

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA  
DE LOS ACEITES ESENCIALES DE DIEZ PLANTAS AROMÁTICAS  
COLOMBIANAS**

**MARTHA LUCÍA CASTAÑEDA MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2007**

**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA  
DE LOS ACEITES ESENCIALES DE DIEZ PLANTAS AROMÁTICAS  
COLOMBIANAS**

**MARTHA LUCÍA CASTAÑEDA MUÑOZ**

**Trabajo de grado presentado como requisito  
parcial para optar al título de Química.**

**Directora:**

**Elena E. Stashenko, Química, Ph.D.**

**Co-Director:**

**Jairo René Martínez, Químico, Ph.D.**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2007**

## DEDICATORIA

*A Dios, por la salud, la vida y todas sus bendiciones.*

*A mi mami Martha, mi ejemplo a seguir.*

*A mis abuelos María y Alfonso, por los valores inculcados.*

*A mi tía Yael, mi ángel de la guarda.*

*A mis tíos Alfonso y Bárbara, mis segundos padres.*

*A mis hermanos Diana y Cristian, el corazón de mi vida.*

*A toda mi familia, por ser el motor que impulsa mis sueños.*

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra Elena Stashenko le expreso mi admiración por ser un excelente ejemplo de mujer y le agradezco por compartir con nosotros su conocimiento, por su perseverancia, consejos, esmero y dedicación en mi trabajo, los cuales me impulsaron a cumplir mis sueños y me enseñaron que con trabajo duro y tenacidad se pueden cumplir todas las metas.

Al Dr. Jairo Rene Martínez gracias por sus aportes y recomendaciones, los cuales también fueron una guía importante en el desarrollo de mis metas.

A Conciencias, a CENIVAM, al Grupo de Investigación en Infección y Cáncer, de la Universidad de Antioquia, al Grupo de Química Ambiental y Computacional, de la Universidad de Cartagena y al Laboratorio de Cromatografía por todo su apoyo económico y logístico en la realización de este proyecto.

A mi familia, gracias por su apoyo incondicional, por su comprensión y todo el cariño que me han dado, sin ustedes este sueño jamás se habría consumado. A mi mami, Alfonso, Chelín, Barbie, Yaya, Paolo, Milene, Ando, Carlos, Ñaña, María, Cris, Kika, Mercedes, Linda y Yael, sus sueños son mis sueños, gracias por dejarme vivir.

A Ferney, mi novio y la persona mas incondicional del mundo. A la Familia Fuentes Morelo, por su cariño y apoyo, se convirtieron en un pilar importante de mi vida.

A Alejandro Niño, Liliana, María M., Héctor, María S., Rigo, Mareo y todos aquellos que por años me ofrecieron su amistad y me apoyaron en esta etapa.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio (Amner, Geo, Martica C., Agri, Lola, Edwin, Chechi, Leti, Sayde, Olgis, Adri, Elkin, Andrea, Angela, etc.) gracias por todos los momentos y el apoyo que mi brindaron.

## RESUMEN

### TÍTULO: ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE DIEZ PLANTAS AROMÁTICAS COLOMBIANAS\*

**Autor:** Martha Lucía Castañeda Muñoz\*\*

**Palabras Claves:** Aceite esencial, *Lippia alba*, *Lippia organoides*, *Lippia micromera*, *Piper auritum*, *Piper bredemeyeri*, *Piper eriopodon*, *Hedyosmum racemosum*, *Calycolpus moritzianus*, *Conyza bonariensis*, *Hyptis mutabilis*, antioxidante, citotoxicidad, antimicótico, DPPH\*, ABTS\*\*.

Desde la antigüedad se ha conocido que los aceites esenciales (AE) de plantas aromáticas y medicinales presentan actividades biológicas notables, e.g. propiedades antifúngicas, antibacteriales y antioxidantes. En el presente estudio se analizaron los AE de 11 plantas aromáticas colombianas recolectadas en las 4 colectas botánicas de CENIVAM en 2005. Los AE fueron obtenidos por hidrodestilación asistida por radiación de microondas (MWHD) y analizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), utilizando dos columnas (DB-5 y DB-Wax).

El análisis comparativo de los AE indicó que la composición química de los AE fue muy variada, aunque la mayoría de ellos contenía algunos metabolitos secundarios volátiles comunes. Los compuestos más abundantes identificados en los AE obtenidos por MWHD fueron: *Lippia organoides* (*p*-cimeno, 15,7%) *Lippia organoides* (carvacrol, 36,6%), *Lippia micromera* (timol, 29,1%), *Lippia alba* (citról, 47,9%), *Piper auritum* (safrol, 91,3%), *Piper bredemeyeri* ( $\beta$ -pineno, 32,3%), *Piper eriopodon* (*dill* apiol, 38,8%), *Calycolpus moritzianus* (eucaliptol, 20,4%), *Hyptis mutabilis* (fenchona, 17,1%), *Conyza bonariensis* (*trans*- $\beta$ -cariofileno, 8,1%) y *Hedyosmum racemosum* (sabineno, 21,2%).

Se determinó la actividad antioxidante de los AE utilizando los métodos de decoloración del radical DPPH\* y del catión-radical ABTS\*\* y se evaluaron los resultados de las actividades antimicótica y citotóxica de los AE. Finalmente, se estableció una relación matemática entre la composición química de los AE y las actividades biológicas evaluadas, mediante modelos estadísticos de regresión lineal múltiple usando el *software* STATISTICA 6.0.

\* Trabajo de grado.

\*\* Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de química. Directora, Elena Stashenko.

## ABSTRACT

**TITLE:** CHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF TEN AROMATIC SPECIES GROWN IN COLOMBIA

**Author:** Martha Lucía Castañeda Muñoz\*\*

**Keywords:** Essential oil, *Lippia alba*, *Lippia organoides*, *Lippia micromera*, *Piper auritum*, *Piper bredemeyeri*, *Piper eriopodon*, *Hedyosmum racemosum*, *Calycolpus moritzianus*, *Conyza bonariensis*, *Hyptis mutabilis*, antioxidant, cytotoxicity, antifungal, DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>.

Four botanical collections performed by the Research Center of Excellence CENIVAM in 2005, provided samples of 10 different aromatic plants that grow in the wild in Colombia. Their essential oils were obtained by microwave-assisted hydrodistillation (MWHHD), and analyzed by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS), on polar and non-polar chromatographic columns (DB-5 and DB-Wax).

The comparative analysis of the essential oils indicated that their chemical composition was very varied, but most of them contained some common volatile secondary metabolites. The most abundant compounds identified were *p*-cimene (*Lippia organoides*, 15.7%), carvacrol (*Lippia organoides*, 36.6%), thymol (*Lippia micromera*, 29.1%), citral (*Lippia alba*, 47.9%), safrole (*Piper auritum*, 91.3%),  $\beta$ -pinene (*Piper bredemeyeri*, 32.3%), dill apiole (*Piper eriopodon*, 38.8%), eucalyptol (*Calycolpus moritzianus*, 20 , 4%), fenchone (*Hyptis mutabilis*, 17.1%), *trans*- $\beta$ -caryophyllene (*Conyza bonariensis*, 8.1%) and sabinene (*Hedyosmum racemosum*, 21.2%).

The antioxidant activity of the essential oils was determined using the decoloration methods based on the DPPH<sup>•</sup> radical and the ABTS<sup>•+</sup> radical-cation. Multiple linear regression models relating the chemical composition of the essential oils with their biological activities were proposed and evaluated.

\* College thesis.

\*\* Industrial University of Santander, Science Faculty, School of Chemistry.  
Director, Elena E. Stashenko.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. ESTADO DEL ARTE	5
1.1. ACEITES ESENCIALES	5
1.2. METABOLISMO SECUNDARIO	11
1.3. HIDRODESTILACIÓN ASISTIDA POR LA RADIACIÓN DE MICROONDAS	15
1.4. CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS	17
1.5. CONTROL DE CALIDAD DE LOS AE	20
1.6. COMERCIO MUNDIAL DE LOS AE	23
1.7. ESTRÉS OXIDATIVO	26
1.8. ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	27
1.9. ANTIOXIDANTES	28
1.9.1. Antioxidantes sintéticos	30
1.9.2. Antioxidantes naturales	31
1.10. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD AO	32
1.11. OTRAS ACTIVIDADES BIOLÓGICAS	34
1.12. PLANTAS AROMÁTICAS COLOMBIANAS BAJO ESTUDIO	37
1.12.1. <i>Calycolpus moritzianus</i>	37
1.12.2. <i>Lippia micromera</i>	37
1.12.3. <i>Lippia origanoides</i>	38
1.12.4. <i>Lippia alba</i>	40
1.12.5. <i>Hyptis mutabilis</i>	42
1.12.6. <i>Conyza bonariensis</i>	43
1.12.7. <i>Piper auritum</i>	44
1.12.8. <i>Piper bredemeyeri</i>	46
1.12.9. <i>Piper eriopodon</i>	46
1.12.10. <i>Hedyosmum racemosum</i>	47

2. CIENCIOMETRÍA	49
2.1. <i>Lippia origanoides</i>	50
2.2. <i>Lippia micromera</i>	53
2.3. <i>Lippia alba</i>	55
2.4. <i>Piper auritum</i>	59
2.5. <i>Hyptis mutabilis</i>	63
2.6. <i>Calycolpus moritzianus</i>	67
2.7. <i>Conyza bonariensis</i>	68
3. PARTE EXPERIMENTAL	74
3.1. MATERIALES Y REACTIVOS	74
3.2. RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	75
3.3. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA	79
3.4. OBTENCIÓN DE LOS AE	80
3.5. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA	81
3.6. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD AO	84
3.6.1. Ensayo de decoloración del radical DPPH*	85
3.6.2. Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS**	86
3.7. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA	87
3.8. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA	88
3.9. CONSTRUCCIÓN DE MODELOS	89
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	90
4.1. OBTENCIÓN DE LOS AE POR MWHD	90
4.2. ANÁLISIS POR GC-MS DE LOS AE	91
4.2.1. <i>Lippia micromera</i>	91
4.2.2. <i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo <i>p</i> -Cimeno)	95
4.2.3. <i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo Carvacrol)	100
4.2.4. <i>Lippia alba</i>	104
4.2.5. <i>Piper auritum</i>	108
4.2.6. <i>Piper bredemeyeri</i>	111
4.2.7. <i>Piper eriopodon</i>	115
4.2.8. <i>Hyptis mutabilis</i>	119

4.2.9. <i>Conyza bonariensis</i>	124
4.2.10. <i>Hedyosmum racemosum</i>	129
4.2.11. <i>Calycolpus moritzianus</i>	133
4.3. ACTIVIDAD AO DE LOS AE	140
4.3.1. Ensayo de decoloración del radical DPPH <sup>•</sup>	140
4.3.2. Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS <sup>+•</sup>	1149
4.4. ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE LOS AE	153
4.5. CITOTOXICIDAD DE LOS AE	156
4.6. CONTRUCCIÓN DE MODELOS	159
5. CONCLUSIONES	169
6. RECOMENDACIONES	173
BIBLIOGRAFÍA	174
ANEXOS	196

## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

<b>ABTS</b>	<i>2,2'-Azino-bis-(3-Ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid</i> [Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbezotiazolin)-6-sulfónico]
<b>ABTS<sup>•+</sup></b>	<i>2,2'-Azino-bis-(3-Ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid radical-cation</i> [Cación-radical del ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbezotiazolin)-6-sulfónico]
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AE</b>	Aceite(s) esencial(es)
<b>AFST</b>	<i>Antifungal Susceptibility Testing</i> (Pruebas de Susceptibilidad Antifúngica)
<b>AG</b>	Ácido(s) graso(s)
<b>AO</b>	Antioxidante(s)
<b>AN</b>	Ácido(s) nucleico(s)
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ARP</b>	<i>Antiradical Power</i> (Poder antirradical)
<b>BHA</b>	Butil hidroxianisol
<b>BHT</b>	Butil hidroxitolueno
<b>°C</b>	Grado(s) <i>Celsius</i>
<b>ca.</b>	<i>Circa</i> (aproximadamente)
<b>CENIVAM</b>	Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales
<b>CIBIMOL</b>	Centro de Investigación en Biomoléculas
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentración Letal Media
<b>CLSI</b>	<i>Clinical Laboratory Standards Institute</i> (Instituto Estándar de Laboratorio Clínico)
<b>DB-5MS</b>	<i>5%-Phenyl-poly(dimethylsiloxane)</i> [Fase estacionaria de 5%-fenil-poli(dimetil-siloxano)]
<b>DB-WAX</b>	<i>Poly(ethylenglycol)</i> [Fase estacionaria de poli(etilenglicol)]
<b>D.I.</b>	Diámetro interno, mm

<b>d<sub>f</sub></b>	Espesor de la fase estacionaria, $\mu\text{m}$
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dosis Letal Media
<b>DMAPP</b>	<i>Dimethylallyl pyrophosphate</i> (Dimetilalil pirofosfato)
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DPPH<sup>•</sup></b>	<i>2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical</i> (Radical 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo)
<b>DS</b>	<i>Data System</i> (Sistema de datos)
<b>EC</b>	mg de Antioxidante por mg de DPPH <sup>•</sup>
<b>EC<sub>50</sub></b>	Concentración efectiva correspondiente al 50% de DPPH <sup>•</sup> remanente
<b>EI</b>	<i>Electrón Impact</i> (Impacto de electrones)
<b>ERO</b>	Especie(s) reactiva(s) de oxígeno
<b>EUCAST</b>	<i>European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing</i> (Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobial)
<b>e.g.</b>	<i>Exempli Gratia</i> (Por ejemplo)
<b>Ev</b>	Electrón-voltio(s)
<b>FAO</b>	<i>Food and Agriculture Organization</i> (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)
<b>Fundacofan</b>	Fundación Colombiana para la Farmacia Natural
<b>g</b>	Gramo(s)
<b>GC</b>	<i>Gas Chromatograph</i> (Cromatógrafo de gases o Cromatografía de gases, según el contexto)
<b>GC-MS</b>	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas)
<b>HMGR</b>	3-Hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa
<b>HNC</b>	Herbario Nacional Colombiano (UN, Bogotá)
<b>I<sub>k</sub></b>	Índices de Kováts
<b>IPP</b>	<i>Isopentenyl pyrophosphate</i> (Isopentil pirofosfato)
<b>i.e.</b>	<i>In Exempli</i> (o sea, es decir)
<b>ISO</b>	<i>International Organization for Standardization</i> (Organización Internacional para la Estandarización)
<b>L</b>	Longitud, m

