Grupo Polifenoles
Universidad Tecnológica de Pereira
jhim@utp.edu.co

ELENA STASHENKO

Química, Ph. D.
Directora CENIVAM
Universidad Industrial de Santander
elena@tucan.uis.edu.co

JAIRO RENÉ MARTÍNEZ

Químico, Ph. D.
Profesor Titular
Universidad Industrial de Santander
rene@tucan.uis.edu.co

de la Universidad Industrial de Santander. La identificación taxonómica de cada una de las especies fue desarrollada por el doctor J. L. Fernández en el Herbario Nacional Colombiano, y los pliegos testigo fueron depositados como muestra permanente.

2.2 Extracción del aceite esencial

Los aceites se obtuvieron por hidrodestilación asistida por la radiación de microondas, según la metodología descrita por Stashenko [2]

2.3. Análisis cromatográfico

La caracterización química de los aceites esenciales se desarrolló, usando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), en un cromatógrafo *Agilent Technologies 6890 Plus Series GC System* acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies 5973 Network*, con analizador cuadrupolar, en una columna DB-5MS, con fase estacionaria de 5% -fenilpoli(dimetilsiloxano) (60m×0.25mm×0.25µm).

2.4 Actividad antioxidante

La determinación se realizó siguiendo a 514 nm la cinética de las reacciones del radical DPPH[•] con cada uno de los aceites esenciales [3]. La capacidad antirradicalaria se expresó como el EC₅₀ (mg de aceite/mg de DPPH[•], necesarios para reducir a la mitad la cantidad inicial del radical presente). En la **Tabla 1** se ilustran los valores determinados para los aceites esenciales estudiados.

2.5 Actividad biológica

Las pruebas de citotoxicidad en células Vero (**Tabla 2**) y antiparasitaria en promastigotes de *Leishmania chagasi* fueron realizados en el Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, CINTROP, Universidad Industrial de Santander (**Tabla 3**). Los ensayos de actividad antibacteriana fueron desarrollados en el Grupo de Polifenoles de la Universidad Tecnológica de Pereira.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aceites esenciales se clasificaron según las familias de compuestos presentes en mayor proporción, así: el aceite de *L. alba*, quimiotipo carvona, contiene ca. 35% de monoterpenos oxigenados, entre los cuales las cetonas cíclicas constituyen el grupo más abundante, representado por carvona, piperitenona y piperitona; el aceite del quimiotipo citral de *L. alba* presentó, de igual forma, un importante contenido de monoterpenos oxigenados, los cuales constituyen el 67% de la esencia y, de ellos el citral, una mezcla de aldehídos α,β -insaturados representan el 42%. Por otra parte, el aceite de *L. origanoides* contiene un 56% de compuestos fenólicos, timol y carvacrol. La composición del aceite de *Phyla dulcis* se caracterizó por la presencia de sesquiterpenos (63%), entre los cuales se destacan *trans*- β -cariofileno y d-cadineno, entre otros.

ACEITE ESENCIAL	EC ₅₀ (mg de AE/ mg de DPPH [•])*
<i>Lippia alba</i> , quimiotipo carvona	289
<i>Lippia alba</i> , quimiotipo citral	305
<i>Phyla dulcis</i>	8.47
<i>Lippia origanoides</i>	6.0

* Promedio de dos mediciones \pm s.

Tabla 1. Resultados de la capacidad antirradicalaria.

La capacidad antirradicalaria de cada uno de los aceites, determinada como una medida de la actividad antioxidante, permitió identificar la esencia de *L. origanoides*, como la mezcla con mayor capacidad antirradicalaria, la cual se debe principalmente a la

presencia de compuestos fenólicos. Sin embargo, su efecto antirradicalario fue menor que el presentado por el antioxidante de referencia, *i.e.* a-tocoferol, el cual presentó un EC₅₀ de 0.25 mg/mg de DPPH[•].

ACEITE ESENCIAL	CÉLULAS VERO CL ₅₀ (μ g/mL)
<i>Lippia alba</i> , quimiotipo carvona	48.27
<i>Lippia alba</i> , quimiotipo cítrico	30.6
<i>Phyla dulcis</i>	20.96
<i>Lippia origanoides</i>	>100
Nifurtimox (sustancia de referencia)	27.54

Tabla 2. Resultados de citotoxicidad en células vero.

El ensayo de citotoxicidad en células Vero, mostró toxicidad elevada para el aceite de *Phyla dulcis*, siendo incluso más alta que la del nifurtimox, lo que confirma los efectos nocivos de los sesquiterpenos presentes en la mezcla. El aceite de *Lippia origanoides* no presentó toxicidad alguna, mientras que los aceites de los dos quimiotipos de *L. alba*, fueron parcialmente tóxicos. Estos resultados, permiten relacionar la presencia de compuestos fenólicos con la baja toxicidad del aceite esencial de *L. origanoides*, lo que lo hace apto para el consumo humano.

ACEITE ESENCIAL	PROMASTIGOTES DE <i>Leishmania chagasi</i> (μ g/mL)	
	CI ₅₀	CI ₉₀
<i>Lippia alba</i> , quimiotipo carvona	>100	>100
<i>Lippia alba</i> , quimiotipo citral	18.88	54.14
<i>Phyla dulcis</i>	37.30	>100
<i>Lippia origanoides</i>	13.39	26.74

Tabla 3. Concentraciones inhibitorias en promastigotes de *L. chagasi*.

Los resultados de actividad inhibitoria en promastigotes de *Leishmania chagasi* demostraron la efectividad de los aceites de *Lippia origanoides* y *Lippia alba*, quimiotipo citral, mientras el aceite de *L. alba*, quimiotipo carvona, fue parcialmente activo, y la esencia de *Phyla dulcis* careció completamente de actividad. Los datos obtenidos, permiten establecer una relación directamente proporcional entre la capacidad de los aceites de inhibir el desarrollo de promastigotes de *L. chagasi*, y el contenido tanto de compuestos fenólicos, como de aldehídos α,β -insaturados, y una relación inversa entre la respuesta inhibitoria y el contenido de cetonas cíclicas en la mezcla (*L. alba*, quimiotipo carvona).

Finalmente, el aceite de *L. origanoides* fue el único con efectos bacteriostáticos, en *Escherichia coli*, *Salmonella tiphymurium* y *Staphylococcus aureus*, en concentraciones superiores a las concentraciones activas para la amoxicilina, presentando una actividad cercana al 40% de la actividad del antibiótico, para cada bacteria.

4. CONCLUSIONES

El aceite de *L. origanoides*, presentó los resultados más promisorios, la mayor capacidad antirradicalaria, el mayor rendimiento de extracción y el más amplio espectro de actividad biológica, el cual es debido principalmente a su contenido de compuestos fenólicos.

5. AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue desarrollado con el apoyo financiero de COLCIENCIAS, a través de la Unión Temporal CENIVAM (Contrato RC-432-2004).

6. BIBLIOGRAFÍA

[1] BANDONI, A. (Ed), Los recursos vegetales aromáticos en latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores, 1ª edición, La Plata, 2000, p.p. 29-43, 94-96, 149-171, 197-232.

[2] STASHENKO, E.E.; JARAMILLO, B.E.; MARTÍNEZ, J.R., Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity, *J. Chromatogr. A*, 2004, 1025, p.p. 93-103.

[3] BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Food Sci. Technol. Int.*, 1995, 28, p.p.25-3