<b>LC</b>	Límite de confianza
<b>m</b>	Metro(s)
<b>M<sup>+</sup></b>	Ion molecular
<b>MEP</b>	<i>Methylerythritol phosphate</i> (Fosfato de metileritrol)
<b>MIC</b>	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (Concentración mínima inhibitoria)
<b>min</b>	Minuto(s)
<b>MLR</b>	<i>Multiple Linear Regression</i> (Regresión lineal múltiple)
<b>mm</b>	Milimetro(s)
<b>MS</b>	<i>Mass Spectrometry, Mass Spectrum, Mass Spectra</i> [Espectrometría de masas, espectro(s) de masas, según el contexto]
<b>MSD</b>	<i>Mass Selective Detector</i> (Detector Selectivo de masas)
<b>MWHD</b>	<i>Microwave-Assisted Hydro-Distillation</i> (Hidrodestilación asistida por radiación de microondas)
<b>msnm</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>m/z</b>	Relación masa/carga
<b>n</b>	Índice de refracción
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>PAL</b>	<i>Phenylalanine ammonia lyase</i> (Fenilalanina amoníaco lipasa)
<b>PDMS</b>	<i>Poly(dimethylsiloxane)</i> [Poli(dimetilsiloxano)]
<b>p.eb.</b>	Punto de ebullición
<b>PEG</b>	<i>Poly(ethyleneglycol)</i> [Poli(etilenglicol)]
<b>p.f.</b>	Punto de fusión
<b>P.M.</b>	Peso molecular
<b>% (p/p)</b>	Porcentaje peso a peso
<b>PG</b>	Galato de propilo
<b>PFNM</b>	Productos forestales no maderables
<b>RDA</b>	Retro Diels-Alder
<b>TIC</b>	<i>Total Ion Current</i> (Corriente iónica total)

<b>t<sub>R</sub></b>	Tiempo de retención, min.
<b>Trolox<sup>®</sup></b>	<i>6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acid</i> (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico)
<b>ton</b>	Tonelada(s)
<b>UV-VIS</b>	<i>Ultraviolet-Visible</i> (Ultravioleta-visible)
<b>VIS</b>	<i>Visible</i> (Visible)
<b>W</b>	<i>Watt(s)</i> [Vatio(s)]
<b>μL</b>	Microlitro(s)
<b>μm</b>	Micrometro(s)

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Estructura de algunos componentes presentes en los aceites esenciales.	7
<b>Figura 2.</b> Contenido intracelular de diferentes metabolitos secundarios en las plantas.	12
<b>Figura 3.</b> Biosíntesis de los metabolitos secundarios.	13
<b>Figura 4.</b> Equipo de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas. Aparato de destilación tipo <i>Clevenger</i> con reservorio de destilación <i>Dean-Stark</i> y adaptación para calentamiento a través de un horno microondas.	16
<b>Figura 5.</b> Principales componentes de un sistema de cromatografía gaseosa.	18
<b>Figura 6.</b> Estructura de poli(dimetilsiloxano) y poli(etilenglicol).	19
<b>Figura 7.</b> Cadena de distribución de AE en Colombia.	26
<b>Figura 8.</b> Algunos antioxidantes sintéticos utilizados en la industria alimenticia	30
<b>Figura 9.</b> Estructuras de algunos antioxidantes de origen natural	31
<b>Figura 10.</b> <i>Artemia franciscana</i>	35
<b>Figura 11.</b> <i>Calycolpus moritzianus</i>	37
<b>Figura 12.</b> <i>Lippia micromera</i>	38
<b>Figura 13.</b> <i>Lippia organoides</i>	39
<b>Figura 14.</b> <i>Lippia alba</i>	40
<b>Figura 15.</b> <i>Hyptis mutabilis</i>	43
<b>Figura 16.</b> <i>Conyza bonariensis</i>	43
<b>Figura 17.</b> <i>Piper auritum</i>	45
<b>Figura 18.</b> <i>Piper bredemeyeri</i>	46
<b>Figura 19.</b> <i>Piper eriopodon</i>	46
<b>Figura 20.</b> <i>Hedyosmum racemosum</i>	47

<b>Figura 21.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Lippia origanoides</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	50
<b>Figura 22.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia origanoides</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	50
<b>Figura 23.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Lippia origanoides</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	51
<b>Figura 24.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia origanoides</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	51
<b>Figura 25.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Lippia origanoides</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	52
<b>Figura 26.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia origanoides</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	52
<b>Figura 27.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia origanoides</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	52
<b>Figura 28.</b>	Relación entre los años de publicación y el número de publicaciones sobre <i>Lippia origanoides</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	53
<b>Figura 29.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia micromera</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	54
<b>Figura 30.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia micromera</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	54
<b>Figura 31.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Lippia micromera</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	55
<b>Figura 32.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Lippia micromera</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	55
<b>Figura 33.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	56
<b>Figura 34.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	57

<b>Figura 35.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	57
<b>Figura 36.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	57
<b>Figura 37.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	58
<b>Figura 38.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	58
<b>Figura 39.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	59
<b>Figura 40.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	59
<b>Figura 41.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	60
<b>Figura 42.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	61
<b>Figura 43.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	61
<b>Figura 44.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	61
<b>Figura 45.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	62
<b>Figura 46.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	62
<b>Figura 47.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	63
<b>Figura 48.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	63
<b>Figura 49.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	64

<b>Figura 50.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	65
<b>Figura 51.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	65
<b>Figura 52.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	65
<b>Figura 53.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	65
<b>Figura 54.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	66
<b>Figura 55.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	66
<b>Figura 56.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	67
<b>Figura 57.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	69
<b>Figura 58.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	69
<b>Figura 59.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	70
<b>Figura 60.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	70
<b>Figura 61.</b>	Relación entre los países y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	70
<b>Figura 62.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	71
<b>Figura 63.</b>	Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	72

<b>Figura 64.</b>	Relación entre los años y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	72
<b>Figura 65.</b>	Metodología	74
<b>Figura 66.</b>	Ubicación geográfica de las colectas botánicas	76
<b>Figura 67.</b>	Montaje empleado para obtener los AE por el método de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD).	80
<b>Figura 68.</b>	Cromatógrafo <i>Agilent Technologies</i> modelo 6890 <i>Series Plus</i> , acoplado a un MSD <i>Agilent Technologies</i> 5973 <i>Network</i> y equipado con un inyector automático <i>Agilent Technologies</i> , modelo 7863 <i>Series Injector</i> .	83
<b>Figura 69.</b>	Cromatógrafo <i>Agilent Technologies</i> 6890N <i>Network</i> , acoplado a un MSD <i>Agilent Technologies</i> 5975 <i>Inert XL</i> , y equipado con un inyector automático <i>Hewlett-Packard</i> , modelo 7683 <i>Series Injector</i> .	84
<b>Figura 70.</b>	Espectrofotómetro <i>Jenway</i> 6300.	85
<b>Figura 71.</b>	Espectrofotómetro <i>20 Genesys</i> .	87
<b>Figura 72.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Lippia micromera</i> , quimiotipo Timol, aislado por MWHD.	93
<b>Figura 73.</b>	Timol y sus propiedades físicas.	94
<b>Figura 74.</b>	Posibles rutas de fragmentación del timol.	94
<b>Figura 75.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Lippia origanoides</i> , quimiotipo <i>p</i> -Cimeno, aislado por MWHD.	95
<b>Figura 76.</b>	<i>p</i> -Cimeno y sus propiedades físicas.	99
<b>Figura 77.</b>	Posibles rutas de fragmentación del <i>p</i> -cimeno.	99
<b>Figura 78.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Lippia origanoides</i> , quimiotipo Carvacrol, aislado por MWHD.	101
<b>Figura 79.</b>	Carvacrol y sus propiedades físicas.	101
<b>Figura 80.</b>	Posibles rutas de fragmentación del carvacrol.	103

<b>Figura 81.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Lippia alba</i> , quimiotipo Citral, aislado por MWHD.	104
<b>Figura 82.</b>	Geranial y sus propiedades físicas.	107
<b>Figura 83.</b>	Posibles rutas de fragmentación del geranial.	107
<b>Figura 84.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Piper auritum</i> aislado por MWHD.	108
<b>Figura 85.</b>	Safrol y sus propiedades físicas.	110
<b>Figura 86.</b>	Posibles rutas de fragmentación del safrol.	111
<b>Figura 87.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Piper bredemeyeri</i> aislado por MWHD.	112
<b>Figura 88.</b>	Sabineno y sus propiedades físicas.	112
<b>Figura 89.</b>	Posibles rutas de fragmentación del sabineno.	115
<b>Figura 90.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Piper eriopodon</i> aislado por MWHD.	116
<b>Figura 91.</b>	<i>Dill</i> apiol y sus propiedades físicas.	116
<b>Figura 92.</b>	Posibles rutas de fragmentación del <i>dill</i> apiol.	119
<b>Figura 93.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Hyptis mutabilis</i> aislado por MWHD.	120
<b>Figura 94.</b>	Fenchona y sus propiedades físicas.	123
<b>Figura 95.</b>	Posibles rutas de fragmentación de la fenchona.	123
<b>Figura 96.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Conyza bonariensis</i> aislado por MWHD.	124
<b>Figura 97.</b>	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno y sus propiedades físicas.	128
<b>Figura 98.</b>	Posibles rutas de fragmentación del <i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno.	128
<b>Figura 99.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Hedyosmum racemosum</i> aislado por MWHD.	129
<b>Figura 100.</b>	$\beta$ -Pino y sus propiedades físicas.	132
<b>Figura 101.</b>	Posibles rutas de fragmentación del $\beta$ -pino.	132
<b>Figura 102.</b>	Perfil cromatográfico típico en la columna DB-5 del AE de <i>Calycolpus moritzianus</i> aislado por MWHD.	133
<b>Figura 103.</b>	Eucaliptol y sus propiedades físicas.	134
<b>Figura 104.</b>	Posibles rutas de fragmentación del eucaliptol.	137

<b>Figura 105.</b>	Reducción del radical DPPH <sup>•</sup> , (ROH, sustancia donadora de H).	141
<b>Figura 106.</b>	Vitamina E	141
<b>Figura 107.</b>	Variación de la absorbancia del radical DPPH <sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración de vitamina E.	142
<b>Figura 108.</b>	Trolox <sup>®</sup> , (Ácido 6-Hydroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico).	142
<b>Figura 109.</b>	Variación de la absorbancia del radical DPPH <sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración de Trolox <sup>®</sup> .	143
<b>Figura 110.</b>	Variación de la absorbancia del radical DPPH <sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración de <i>Lippia origanoides</i> quimiotipo carvacrol.	144
<b>Figura 111.</b>	Variación de la absorbancia del radical DPPH <sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración de <i>Lippia micromera</i> .	144
<b>Figura 112.</b>	Variación de la absorbancia del radical DPPH <sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración de <i>Hyptis mutabilis</i> .	145
<b>Figura 113.</b>	Variación de la absorbancia de DPPH <sup>•</sup> con el tiempo en función, de la concentración de <i>Piper auritum</i> .	145
<b>Figura 114.</b>	Comparación de los valores de ARP de la vitamina E, Trolox <sup>®</sup> y los AE bajo estudio.	147
<b>Figura 115.</b>	Catión-radical ABTS <sup>•+</sup> .	149
<b>Figura 116.</b>	Porcentaje de inhibición del catión-radical ABTS <sup>•+</sup> en función de la cantidad de Trolox <sup>®</sup> .	150
<b>Figura 117.</b>	Comparación de los valores de TAA de la vitamina E y los AE bajo estudio.	152
<b>Figura 118.</b>	Actividad AO experimental Vs actividad AO calculada mediante MLR.	160
<b>Figura 119.</b>	Actividad citotóxica experimental Vs actividad citotóxica calculada mediante MLR.	162
<b>Figura 120.</b>	Actividad anti- <i>Aspergillus flavus</i> experimental Vs actividad anti- <i>Aspergillus flavus</i> calculada mediante MLR.	163

<b>Figura 121.</b>	Actividad anti- <i>Aspergillus fumigatus</i> experimental Vs actividad anti- <i>Aspergillus fumigatus</i> calculada MLR.	164
<b>Figura 122.</b>	Actividad anti- <i>Candida krusei</i> experimental Vs actividad anti- <i>Candida krusei</i> calculada mediante MLR.	166
<b>Figura 123.</b>	Actividad anti- <i>Candida parapsilosis</i> experimental Vs actividad anti- <i>Candida parapsilosis</i> calculada mediante la de MLR.	167

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Localización del AE en la planta.	5
<b>Tabla 2.</b> Utilización de los AE en la industria y la medicina.	8
<b>Tabla 3.</b> Normas de calidad de los AE de acuerdo con su uso.	21
<b>Tabla 4.</b> Clasificación de los parámetros analíticos utilizados en el control de calidad de AE.	22
<b>Tabla 5.</b> Principales productores, exportadores e importadores de AE a nivel mundial.	24
<b>Tabla 6.</b> Especies reactivas de oxígeno.	28
<b>Tabla 7.</b> Algunos AE que poseen actividad AO.	33
<b>Tabla 8.</b> Composición química y actividad biológica de <i>Calycolpus moritzianus</i> .	37
<b>Tabla 9.</b> Composición química y actividad biológica de <i>Lippia micromera</i> .	38
<b>Tabla 10.</b> Composición química y actividad biológica de <i>Lippia organoides</i> .	39
<b>Tabla 11.</b> Quimiotipos de <i>Lippia alba</i> y su lugar de origen.	40
<b>Tabla 12.</b> Composición química y actividad biológica de <i>Lippia alba</i> .	41
<b>Tabla 13.</b> Composición química y actividad biológica de <i>Hyptis mutabilis</i> .	42
<b>Tabla 14.</b> Composición química y actividad biológica de <i>Conyza bonariensis</i> .	44
<b>Tabla 15.</b> Composición química y actividad biológica de <i>Piper auritum</i> .	45
<b>Tabla 16.</b> Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Lippia organoides</i> . Fuente: Elsevier (Scopus).	51

<b>Tabla 17.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Lippia organoides</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	53
<b>Tabla 18.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Lippia micromera</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	54
<b>Tabla 19.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	56
<b>Tabla 20.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Lippia alba</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	58
<b>Tabla 21.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	60
<b>Tabla 22.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Piper auritum</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	62
<b>Tabla 23.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	64
<b>Tabla 24.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Hyptis mutabilis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	66
<b>Tabla 25.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Calycolpus moritzianus</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> y <i>Elsevier (Scopus)</i> .	67
<b>Tabla 26.</b>	Relación entre las áreas tecnológicas, revista, país y año y el número de publicaciones sobre <i>Calycolpus moritzianus</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> y <i>Web of Science</i> .	68
<b>Tabla 27.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Elsevier (Scopus)</i> .	69
<b>Tabla 28.</b>	Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre <i>Conyza bonariensis</i> . Fuente: <i>Web of Science</i> .	71
<b>Tabla 29.</b>	Número de patentes registradas en las bases de datos <i>Elsevier (Scopus)</i> y <i>Goldfire Innovador</i> .	73
<b>Tabla 30.</b>	Patrones de hidrocarburos lineales y terpenos certificados.	75

<b>Tabla 31.</b>	Colectas botánicas realizadas durante el primer año de funcionamiento del Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM.	77
<b>Tabla 32.</b>	Origen de las especies vegetales bajo estudio.	78
<b>Tabla 33.</b>	Números de <i>voucher</i> COL de las especies bajo estudio	79
<b>Tabla 34.</b>	Rendimientos de los AE obtenidos por MWHD, de las 10 plantas aromáticas colombianas bajo estudio.	90
<b>Tabla 35.</b>	Composición química del AE de <i>Lippia micromera</i> , quimiotipo Timol, aislado por MWHD.	92
<b>Tabla 36.</b>	Composición química del AE de <i>Lippia origanoides</i> , quimiotipo <i>p</i> -Cimeno, aislado por MWHD.	96
<b>Tabla 37.</b>	Composición química del AE de <i>Lippia origanoides</i> , quimiotipo Carvacrol, aislado por MWHD.	102
<b>Tabla 38.</b>	Composición química del AE de <i>Lippia alba</i> , quimiotipo Citral, aislado por MWHD.	105
<b>Tabla 39.</b>	Composición química del AE de <i>Piper auritum</i> , aislado por MWHD.	109
<b>Tabla 40.</b>	Composición química del AE de <i>Piper bredemeyeri</i> , aislado por MWHD.	113
<b>Tabla 41.</b>	Composición química del AE de <i>Piper eriopodon</i> , aislado por MWHD.	117
<b>Tabla 42.</b>	Composición química del AE de <i>Hyptis mutabilis</i> , aislado por MWHD.	121
<b>Tabla 43.</b>	Composición química del AE de <i>Conyza bonariensis</i> , aislado por MWHD.	125
<b>Tabla 44.</b>	Composición química del AE de <i>Hedyosmum racemosum</i> , aislado por MWHD.	130
<b>Tabla 45.</b>	Composición química del AE de <i>Calycolpus moritzianus</i> , aislado por MWHD.	135
<b>Tabla 46.</b>	Relación de la composición química de los 11 AE.	138
<b>Tabla 47.</b>	Composición de los AE según las familias de compuestos.	139

<b>Tabla 48.</b>	Capacidad de atrapamiento de radicales DPPH <sup>•</sup> de los AE y las sustancias de referencia.	146
<b>Tabla 49.</b>	Capacidad de atrapamiento radicalario de los AE y la vitamina E.	151
<b>Tabla 50.</b>	Concentración mínima inhibitoria (MIC) del los AE contra <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Aspergillus flavus</i> y <i>Aspergillus fumigatus</i> .	155
<b>Tabla 51.</b>	Concentración letal media (CL <sub>50</sub> ) de los AE frente a <i>Artemia franciscana</i> .	158
<b>Tabla 52.</b>	Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad AO usando el método de decoloración del catión-radical ABTS <sup>•+</sup> .	161
<b>Tabla 53.</b>	Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad citotóxica.	162
<b>Tabla 54.</b>	Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad anti- <i>Aspergillus flavus</i> .	163
<b>Tabla 55.</b>	Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad anti- <i>Aspergillus fumigatus</i> .	165
<b>Tabla 56.</b>	Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad anti- <i>Candida krusei</i> .	165
<b>Tabla 57.</b>	Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad anti- <i>Candida parapsilosis</i> .	167

## ANEXOS

	<b>Pág.</b>
<b>Anexo 1.</b> EM, $t_R$ e $I_K$ obtenidos por GC-MS de los compuestos mayoritarios de los AE estudiados.	196

## INTRODUCCIÓN

Las plantas aromáticas y medicinales han sido ampliamente utilizadas a través de la historia, se puede decir, que desde el descubrimiento del fuego. En todas las épocas grandes viajeros y expedicionarios como Alejandro Magno, Marco Polo, Cristóbal Colón, James Cook o Vasco de Gama fueron los grandes descubridores de especias extrañas, fragancias y hermosas plantas que ofrecían novedosos aromas, propiedades medicinales y culinarias; y con el paso del tiempo se convirtieron en pieza clave en diversas culturas e.g. la Egipcia, Griega, China, Fenicia, Romana e inclusive las culturas Precolombinas, donde las utilizaban no sólo con propósitos religiosos sino también curativos e incluyéndolas, en algunos casos, como parte importante de su desarrollo e imprimiéndoles un sello particular a su uso [1,2].

Aunque los avances tecnológicos y de síntesis orgánica fina han ido desplazando cada vez más su uso, por sustancias artificiales, hoy, acontecimientos tan importantes como la Real Expedición Botánica realizada en 1783 por José Celestino Mutis en nuestro país, la importancia de las plantas aromáticas en el apogeo de muchas culturas, el auge de los productos orgánicos, el creciente interés por el aprovechamiento de los recursos renovables y el desarrollo de la agroindustria de plantas aromáticas y medicinales a nivel mundial están cobrando trascendencia, incitando a varios sectores industriales a interesarse por las plantas medicinales y aromáticas, con el fin no sólo de mantener, rescatar y proteger la biodiversidad y flora tropical, sino también con el firme propósito de desarrollar la cadena productiva de aceites esenciales (AE) y derivados de extractos de plantas aromáticas, la cual ha mostrado crecimientos anuales del 10% a nivel mundial [3].

Los AE son mezclas multicomponentes de sustancias volátiles de origen vegetal extraídos por diferentes procesos fisicoquímicos. Las esencias naturales son productos valiosos usados como materia prima en muchos campos, e.g. en productos cosméticos, aromaterapia, fitoterapia, nutrición, como aromatizantes y/o saborizantes, ingredientes de algunas drogas o como base de perfumes finos, lo que ha atraído la atención de muchos científicos y los ha animado a estudiar las actividades biológicas de los AE con fines químicos, farmacológicos y de aplicación industrial [4-6].

Con base en el desarrollo reciente y la diversificación de las industrias consumidoras de esencias naturales, se prevé su aumento considerable a nivel mundial, lo que justifica intensificar la investigación de los AE Colombianos, con miras a su uso tanto por la industria doméstica, como productos de exportación [4].

Y aunque Colombia es un país megadiverso, ya que es el segundo en el planeta rico en biodiversidad, con una variedad floral estimada en 51.220 especies de plantas vasculares, portador de una gran variedad de climas, innumerables recursos hídricos, una gran disponibilidad de suelos y teniendo la capacidad de producir esencias, es su importador neto [7,8]. Ante esto, y considerando que Colombia tan sólo ha explorado una pequeña parte de esta inmensa riqueza vegetal, se hace evidente la carencia de conocimiento en esta área y, por lo tanto, la falta de información básica sobre productos que podrían comenzar a explotarse adecuadamente; por lo que varios grupos y centros de investigación del país, incluyendo algunos laboratorios de la UIS, unieron esfuerzos para dar lugar a la Unión Temporal, CENIVAM, con el propósito no sólo de promover cultivos para la obtención de AE, sino también para estudiar las especies tropicales autóctonas, sus metabolitos secundarios y su bioactividad, para obtener información preliminar y vislumbrar una nueva perspectiva en cuanto a la utilización y aplicación industrial de estas plantas y sus derivados.

Este trabajo hace parte de una de las líneas de investigación del Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales, CENIVAM, y fue desarrollado en el Laboratorio de Cromatografía, CIBIMOL, de la UIS, cuyo desarrollo estaba encaminado a establecer la composición química de los AE de 10 plantas aromáticas recolectadas en diferentes regiones de Colombia en 2005 y evaluar la actividad biológica (antimicótica, citotóxica y antioxidante) de estas plantas, con el fin de identificar especies vegetales de interés, generando un conocimiento científico que aún no existía, aportando la información sobre las plantas colombianas que pueden ser aprovechadas económicamente a través de su conservación, propagación y agroindustrialización.

Los AE de *Lippia alba* (Fam. *Verbenaceae*), *Lippia origanoides* (Fam. *Verbenaceae*), *Lippia micromera* (Fam. *Verbenaceae*), *Piper auritum* (Fam. *Piperaceae*), *Piper eriopodon* (Fam. *Piperaceae*), *Piper bredemeyeri* (Fam. *Piperaceae*), *Conyza bonariensis* (Fam. *Asteraceae*), *Hyptis mutabilis* (Fam. *Labiatae*), *Calycolpus moritzianus* (Fam. *Myrtaceae*) y *Hedyosmum racemosum* (Fam. *Chlorantaceae*) se aislaron empleando la técnica de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD) y la identificación de los componentes químicos de los AE se llevó a cabo por cromatografía de gases – espectrometría de masas (GC-MS), utilizando dos columnas (apolar, DB-5 y polar, DB-Wax). La identificación de los compuestos se basó en la determinación de los índices de Kováts ( $I_K$ ) y en la comparación de los espectros de masas experimentales con los de las bases de datos, *i.e.* ADAMS, NIST 2002, Wiley 138K y NBS 75K. También se determinó la actividad antioxidante (AO) de los AE utilizando los métodos de decoloración del radical DPPH<sup>•</sup> y del catión-radical ABTS<sup>•+</sup>, medida por la espectroscopía visible (VIS) a longitudes de onda de 514 y 734 nm, respectivamente. Además, los AE de las 10 plantas fueron enviados al Grupo de Investigación de Infección y Cáncer en la Universidad de Antioquia y al Grupo de Química Ambiental y Computacional en la Universidad de Cartagena, para evaluar sus actividades antimicótica y citotóxica, respectivamente. Finalmente, la composición química

de los AE se relacionó con las actividades biológicas evaluadas, mediante modelos estadísticos de regresión lineal múltiple (MLR) usando el *software STATISTICA 6.0*.

Los resultados parciales se presentaron en el XIV Congreso Colombiano de Química, organizado por ASQUIMCO, el cual se llevó a cabo en Armenia (Quindío) del 17 al 19 de mayo de 2006, bajo la modalidad de Ponencia oral; también en el *International Congress on Analytical Sciences (ICAS-2006)*, organizado por *Russian Academy of Sciences*, que se realizó en la ciudad de Moscú (Rusia) del 25 al 30 de junio de 2006, bajo la modalidad de Póster. Asimismo, los resultados de parte del trabajo se divulgaron en el *International Congress on Medicinal and Aromatic Plants*, que se realizó en Marruecos del 22 al 24 de marzo de 2007, bajo la modalidad de Póster; igualmente, en el IX Congreso Colombiano de Fitoquímica, que se llevó a cabo en Pereira del 8 al 11 de mayo de 2007, bajo las modalidades de Póster y Ponencia oral; los resultados parciales también se presentaron en dos trabajos en el 38<sup>th</sup> *International Symposium Essential Oil*, en Graz (Austria), del 9 al 12 de septiembre de 2007, bajo la modalidad de Póster. Igualmente, los resultados de parte del trabajo se divulgaron en un artículo que se encuentra sometido al *Journal of Natural Products*.

El trabajo presentado consta de 235 páginas, distribuidas en 7 capítulos, contiene 123 figuras, 57 tablas y 1 anexo, asimismo, se reportan 176 referencias bibliográficas.

## 1. ESTADO DEL ARTE

### 1.1. ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales (AE) son mezclas complejas de los metabolitos secundarios volátiles de las plantas, los cuales son los responsables de su intensa y, por lo general, agradable fragancia [9-11].

Los AE suelen distribuirse por toda la planta, desde las flores hasta las raíces, como se indica en la **Tabla 1**; aunque, es de resaltar, que no todas las plantas contienen AE en cantidades extraíbles y, además, la composición de los aceites en la misma planta puede variar, dependiendo de la parte que se haya usado para su obtención y la etapa fenológica en la cual se encuentra [4,11,12].

**Tabla 1.** Localización del AE en la planta [4].

<b>Parte de la planta con mayor concentración de AE</b>	<b>Planta</b>
Raíces	Cálamo, sándalo, valeriana, vetiver.
Hojas y tallos	Albahaca, citronela, eucalipto, geranio, mejorana, menta, orégano, paico, romero, salvia, tomillo.
Flores	Espliego, jazmín, rosa, ylang-ylang.
Cáscara de fruta	Limón, lima, mandarina, naranja.
Corteza y madera	Canela, sándalo, abeto, pino, cedro.
Semillas	Anís, cardamomo, eneldo, hinojo, coriandro.

Generalmente, los AE son líquidos a temperatura ambiente, aunque algunos pueden ser semisólidos. La gran mayoría de los AE son claros e incoloros o de

color amarillo pálido; sin embargo, la exposición al aire puede traer consigo la coloración de los mismos; claro está, que algunos de ellos presentan un color característico, siendo ésta, una propiedad inherente a su composición, e.g. aceite de manzanilla [10,11].

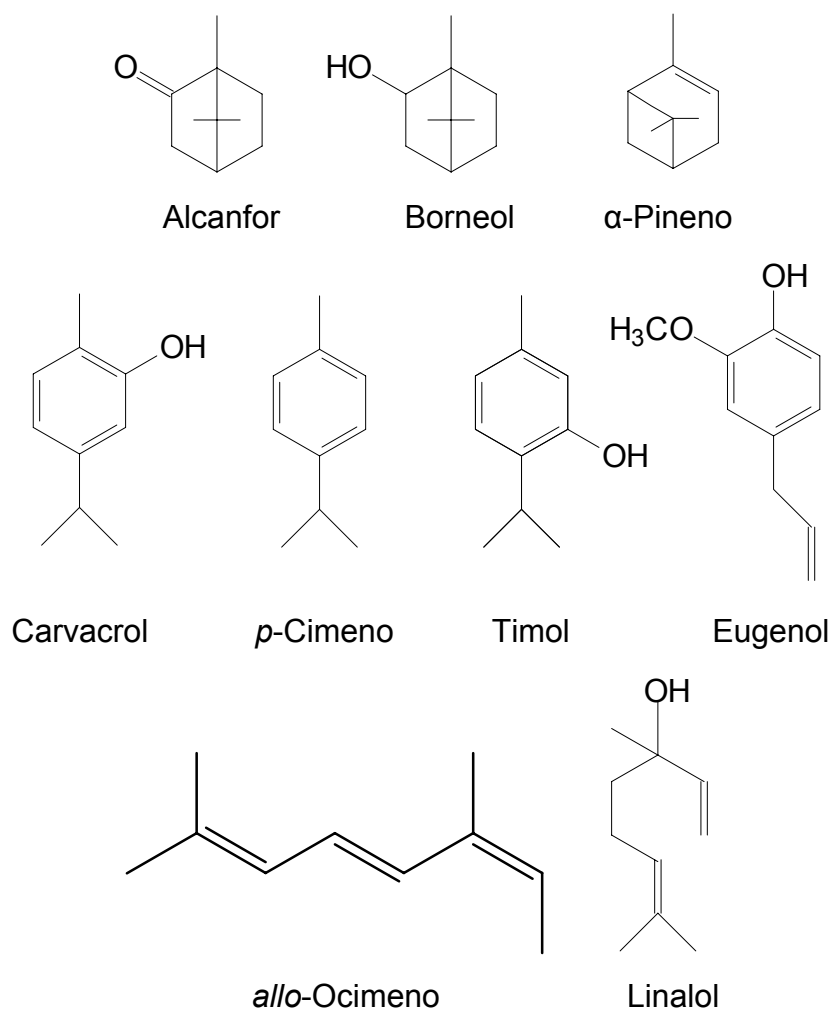
Se puede afirmar, que el olor de las esencias es su propiedad más definida, aunque es supremamente variable, debido a la cantidad y proporción de los componentes presentes en ellos; la fragancia evocada puede ser modificada al exponer la esencia al aire, perdiendo así, en algunos casos, su fineza y calidad [11].

Por lo general, los AE presentan muy poca solubilidad en agua, pero alta solubilidad en solventes orgánicos (alcohol, cloroformo, acetona, éter, etc.), a diferentes concentraciones [9,12].

Actualmente se conocen más de 200 AE en los cuales se han identificado más de 300 componentes químicos. Un AE puede contener cientos de sustancias de naturaleza química variable, entre los cuales se destacan los terpenos, cuya fórmula general es  $(C_5H_8)_n$  (monoterpenos,  $n=2$ ; sesquiterpenos,  $n=3$ ; etc). Además de estos componentes, los AE contienen una alta proporción de compuestos oxigenados (alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos, cetonas, fenoles); en algunos casos, se pueden encontrar en pequeñas cantidades de compuestos nitrogenados y sulfonados [4,9,13].

Algunas de las estructuras de las sustancias, que pueden estar presentes en los AE, se muestran en la **Figura 1**.

Actualmente, los AE son ampliamente utilizados, jugando un papel cada vez más importante en diferentes ramas de la industria a nivel mundial. Tanto su valor comercial, como su aplicación están directamente relacionados con su composición química, la cual determina de una u otra manera sus propiedades físicas, olor y su actividad biológica.



**Figura 1.** Estructura de algunos componentes presentes en los AE.

Los AE tienen múltiples aplicaciones, que van desde el aprovechamiento de sus características organolépticas, orientadas principalmente a satisfacer la industria de sabores y fragancias (alimentos, licores, perfumes), como se muestra en la **Tabla 2**, hasta el uso de sus distintos componentes aislados como materia prima para la obtención de compuestos orgánicos de alto valor agregado utilizados ampliamente en la síntesis orgánica fina [2,4,14].

Además, componentes de algunos AE poseen una actividad biológica alta, actuando como insecticidas, repelentes, fungicidas, desodorizantes, agentes antiinflamatorios, expectorantes, etc. [2,14].

**Tabla 2.** Utilización de los AE en la industria y la medicina [4,15].

<b>USOS</b>	<b>AE</b>
Industria de alimentos:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aromatizantes naturales</li> </ul>	Anís, cardamomo, clavo, eneldo, hinojo, lima, limón, menta, salvia, tomillo, ylang-ylang.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Saborizantes naturales</li> </ul>	Anís, banano, cardamomo, eneldo, eucalipto, lima, limón, mandarina, manzana, naranja, tomillo, yerbabuena.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bebidas (licores)</li> </ul>	Anís, ajenjo, cardamomo, lima, limón, naranja, menta.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bebidas aromáticas (infusiones)</li> </ul>	Albahaca, canela, limonaria, romero, salvia, toronjil, manzanilla, hierbabuena, cidrón.
Pastas dentífricas	Anís, eucalipto, menta, orégano, tomillo.
Industria de jabones y ambientadores	Clavo, citronela, eucalipto, geranio, hinojo, lavanda, limón, menta, pachulí, pino, salvia, sándalo, rosa, vetiver, ylang-ylang.
Industria de cosméticos y perfumería	Albahaca, anís, azahar, bergamota, cananga, citronela, eucalipto, geranio, hinojo, lavanda, jazmín, limón, menta, manzanilla, rosa, romero, vetiver, salvia, sándalo, ylang-ylang.
Insecticidas y fungicidas	Ajenjo, citronela, ciprés, enebro, eucalipto, menta, salvia, pino.
Industria farmacéutica	Anís, caléndula, cardamomo, copaiba, hinojo, eucalipto, manzanilla, menta, orégano, romero, salvia, sándalo, tomillo, toronjil, hierbabuena, ylang-ylang.
Industria apícola	Naranja, pomelo, mandarina, limón.
Industria de pinturas	Copaiba.

La composición química de los AE puede estar influenciada por cada uno de los siguientes factores [6,9,10]:

- Condiciones geobotánicas del medio (clima, altitud, tipo de suelo, etc.);
- Método de cultivo (uso de fertilizantes, pesticidas, etc.);
- Época de recolección o tiempo de cosecha y parte de la planta (raíz, tallo, hojas, semilla, etc.);
- Modo de manejo y almacenamiento del material vegetal (fresco, seco, etc.);
- Método de obtención del aceite (destilación, extracción con solventes, etc.);
- Edad de la planta y estado fenológico.

Por otra parte, propiedades como consistencia, origen y naturaleza de los compuestos mayoritarios de los AE, entre otras, se toman en cuenta para clasificarlos.

De esta manera, según su consistencia, los AE o esencias pueden ser clasificadas como fluidas, bálsamos y oleorresinas. Las primeras, son líquidas muy volátiles a temperatura ambiente (esencias de menta, salvia, limón, etc.); por su parte, los bálsamos son más viscosos, menos volátiles y con tendencia a polimerizarse, además, suelen ser de naturaleza sesquiterpenoide (e.g. bálsamo de Copaiba). Los últimos, oleorresinas, son especialmente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas, con el aroma típico de las plantas (caucho, oleorresinas de páprika, de clavel, etc.) [2,9].

Los AE, según su origen, se dividen en tres tipos: esencias naturales, esencias artificiales y esencias sintéticas [9].

Las esencias naturales, se obtienen directamente de la planta, sin someterlas luego a ninguna modificación física o química; son de un valor agregado alto y tienen una composición química variable (esencias de plantas aromáticas y

flores). Las esencias artificiales, se obtienen a partir de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno de sus componentes principales, o pueden ser el resultado de mezclar varias esencias de origen natural, las cuales fueron obtenidas de plantas diferentes (esencia de anís o eneldo enriquecida con anetol). Las esencias sintéticas, son reconocidas como las mezclas de varias sustancias obtenidas por síntesis (esencias de vainilla, fresa, etc.).

Finalmente, teniendo en cuenta la estructura química de los componentes principales que dan el olor característico a las esencias, se distinguen tres tipos de AE, a saber: monoterpenoide, sesquiterpenoide y compuestos oxigenados, según el grupo al cual pertenecen los componentes mayoritarios.

Entre los AE que hacen parte del primer tipo, se encuentran los que contienen principalmente monoterpenos,  $C_{10}H_{16}$ , y monoterpenoides,  $C_{10}H_{18}O$ ,  $C_{10}H_{16}O$  (aceites de albahaca, salvia, etc.). Los del tipo sesquiterpenoide, abarcan los AE, cuyos compuestos mayoritarios son sesquiterpenos,  $C_{15}H_{24}$ , y sesquiterpenoides,  $C_{15}H_{26}$ ,  $C_{15}H_{24}O$ ,  $C_{15}H_{26}O$ , etc. (esencias de ciprés, jengibre, vetíver, etc.). Por último, las esencias del tercer grupo, son las conformadas básicamente, por compuestos oxigenados (esencias de geranio, ylang-ylang, etc.). Además, los últimos se distinguen por poseer un olor fuerte y característico, por lo que se utilizan como materia prima para la elaboración de perfumes finos, saborizantes y aromatizantes [4,9].

Existen tres métodos para analizar y caracterizar los AE. El primero, consiste en medir propiedades físico-químicas, tales como densidad, rotación óptica, índice de refracción y solubilidad. El segundo, comprende los métodos químicos, con los cuales se busca determinar la naturaleza química y grupos funcionales de los componentes presentes en el AE (aldehídos, ésteres, ácidos y alcoholes libres). Por último, se tienen los métodos instrumentales, los cuales permiten determinar cualitativa- y cuantitativamente los componentes presentes en una muestra. Entre éstos, figuran: espectroscopía infrarroja, espectroscopía

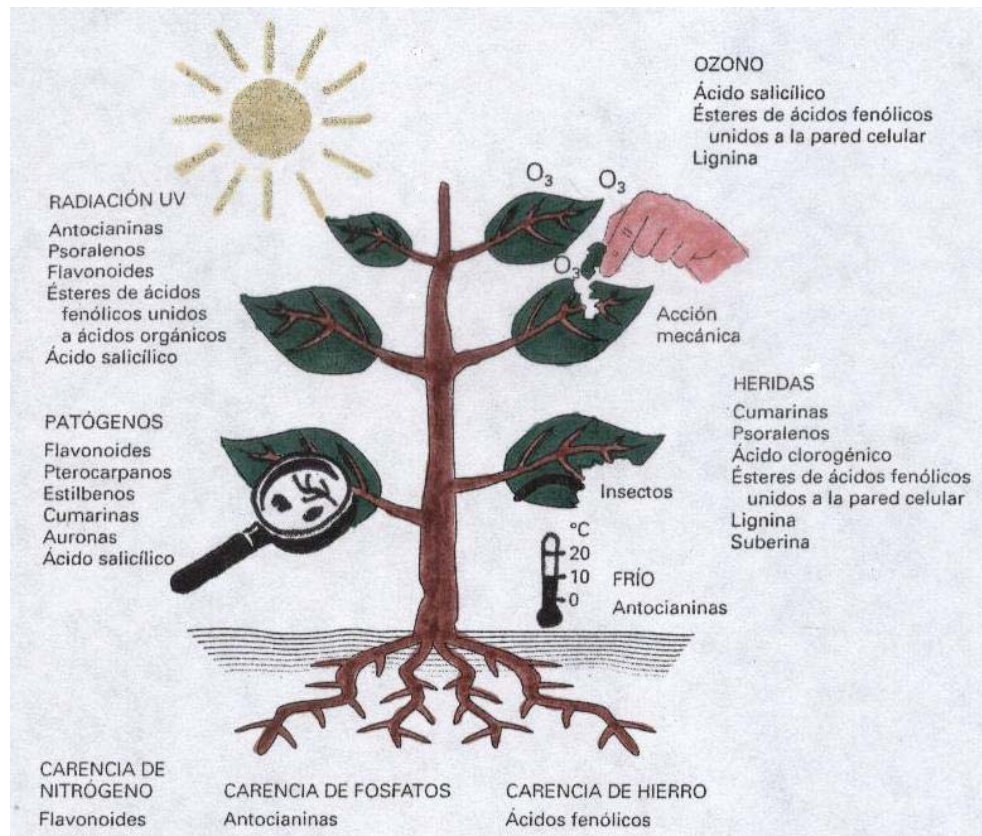
de resonancia magnética nuclear de Carbono-13, cromatografía de gases (GC) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) [4,9].

## 1.2. METABOLISMO SECUNDARIO

Las plantas contienen una gran variedad de compuestos químicos, diferentes de los intermediarios y de los metabolitos primarios, que se denominan metabolitos secundarios [17]. Los AE son una mezcla compleja de los metabolitos secundarios volátiles de la planta, por lo tanto, la producción de AE depende de la capacidad metabólica de la misma y suele hallarse restringida a fases específicas del desarrollo, tanto del organismo como de las células especializadas, y a períodos de estrés causados, por ejemplo, por la deficiencia de nutrientes, factores ambientales, o como respuesta al ataque de diferentes microorganismos y herbívoros [16,17].

Los AE se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, especialmente, en las Fanerógamas, en las cuales se hallan repartidas en unas sesenta familias, e.g. Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Laureaceae, Mirtaceae, Pinaceae, Piperaceae, Verbenaceae y Zingiberaceae, entre otras [6,9].

En un AE pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres), sustancias azufradas y nitrogenadas. La mayoría de estos metabolitos secundarios están implicados en relaciones ecológicas, es decir, de la planta productora con los otros organismos de su medio natural. El término “secundario” implica que su función en la planta no es muy importante aunque, en realidad, muchos de ellos forman parte de mecanismos vitales de protección, inducidos por el ataque de patógenos, el exceso de O<sub>3</sub> y de radiación UV, las heridas de diversa procedencia, el frío o la falta de nutrientes minerales (**Figura 2**) [16-19].



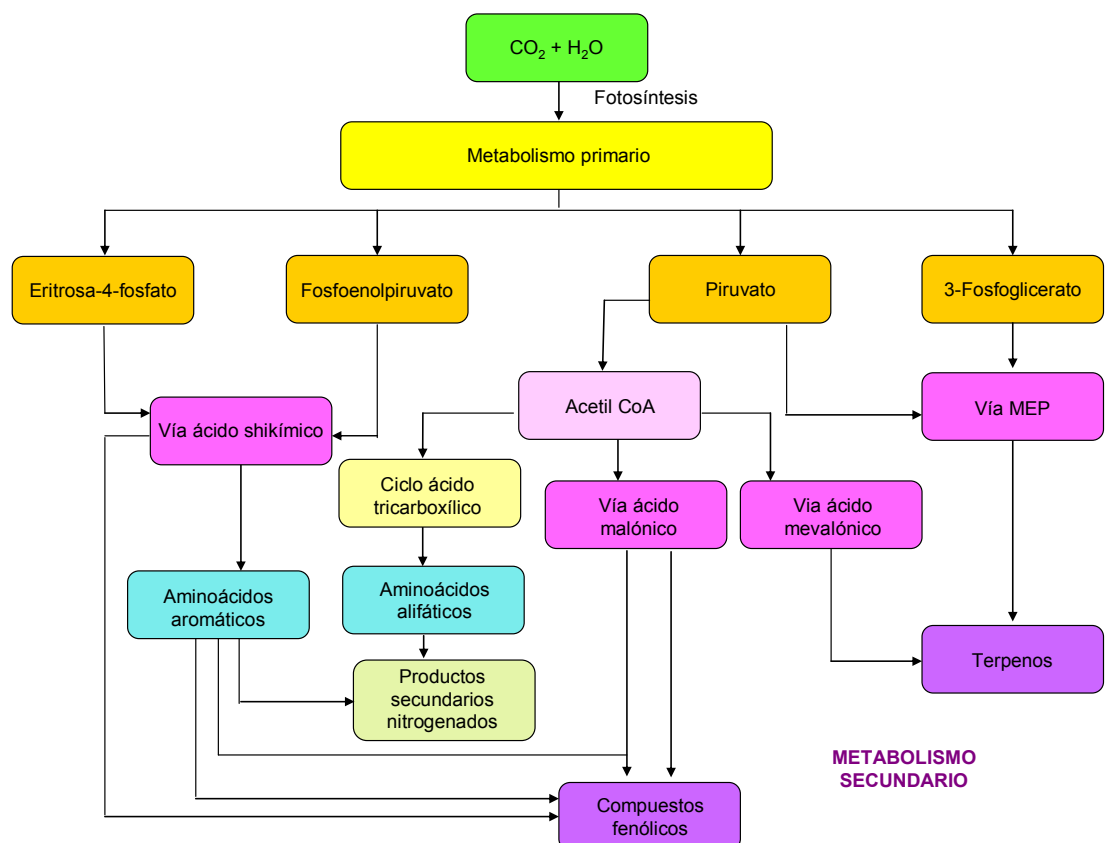
**Figura 2.** Contenido de diferentes metabolitos secundarios en las plantas [17].

El contenido intracelular de diferentes metabolitos secundarios pertenecientes al grupo de los fenilpropanoides aumenta en las hojas o en la raíz como consecuencia del ataque de patógenos, por las heridas producidas por acciones mecánicas (propiciadas por el viento, los animales herbívoros, el hombre, etc.) o por los insectos, por el exceso de ozono o de radiación UV, por el frío o por la deficiencia en elementos minerales (nitrógeno, fosfatos o hierro) [17].

Las rutas metabólicas primarias producen los metabolitos primarios, que están presentes en casi toda la naturaleza y son esenciales para todas las formas de vida. Estos compuestos incluyen los carbohidratos comunes, las grasas, las proteínas y los ácidos nucleicos que son necesarios para crear y mantener la vida. La presencia de los metabolitos secundarios está más limitada en la naturaleza, mientras que algunos no tienen una función probada en el organismo, otros desempeñan al parecer un papel vital [19,20].

Las reacciones que implican los metabolitos secundarios producen una selección enorme de compuestos, algunos de ellos, sustancias que pueden ser farmacológicamente activas en seres humanos y útiles como medicinas o aditivos alimenticios [15,20].

La biosíntesis de los metabolitos secundarios (**Figura 3**) comienza con un grupo relativamente pequeño de compuestos, que se modifican en un número ilimitado de compuestos con varias rutas de síntesis. Las más importantes vías metabólicas son fosfato de metileritriol (MEP) y los ácidos shikímico, mevalónico y malónico. Los metabolitos secundarios se dividen principalmente en tres grupos: terpenos, compuestos fenólicos y nitrogenados [15,17,20,21].



**Figura 3.** Biosíntesis de los metabolitos secundarios [21].

Los terpenos son posiblemente sintetizados por la vía del ácido mevalónico y la vía del MEP. En la primera, en una reacción catalizada por la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa (HMGR), se condensan tres moléculas de acetil

CoA ( $\text{CH}_3\text{COCoA}$ ) y originan el ácido mevalónico. Este intermediario de seis carbonos experimenta una descarboxilación y dos fosforilaciones consecutivas para transformarse en isopentenil pirofosfato (IPP). Este compuesto puede transformarse en su isómero dimetilalil pirofosfato (DMAPP) por desplazamiento del doble enlace de la posición 3-4 a la 2-3. Estos dos compuestos dan origen a todos los terpenos naturales.

En la segunda vía, aún no se conocen todos los detalles, pero el gliceraldehído-3-fosfato y dos átomos de carbono derivados del piruvato se combinan para generar un intermedio que es eventualmente convertido al IPP. La unión sucesiva de estas estructuras produce terpenos de diferentes pesos moleculares, a saber: monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, etc.

Los compuestos fenólicos son sintetizados por diversas rutas, pero dos caminos básicos son los más importantes: La ruta del ácido shikímico y la vía del ácido malónico. El camino del ácido shikímico participa en la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de las plantas. La ruta del ácido malónico, aunque es una fuente importante de productos secundarios fenólicos en hongos y bacterias, tiene poca trascendencia en plantas superiores. La ruta del ácido de shikímico está presente en plantas, hongos y bacterias, pero no se encuentra en animales, pues ellos no son capaces de sintetizar los aminoácidos aromáticos, *i.e.* fenilalanina, tirosina y triptófano.

La fenilalanina es el principal producto final de la vía del ácido shikímico; este aminoácido puede ser después canalizado a la síntesis de proteínas o a la de sustancias fenólicas, según los requerimientos fisiológicos de la planta. Los fenoles formados por esta ruta derivan del ácido cinámico, biosintetizado de la fenilalanina por la acción de la enzima fenilalanina amoníaco lipasa (PAL). En la formación de los fenoles por esta vía, el ácido cinámico resultante es siempre oxidado en la posición *para*, lo que origina el ácido 4-cumárico. Seguidamente, este ácido es oxidado enzimáticamente, originando compuestos fenólicos simples llamados fenilpropanoides. La ruta del ácido shikímico

produce fenoles con los grupos hidroxilos en las posiciones 3 y 4 (modelo catecol) ó 3, 4 y 5 (modelo pirogalol). En contraste, con la ruta del ácido shikímico, por la vía del ácido malónico se producen inicialmente fenoles con los grupos hidroxilo en las posiciones 1, 3 y 5, como es el caso del floroglucinol.

Los compuestos nitrogenados se sintetizan por la vía del ácido shikímico y la ruta del ácido tricarbóxico. Estos compuestos son generados principalmente a partir de los aminoácidos lisina, tirosina y triptófano, generados mediante estas rutas. Los aminoácidos son precursores de los alcaloides, antibióticos peptídicos y glicósidos cianogénicos [17,21].

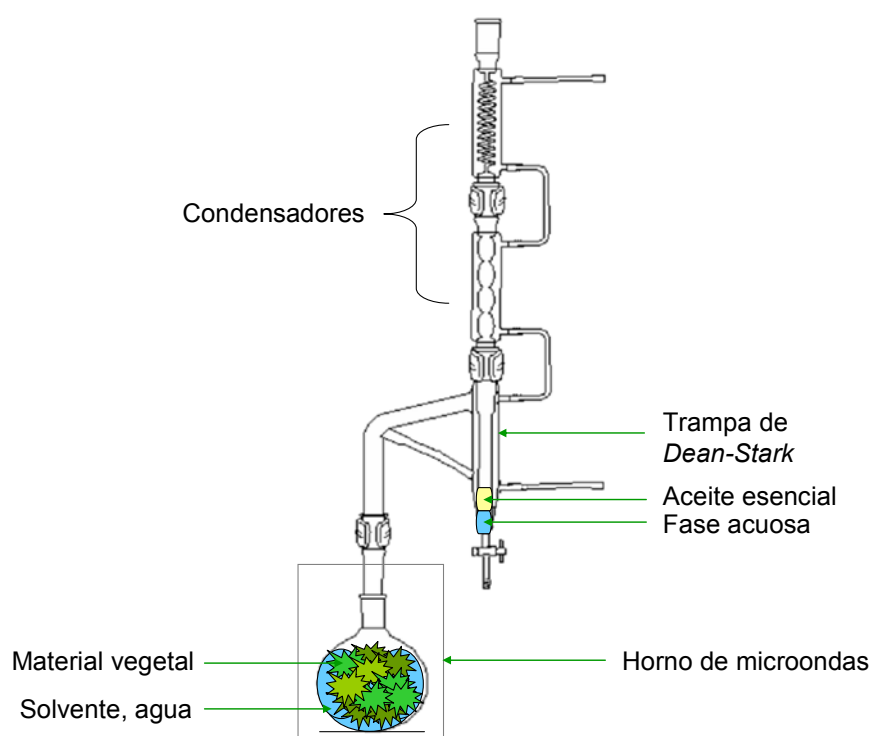
### **1.3 HIDRODESTILACIÓN ASISTIDA POR LA RADIACIÓN DE MICROONDAS**

Se ha publicado un gran número de métodos para obtener los AE de las plantas e.g. destilación con agua y vapor, destilación por arrastre con vapor e hidrodestilación; sin embargo, muchos de estas técnicas requieren gran cantidad de muestra y tiempos de extracción muy largos [2,22].

La técnica de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHHD) es un método para extraer sustancias lipofílicas del material vegetal, fue desarrollada por Paré y colaboradores [23,24]. Esta técnica es una combinación de destilación y calentamiento generado por la radiación de microondas – puede usarse un horno de microondas doméstico –, realizada a presión atmosférica con la presencia de un solvente o agua [2,25-28].

El material vegetal se sumerge al agua en un equipo de destilación tipo *Clevenger* y se somete a la acción de la radiación de microondas (**Figura 4**), el agua se calienta hasta ebullición dilatando las glándulas y los sacos vegetales donde se halla el AE, produciendo su ruptura y la de los receptáculos oleíferos. Este proceso libera el AE, que es evaporado *in situ* y disuelto en el agua.

Inmediatamente, se forma una mezcla azeotrópica que, por efecto de su presión de vapor, asciende y se encuentra con un sistema de enfriamiento fuera del horno de microondas, que condensa el destilado continuamente; posteriormente, se forman dos fases, una acuosa y otra, oleosa (AE), que se separan por decantación [2,25].



**Figura 4.** Equipo de hidroddestilación asistida por la radiación de microondas. Aparato de destilación tipo *Cleverger* con reservorio de destilación *Dean-Stark* y adaptación para calentamiento a través de un horno microondas.

Varias clases de compuestos e.g. AE, aromas, pesticidas, fenoles, dioxinas, y otras sustancias orgánicas se extraen eficientemente con MWHD de una variedad de matrices (principalmente, suelos, sedimentos, tejidos finos animales, alimentos y material vegetal, entre otras). Las principales ventajas de la MWHD son la rapidez, la reducción de la cantidad del solvente de extracción; es una técnica simple, fácil de manejar, de bajo costo, reproductiva. El calentamiento es más efectivo, puesto que en esta técnica no existe el contacto directo entre el material y la fuente de calor y los productos se encuentran libres de contaminación y descomposición térmica [2,25,29].

#### 1.4. CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS

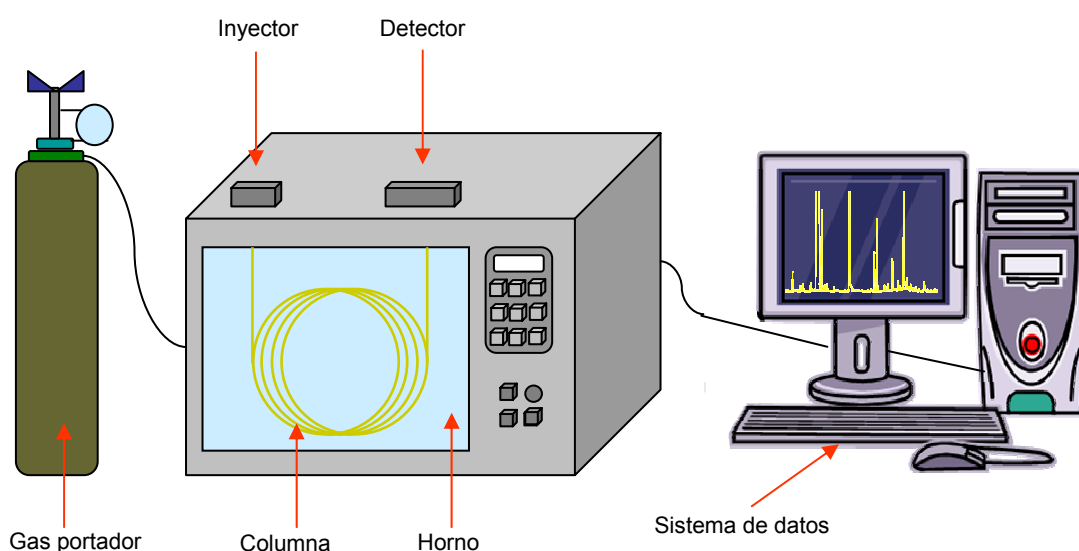
La cromatografía es un método de separación que tiene aplicaciones en todas las ramas de la ciencia. La cromatografía surgió a finales del siglo XX, cuando el botánico ruso Mikhail Tswett separó varios pigmentos vegetales (xantofilas, clorofilas, etc.) por cromatografía en columna; luego, Ramsey separó mezclas de gases y vapores en adsorbentes como carbón. Tswett es reconocido como el “Padre de la cromatografía”, especialmente, porque él acuñó el término “Cromatografía” (del griego *chroma* que significa “color”, y *graphein* que significa “escribir”) y describió científicamente el proceso [30-32].

El principio básico de la cromatografía se fundamenta en el equilibrio de concentración de los compuestos presentes en dos fases no miscibles. La muestra se desplaza en una fase móvil, que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico. Esta fase móvil se desplaza al contacto con una fase estacionaria, inmovilizada en una columna o fijada sobre un soporte. Los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre las dos fases y la elución a velocidades diferentes de los compuestos por la fase móvil conduce a su separación [31,33,34].

La cromatografía de gases (GC) describe todos los métodos cromatográficos en los cuales la fase móvil es un gas. Esta técnica de separación está basada principalmente en fenómenos de partición entre la fase estacionaria y la fase móvil gaseosa (helio, argón, hidrógeno, nitrógeno) [2,33].

Los módulos principales de un equipo de GC son: un inyector, una columna y un detector (**Figura 5**). La fase móvil (gas portador) o gas de arrastre fluye en forma continua a través del inyector, la columna y el detector. Se introduce una pequeña cantidad de muestra en forma líquida o gaseosa en el inyector, donde la muestra es vaporizada y arrastrada por la corriente gaseosa en la columna, que contiene la fase estacionaria. La columna está situada en un recinto

termostatzado (horno). En la columna, la muestra se reparte entre la fase móvil y la fase estacionaria, luego el gas portador y la muestra pasan por el detector antes de salir al ambiente. En el detector se registra cada componente y se genera una señal eléctrica proporcional a su cantidad. Esta señal se transmite a un sistema de datos, y se genera luego un gráfico, que se llama cromatograma. Es importante controlar con precisión los caudales del gas portador para asegurar tiempos de retención reproducibles. La temperatura óptima de la columna depende del punto de ebullición de los componentes de la muestra y del grado de separación requerido [4,31,33,35-38].

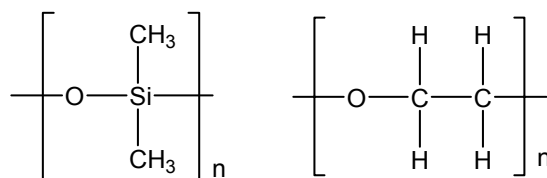


**Figura 5.** Principales componentes de un sistema de cromatografía gaseosa.

Las columnas cromatográficas utilizadas actualmente son las columnas capilares, fabricadas generalmente de sílice fundida con un revestimiento externo de poli(imida). Para el análisis de los AE suelen emplearse dos tipos de fases estacionarias (**Figura 6**):

- PEG: los representantes más conocidos de esta familia son los Carbowax<sup>®</sup>, polímero polar de peso molecular ca. 20000; estos polímeros pueden ser utilizados en modo depositado, impregnado o enlazado. Carbowax 20M es una fase polar, representada por diferentes marcas comerciales de varios fabricantes, e.g. DB-WAX, BP-20, PEG 20M y HP-20;

- PDMS: los poli(siloxanos), conocidos por el nombre vulgar como “siliconas” se forman por repetición de una unidad básica que incluye dos cadenas carbonadas por cada átomo de silicio. PDMS es una fase estacionaria apolar, que se conoce en el mercado con diferentes nombres comerciales, e.g. DB-1, DB-5, HP-1, BP-1, OV-1, entre otras, según el fabricante [33,39].



Poli(dimetilsiloxano), PDMS    Poli(etilenglicol), PEG

**Figura 6.** Estructura química de poli(dimetilsiloxano) y poli(etilenglicol).

La espectrometría de masa (MS) es un método de análisis rápido y sensible que permite obtener la máxima cantidad de información estructural con la mínima cantidad de muestra. La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS) es una de las técnicas modernas de análisis químico. Este método es altamente sensible, se utilizan muestras en concentraciones entre  $10^{-6}$  y  $10^{-14}$  g.

El equipo de GC-MS consta de tres módulos principales: un cromatógrafo de gases (GC), un espectrómetro de masas (MS) y un sistema de datos (DS). La función del GC es separar la mezcla en cada uno de sus componentes individuales, que luego entran a través de la interfase a la fuente iónica del MS. Para cada componente separado se registra su correspondiente espectro de masas obtenido por impacto electrónico (70 y/o 12-20 eV) y/o por ionización química. El MS está conectado a un sistema de datos automatizado que convierte las señales eléctricas a espectros de masas, permitiendo obtener información cualitativa y cuantitativa de cada uno de los componentes de la mezcla [4,33,39].

Generalmente, el análisis de los AE se realiza usando GC (análisis cuantitativo) y GC-MS (análisis cualitativo). La identificación de los componentes se lleva a

cabo, por la comparación de los tiempos de retención ( $t_R$ ) en GC y los espectros de masas (EM) que son característicos para cada sustancia; la identificación por GC-MS se complementa con los índices de Kovats ( $I_K$ ), obtenidos en dos columnas de polaridad “ortogonal”, *i.e.* polar y apolar [2,4,9,10,39,40].

## 1.5. CONTROL DE CALIDAD DE LOS AE

La calidad de los AE está determinada por su composición química, las propiedades físico-químicas, las características aromáticas olfativas y el grado de pureza o cantidad de residuos contaminantes. La calidad de los AE depende de muchos factores que van desde la calidad de la materia prima, hasta los procedimientos empleados en el proceso de destilación, que influyen sustancialmente sobre las características del producto final, y de estas particularidades depende el uso de un AE y su aplicación en diferentes industrias [5,41,42].

En todo proceso de obtención de AE se deben realizar tres controles básicos [41], a saber:

- Control de material vegetal (físico, químico, sanitario, microbiológico e higiénico);
- Control durante el proceso (control de la materia prima, del proceso de destilación y del producto);
- Control de AE (control organoléptico, fisicoquímico y químico, *i.e.* composición).

Las normas de calidad de un AE las establece la legislación de cada país y éstas están determinadas por el uso final que va a tener la esencia. Las normas de calidad generales para productos comercializados internacionalmente son establecidas por la Organización Internacional de

Normalización (ISO). En la **Tabla 3** se presentan algunas normas de calidad que se aplican a los AE de acuerdo con su uso [5,46].

**Tabla 3.** Normas de calidad de los AE de acuerdo con su uso.

<b>USO</b>	<b>NORMAS DE CALIDAD</b>
Medicina:	<p>Parágrafo Primero del Artículo 22 del decreto 677 de 1995 (Colombia)</p> <p><i>United State Pharmacopeia</i> (UPS)</p> <p><i>British Pharmacopeia</i> (Inglaterra)</p> <p><i>Codex Francés</i></p> <p>Farmacopea Alemana (DAB)</p> <p>Farmacopea Europea e Internacional (OMS)</p>
Cosmética y Alimentos	<p>CAS NUMBER</p> <p><i>Codex Alimentarius</i> (FAO y OMS)</p> <p><i>Food Chemical Codex</i> (EE.UU.)</p>
Sabores y Fragancias	IFRA/IOFI
Industria	<p>IFRA/IOFI</p> <p>AFNOR (Francia)</p> <p>ASTM (E.U.)</p> <p>AENOR (España)</p> <p>DIN (Alemania)</p> <p>IRAM-SAIPA (Argentina)</p> <p>Asociación Brasileira de Normas Técnicas</p> <p>Instituto Nacional de Normalización (Chile)</p> <p>INCONTEC (Colombia)</p> <p>ISO (Internacionales)</p>

En países como Francia y Canadá, a los AE destinados para aromaterapia se les debe determinar la toxicidad aguda (DL<sub>50</sub>), si son fotosensibilizantes, irritantes dérmicos o de la mucosa y ojos, y si pueden producir efectos fisiológicos o no deseables por absorción cutánea o inhalación [2,5].

Algunos compradores solicitan los certificados de calidad específicos para cada AE. Estos certificados pueden contener la información del material vegetal de origen para garantizar una procedencia de agricultura limpia certificada o con sellos verdes y deben contener los parámetros analíticos utilizados en el control de calidad de AE (**Tabla 4**). Los valores de estos parámetros para un gran número de AE se encuentran reportados en textos clásicos como el de Guenter y Gildemeister & Hoffman. Estas pruebas se realizan para descubrir adulteraciones entre las que se encuentran las diluciones [2,4,5].

**Tabla 4.** Clasificación de los parámetros analíticos utilizados en el control de calidad de AE [2].

---

Características organolépticas	Olor
	Apariencia
	Color
	Textura
Determinaciones físicas	Densidad
	Poder rotatorio
	Índice de refracción
	Miscibilidad en etanol
	Punto de congelación
	Punto de inflamación
	Rango de destilación
Índices químicos	Índice de acidez
	Índice de éster
	Índice de saponificación
	Índice de acetilo
	Índice de fenoles
Características cromatográficas	Perfil cromatográfico por GC
	Cuantificación de los principales componentes
Características espectroscópicas	Ultravioleta-visible
	Infrarrojo
Otras determinaciones	Residuos de pesticidas
	Metales pesados

---

## 1.6. COMERCIO MUNDIAL DE LOS AE

La historia del hombre está estrechamente ligada a las plantas medicinales y aromáticas. Sin embargo, en el siglo XX, a partir de la década de las 40, la industria químico-farmacéutica tuvo un sorprendente desarrollo gracias a la innovación tecnológica que permitió la sustitución de productos naturales por sintéticos. En la actualidad, el deterioro ambiental y la evidencia de que los fármacos y otros productos sintéticos provocan efectos negativos colaterales han estimulado nuevamente el uso de productos naturales, aprovechando cada vez más las plantas aromáticas en diversos sectores y rubros de la sociedad [43-45].

Existen alrededor de 250.000 especies de plantas medicinales [44], de las cuales sólo se conocen 10%, los países de menor grado de desarrollo económico, poseen más alta biodiversidad y albergan una porción importante de éstas. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para Agricultura y la Alimentación (FAO), se calcula, que las dos terceras partes de la población mundial (4000 millones de personas) recurren al uso de plantas medicinales, siendo Estados Unidos (18,6%), Alemania (7,8%), Japón (7,8%), Singapur (7,1%), Francia (4,1%), Países Bajos (3,8%), Arabia Saudita (3,4%), Reino Unido (3,2%), Hong Kong (3,2%) y España (3,0%) los países que concentraron el 61% del total de las importaciones de plantas medicinales entre 1999 y 2002 [2,44].

Para las multinacionales farmacéuticas estos recursos y el conocimiento asociado a ellos son una fuente potencial de nuevos medicamentos. Se estima, que el 30% de fármacos comercializados y el 40% que se encuentran en pruebas clínicas, son derivados de plantas, representando un mercado cuyo valor económico se calcula en 50 billones de dólares anuales [44,45].

Los AE se usan primordialmente en las industrias de alimentos, farmacéutica, cosmética y en perfumería; pero esto varía según el tipo de aceite. Asimismo,

los AE tienen importancia en medicina, tanto por su sabor, aroma, como por su efecto calmante del dolor, actividad biológica y en aromaterapia [41,46,47].

El mercado internacional de los AE es ca. 1300 millones de dólares anuales. La producción de AE se acerca a las 50.000 ton anuales, el 65% se produce en Asia. China abarca el 40% de la producción mundial, el 15% de la producción está en América. En 2002, los primeros siete países exportadores (Véase, **Tabla 5**) concentraron el 70% de las exportaciones totales, mientras que los primeros cinco países importadores concentraron el 62% de las importaciones mundiales [48,49].

**Tabla 5.** Principales productores, exportadores e importadores de AE a nivel mundial.

<b>PRODUCTORES</b>	<b>EXPORTADORES</b>	<b>IMPORTADORES</b>
Brasil	EE.UU.	EE.UU.
China	Francia	Francia
EE.UU.	Reino Unido	Reino Unido
Egipto	Brasil	Japón
India	China	Alemania
México	Argentina	Suiza
Guatemala	Indonesia	México
Indonesia	México	China
Irán	Italia	España
Marruecos	Alemania	Países Bajos

Los precios de los AE están muy ligados a la abundancia de la especie en la naturaleza y su concentración, a la composición del AE y a los costos de producción. Las diez esencias más representativas (85%) del mercado mundial son naranja, limón, menta, citronela, cedro, eucalipto, especies ricas en citral, lavanda, lavandines y *Pinus spp.*, aunque las especies más importantes en cuanto a su valor comercial son las mentas, limón, rosa, jazmín, especies ricas

en citral, sándalo, vetíver, patchoulí, geranio, cedro, lavandines, citronela y cítricos [2,5,42,46].

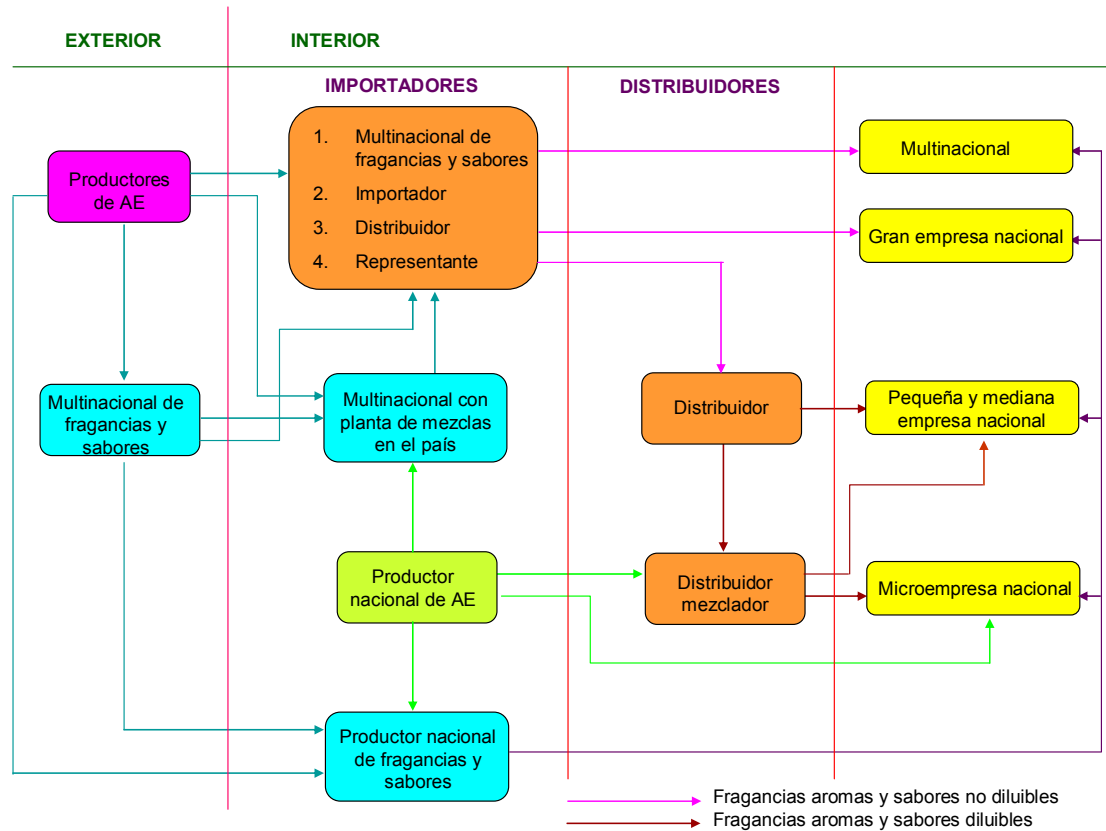
En una publicación reciente, la FAO identificó como comercialmente importantes a 116 *ítems* del grupo de PFNM (Productos Forestales No Maderables), entre los cuales se incluyeron 26 AE. En Centroamérica, los AE son los productos de mayor relevancia económica dentro del grupo de los PFNM, siendo México y Guatemala los principales países importadores de AE, e.g. menta y cítricos, destinados para la industria alimenticia. Entre 1999 y 2000, el valor de las importaciones de AE en Centroamérica aumentó, pasando de 41 millones de dólares en 1998 a 47 millones de dólares en el año 2000 [41].

Las importaciones provenientes de países en desarrollo están dominadas por Brasil y los principales productos son los AE de naranja, que representaron el 40% del total de las importaciones en 1997. En el año 2000, los países suramericanos importaron más de 53 millones de dólares en AE y los principales proveedores de estos productos fueron Estados Unidos, algunos países de la Comunidad Económica Europea e India [41].

Los mayores consumidores de saborizantes (*flavours*) son los fabricantes de licores y bebidas, principalmente, de bebidas no alcohólicas y dietéticas. Solo Europa maneja un mercado de más de 1000 millones de dólares, representados por 200.000 ton de AE. Por su parte, la industria de perfumes manejó ventas por 3000 millones de dólares, y sólo en Europa, en 1994 representó 1630 millones de dólares y 108.000 ton [5].

Aunque el mercado de los AE comunes presenta una demanda limitada debido a que ésta ya se encuentra satisfecha en el mundo, la cadena productiva de AE y derivados de extractos de plantas aromáticas y medicinales, es una industria que ha mostrado crecimientos anuales del 10% a nivel mundial. En la **Figura 7**

se describe la cadena de producción y distribución hasta el consumidor final de los AE, tanto importados como producidos en Colombia [1,5].



**Figura 7.** Cadena de distribución de AE en Colombia [5].

## 1.7. ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo se caracteriza por un desequilibrio del balance de prooxidantes/antioxidantes, a favor de los primeros. La formación de especies reactivas de oxígeno (ERO), o los llamados prooxidantes, es un atributo de la vida aerobia normal. Este proceso biológico, se lleva a cabo por reacciones de oxidación-reducción, que involucran la transferencia de electrones y conducen a la formación de diferentes compuestos en los procesos metabólicos celulares, entre los cuales se encuentran productos e intermediarios conocidos como radicales o ERO.

La vida aerobia, se caracteriza por una formación constante de prooxidantes balanceada por la desaparición de los mismos gracias a la acción de los antioxidantes (AO); ahora bien, si no existe una regeneración continua de la capacidad AO, las lesiones por oxidación se acumulan y conducen a trastornos fisiopatológicos [50-52]. Es decir, si los sistemas de protección AO resultan insuficientes para neutralizar los radicales generados en los procesos fisiológicos y ambientales, esto puede llegar a ocasionar la aparición de ciertas enfermedades, tales como cáncer, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias, arterosclerosis, cataratas, diabetes, enfermedades renales, pancreatitis, esclerosis múltiple, Parkinson, disfunciones pulmonares, reacciones adversas con fármacos, o lesiones dérmicas [53,54].

Se puede afirmar, que el estrés oxidativo aparece cuando la producción de las ERO supera la capacidad de las defensas AO, ya sea por reducción de los niveles de estas defensas y/o por incrementos en la producción de las ERO. El estrés oxidativo tiene lugar en la mayoría de las enfermedades humanas, si no en todas y, puede desempeñar un papel patológico significativo en algunas de ellas.

El efecto que producen los oxidantes en el organismo (estrés oxidativo), depende no sólo de la agresividad química del propio oxidante, sino también de la cantidad de éstos y del tiempo de exposición, así como del tipo de tejido que sufra el efecto y de la eficacia de las defensas AO disponibles [51].

## **1.8. ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO**

Las ERO se forman constantemente en el organismo humano y también son eliminados continuamente del mismo, por las defensas AO naturales. Estas especies, se han vinculado con más de cien enfermedades, y se ha encontrado que estos compuestos participan en la lesión tisular en la gran mayoría de enfermedades.

Algunos compuestos tóxicos, derivados del oxígeno no son radicales (carecen de electrones no apareados), pero participan a menudo en las reacciones con los radicales.

El término "ERO", abarca tanto los radicales de oxígeno (superóxido e hidroxilo) como las especies no radicalarias, particularmente, el peróxido de hidrógeno y el ácido hipocloroso.

En la **Tabla 6** se muestran las ERO, muchas de las cuales son radicales que participan en la lesión por oxidación. Algunos, como el oxígeno molecular singulete ( $^1\text{O}_2$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) no son radicales y sus tiempos de vida media son diferentes. El radical hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ) es el más reactivo y, por tanto, el de la vida media más corta. El radical peróxido ( $\text{ROO}^\bullet$ ), tiene una vida media relativamente larga y, así, una gran difusión en los sistemas biológicos [50,51,54].

**Tabla 6.** Especies reactivas de oxígeno (ERO) [53].

	<b>Compuesto</b>	<b>Comentarios</b>
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Anión superóxido	Se forma en reacciones de autooxidación.
$\text{HO}_2^\bullet$	Radical perhidroxilo	Forma hidrogenada del anterior, más liposoluble.
$\text{H}_2\text{O}_2$	Peróxido de hidrógeno	No es un radical, pero es un oxidante, que también se produce dentro de las células.
$\text{OH}^\bullet$	Radical hidroxilo	Es el radical más reactivo que se conoce.
$\text{RO}^\bullet$	Radical alcoxi	Intermediarios en la peroxidación.
$\text{ROO}^\bullet$	Radical peroxi	Intermediarios en la peroxidación.
$\Delta g \text{ } ^1\text{O}_2$	Oxígeno singulete	Forma reactiva de oxígeno.

## 1.9. ANTIOXIDANTES (AO)

Un AO, se define como cualquier sustancia que, al estar presente en concentración baja en comparación con la del sustrato oxidable, retarda o inhibe su deterioro oxidativo [50,51,55].

Un AO puede proteger un sustrato de las siguientes maneras [51]:

- Barriendo especies derivadas de oxígeno, usando proteínas catalizadoras (enzimas) o por reacción química directa;
- Impidiendo o retardando la formación de las especies derivadas del oxígeno;
- Reparando el daño al sustrato;
- Destruyendo moléculas que han sufrido daño y reemplazándolas con unas nuevas.

De esta manera, el cuerpo humano usa todos estos mecanismos, siendo la primera línea de defensa antioxidante en células, las enzimas, a saber: glutatión peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa, las cuales en presencia de selenio, hierro, cobre, zinc y manganeso como cofactores en su actividad catalítica llegan a metabolizar los distintos intermediarios tóxicos [51].

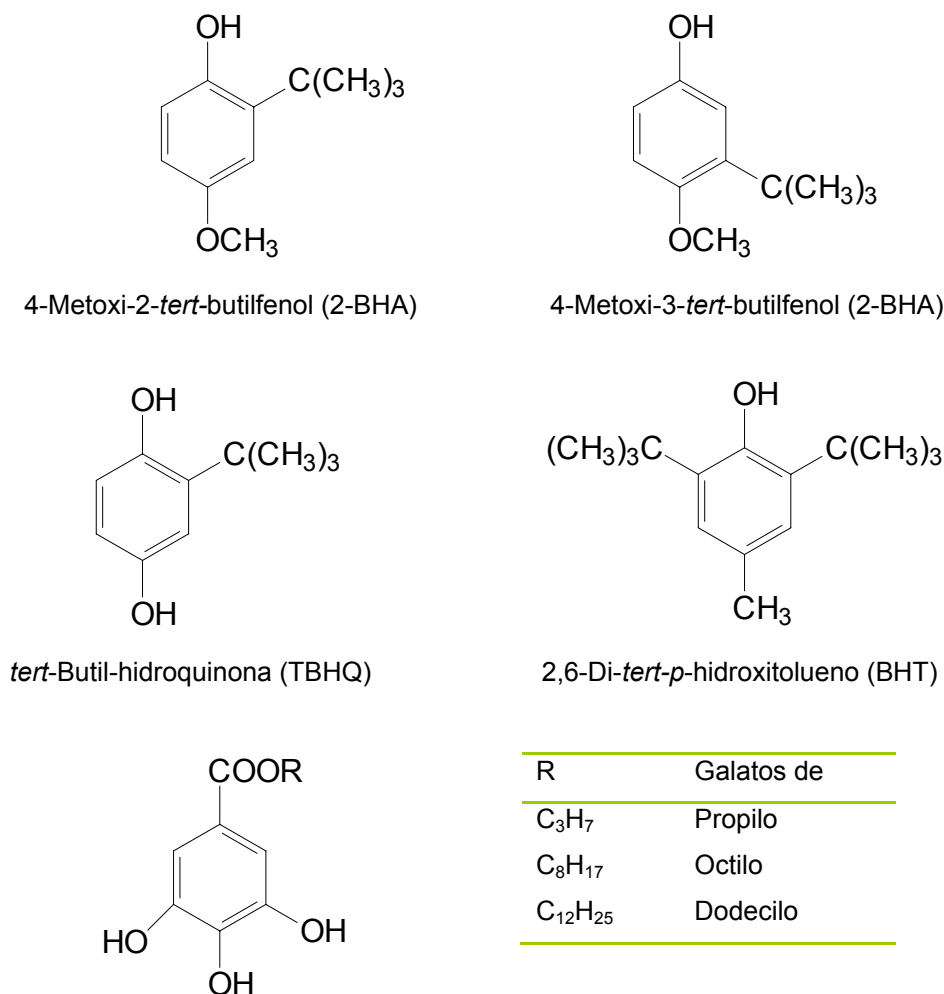
Como se mencionó anteriormente, los centros blanco de los radicales, son fundamentalmente constituyentes *endo-* y extracelulares de importancia vital, como las proteínas, los glúcidos o carbohidratos, los lípidos, las enzimas, el ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN), aunque la oxidación de los ácidos grasos (AG) insaturados es el proceso más frecuente en nuestro organismo, el cual es uno de los daños biológicos más notorios causados por el radical hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ).

Los AG poliinsaturados, forman parte de las biomembranas, los cuales determinan en gran parte su fluidez, para su adecuado funcionamiento. No obstante, el inconveniente se presenta cuando las cadenas de los AG poliinsaturados son atacados por los radicales, los cuales pueden dar inicio a la peroxidación lipídica. Para la defensa de estas membranas se requiere la protección contra estos "agentes oxidantes", por medio de los antioxidantes [51,53,54,56].

### 1.9.1. Antioxidantes sintéticos

Un gran número de AO sintéticos está disponible, para la estabilización de materiales no comestibles, tales como plásticos, gomas y polímeros. Por su parte, el uso de AO sintéticos en los alimentos (por ejemplo, aceites vegetales comestibles), requiere primeramente de rigurosas pruebas toxicológicas, por lo que solamente unos pocos AO sintéticos se usan en los alimentos, para alargar su vida útil, previniendo la peroxidación.

Los AO sintéticos comercialmente disponibles y usados actualmente, son el butil hidroxianisol (BHA), el butil hidroxitolueno (BHT), la *tert*-butil hidroquinona y el propil galato (PG) (Figura 8) [55,57].



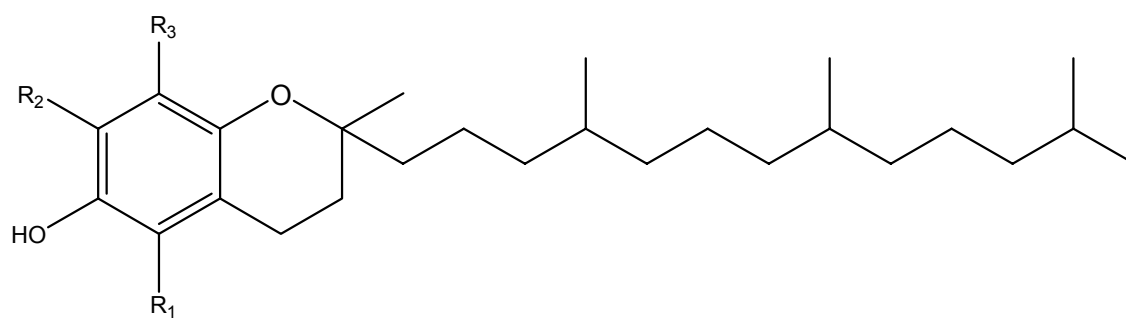
**Figura 8.** Algunos AO sintéticos utilizados en la industria alimenticia.

La mayoría de los AO sintéticos, son del tipo fenólico. Las diferencias en sus actividades AO, están relacionadas con sus estructuras químicas, las cuales influyen también sobre sus propiedades físicas, tales como volatilidad, solubilidad y estabilidad térmica.

### 1.9.2. Antioxidantes naturales

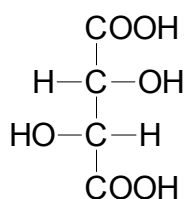
Los AO naturales, se encuentran en casi todas las plantas, microorganismos, hongos, e inclusive en tejidos finos de animales. La mayor parte de los AO naturales, son compuestos fenólicos, a saber: tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos.

En la **Figura 9** aparecen las estructuras químicas de algunos AO de origen natural.

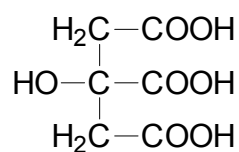


Tocoferoles:

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Nombre
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	α-Tocoferol
CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	β-Tocoferol
H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	γ-Tocoferol
H	H	CH <sub>3</sub>	δ-Tocoferol



Ácido tartárico



Ácido cítrico

**Figura 9.** Algunos antioxidantes de origen natural.

La vitamina E, es el AO más estudiado y empleado, formada por una mezcla de tocoferoles, aunque generalmente se le conoce como vitamina E al  $\alpha$ - tocoferol. Los tocoferoles se encuentran en una gran variedad de plantas, y se les atribuye la capacidad para atrapar radicales [55,57].

#### **1.10. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

La razón por la cual los AO son importantes para los humanos radica en el hecho de que el oxígeno es un elemento potencialmente tóxico en concentraciones altas, o en la presencia de radiaciones, ya que puede ser transformado por la actividad metabólica en especies más reactivas tales como superóxido, peróxido de hidrógeno, oxígeno singulete y radicales hidroxilo [58].

Desde los años cincuenta se han realizado múltiples investigaciones enfocadas a extraer compuestos con propiedades AO a partir de plantas, fue así como se encontraron las sustancias conocidas como flavonoides y tocoferoles. La mayoría de los AO naturales son compuestos fenólicos, por ejemplo, tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos. Los AO, según el mecanismo de acción se dividen en dos tipos: AO de ruptura de cadena (tocoferoles) y AO preventivos (carotenoides) [59].

Muchos AE poseen AO, entre ellos, el aceite de romero, el cual ha sido reconocido por su capacidad AO y se han identificado varios componentes como el ácido carnósito, ácido carbónico, rosmarindifenol y ácido rosmarínico [56,59]. En la actualidad, existen diversos estudios sobre la actividad AO, entre ellos, el trabajo realizado en Ecuador sobre la actividad AO y antiinflamatoria de algunas plantas usadas en medicina tradicional, en el cual se encontró que la acción AO de los componentes de las plantas está relacionada con los compuestos fenólicos, e.g. flavonoides, taninos, lactonas sesquiterpenoides, entre otras. En la **Tabla 7** se muestran algunos AE que poseen actividad AO [28,56,59,60].

La evaluación de la actividad AO de distintas sustancias de origen natural o sintético se puede realizar utilizando diferentes métodos, los cuales pueden ser clasificados en dos grupos grandes, a saber: en el primero, sobresalen los métodos que determinan la capacidad de inhibir el proceso de la peroxidación lipídica, usando un sistema modelo, el cual será sometido a oxidación acelerada, buscando así, monitorear y detectar compuestos, tanto degradados como generados producto de la peroxidación [53,55].

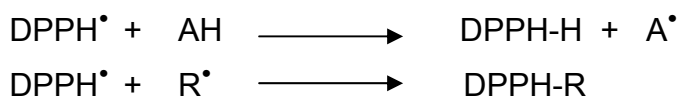
**Tabla 7.** Algunos AE que poseen actividad AO [28,56,59,60].

Nombre común	Nombre científico
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>
Ylang-ylang	<i>Cananga odorata</i>
Salvia negra	<i>Lepechinia schiedeana</i>
Anís	<i>Pimpinella anisum</i>
Pronto alivio	<i>Lippia alba</i>
Achón	<i>Xylopi aromatica</i>
Venturosa	<i>Lantana armata</i>
Poleo	<i>Satureja brownei</i>
Cilantro	<i>Coriandrum sativum</i>
Carqueja tres espigas	<i>Baccharis trinervis</i>
Chusalonga	<i>Eupatorium glutinosum</i>
Calalú, Jaboncillo	<i>Phytolacca rivinoides</i>
Papa cimarrona	<i>Phytolacca bogotensis</i>

El segundo grupo, busca medir la capacidad de una sustancia para atrapar radicales, midiendo la reducción de radicales estables o radicales generados por diferentes medios (radiólisis, fotólisis o la reacción Fenton). Los ensayos más empleados son de decoloración del catión-radical del ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico, ABTS<sup>+</sup>, y del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo, DPPH<sup>•</sup>. Ambos presentan una excelente estabilidad, bajo ciertas condiciones de ensayo, aunque también muestran notorias diferencias en su respuesta a varios AO [59].

El DPPH<sup>•</sup> es un radical que existe en su forma estable, en tanto que el ABTS<sup>••</sup> debe ser generado *in situ* por medio de la oxidación del ABTS, ya sea por reacción química (dióxido de manganeso o persulfato de potasio), enzimática (peroxidasa o mioglobina), o también electroquímicamente. Además, el radical DPPH<sup>•</sup> sólo puede disolverse en medio orgánico (etanol, metanol, etc.), mientras que el catión-radical ABTS<sup>••</sup> es soluble tanto en medio orgánico, como en acuoso, siendo posible a través de este método medir la actividad de compuestos tanto de naturaleza hidrofílica como lipofílica [57,61-64].

Por su parte, el catión-radical ABTS<sup>••</sup> es más reactivo que el radical DPPH<sup>•</sup>, el atrapamiento de radicales es seguido por medio de monitoreo de la reducción de radicales, mediante la disminución de su absorbancia a una longitud de onda característica. En su forma radical, el DPPH<sup>•</sup> absorbe a 515 nm (medio metanólico), pero cuando sucede su reducción por un compuesto AO (AH) o una especie radicalaria (R<sup>•</sup>), la absorción desaparece [65,66].



De otro lado, la reacción entre el ABTS y el persulfato de potasio genera un compuesto cromóforo azul-verdoso, el catión-radical ABTS<sup>••</sup>, el cual absorbe a 645, 734 y 815 nm. La adición de una sustancia AO reduce el catión-radical a ABTS y su reactividad se compara con la de un AO patrón, por ejemplo, Trolox<sup>®</sup>, etc. [61,66,67].

## 1.11. OTRAS ACTIVIDADES BIOLÓGICAS

Entre las distintas fuentes de productos naturales, las plantas son las más estudiadas, aproximadamente el 25% de las drogas prescritas en el mundo tienen su origen en las plantas [68]. Existen 252 drogas consideradas como básicas y esenciales por la OMS, de las cuales el 11% provienen

exclusivamente de las plantas y la misma organización sugiere procedimientos básicos para validar su uso en países en desarrollo, pues las plantas han sido utilizadas desde la antigüedad para muchos fines. Las plantas son un campo de constante estudio, especialmente, porque cada día la tendencia del consumidor es usar ingredientes de origen natural, con menor o ningún efecto tóxico, comparado con los productos sintéticos utilizados actualmente. Los AE, especialmente, aquellos procedentes de plantas aromáticas y medicinales, han demostrado poseer diferentes actividades biológicas, tales como antiviral, antibacterial, antimicótica, citotóxica y AO [68].

La citotoxicidad es una de las pruebas comúnmente usadas *in vitro* para evaluar la biocompatibilidad. Para medir la toxicidad de una planta o extracto, con frecuencia se utiliza el bioensayo con *Artemia salina* o con *Artemia franciscana* (Figura 10).



**Figura 10.** *Artemia franciscana*.

Es una prueba simple, rápida, de bajo costo y da una valoración preliminar de la toxicidad indicando cuáles materiales o sustancias deberían ser descartados o sujetos a evaluaciones posteriores. Este ensayo se basa en la capacidad de las sustancias bajo estudio para matar los nauplios de *Artemia franciscana* cultivados en el laboratorio. La *Artemia franciscana*, al igual que la *Artemia salina*, es utilizada no sólo para evaluar la toxicidad de productos vegetales (AE y extractos), sino también como método de comprobación de actividad para algunos pesticidas, analgésicos, micotoxinas, toxinas de dinoflagelados, cianobacterias, metales pesados y materiales dentales, entre otros. Los bioensayos para evaluar la toxicidad de un AE se expresan como concentración letal media (CL<sub>50</sub>) [69-76].

La *Artemia franciscana* es un organismo completo en cuanto a enzimas se refiere, es un crustáceo pequeño, de reproducción bisexual, con larvas (nauplios) que son sensibles a una gran variedad de sustancias. Es originaria del continente americano, no se halla en el mar sino en masas de agua litorales o continentales de elevada salinidad (lagunas, lagos salados y salinas), presentes en todos los continentes, excepto en la Antártica, las poblaciones más conocidas se encuentran en las salinas de la bahía de San Francisco (California) y en el *Great Salt Lake* (Utah) en EE.UU. [70,71,77].

Los hongos son organismos que no sólo atacan las plantas, sino también al hombre, especialmente a pacientes inmunocomprometidos, siendo *Candida* y *Aspergillus* los géneros más agresivos para este tipo de pacientes [78].

Algunos antimicóticos tienen un alto costo y/o exhiben toxicidad, mientras que ciertos hongos presentan resistencia a los antimicóticos disponibles, lo que hace necesario desarrollar nuevos productos con amplio espectro de acción, con diferentes mecanismos de ésta y con mayor potencia.

AE como *Lippia organoides*, *Lippia alba*, *Conyza bonariensis* y *Calycolpus moritzianus* poseen actividad antimicótica, así como otros AE muestran actividad antimicrobiana tanto *in vivo* como *in vitro* y sirven como principio activo de medicamentos eficaces para el tratamiento de algunas micosis humanas, los cuales pueden ser usados solos o en combinación con las terapias antimicóticas convencionales [79-86].

En investigaciones previas se ha encontrado que las actividades antibacterial y antimicótica de los AE están relacionadas con su composición química, especialmente, con el contenido alto de algunos constituyentes, para los cuales se ha determinado el siguiente rango de actividad [39,87]:

fenoles > aldehídos > alcoholes > cetonas > éteres > hidrocarburos

## 1.12. PLANTAS AROMÁTICAS COLOMBIANAS BAJO ESTUDIO

### 1.12.1. *Calycolpus moritzianus*

*Calycolpus moritzianus* (Figura 11) es planta tropical, perteneciente a la familia *Myrtaceae*. Las principales áreas de distribución de esta especie vegetal son América, Asia tropical y Australia. También se conoce como *Psidium caudatum* o *Psidiosis moritziana*, popularmente recibe el nombre de “Arrayán o Palo blanco”. Se utiliza en el tratamiento de la gripe, tos y bronquitis crónica [82,88].



Figura 11. *Calycolpus moritzianus*.

La composición química y la actividad biológica de esta especie se muestran en la Tabla 8 [82,88].

Tabla 8. Composición química y actividad biológica de *Calycolpus moritzianus*.

Composición química	Actividad biológica
AE: terpinen-4-ol (47.72%), $\gamma$ -terpineno (11.58%), $\alpha$ -terpineno (6.70%), limoneno (5.20%) [82].	Exhibe un espectro amplio de actividad antimicrobiana que se puede atribuir principalmente al contenido de terpinen-4-ol [82].
AE: 1,8-cineol (29,3%), $\alpha$ -felandreno y eugenol [88].	

### 1.12.2. *Lippia micromera*

*Lippia micromera* (Figura 12) es un arbusto de la familia *Verbenaceae*, con olor similar al orégano, tomillo y salvia. Se conoce también como *Lippia micromer*,

*Lippia micromeria*, *Lippia organifolia* o *Gardoquia organoides*. Popularmente se conoce como “Orégano”. Es usado en medicina tradicional como estomáquico y para aliviar el asma [2].



**Figura 12.** *Lippia micromera*.

La composición química y la actividad biológica de esta especie se muestran en la **Tabla 9** [89-91].

**Tabla 9.** Composición química y actividad biológica de *Lippia micromera*.

Composición química	Actividad biológica
Cuba, AE: carvacrol (42%) [89].	No se encuentra reportada en la literatura.
AE: carvacrol (26,5%), $\gamma$ -terpineno (22,5%) y <i>p</i> -cimeno (11,5%) [90].	
AE: Quimiotipo 1: geranial y neral. Quimiotipo 2: carvacrol [91].	

### 1.12.3. *Lippia organoides*

*Lippia organoides* (**Figura 13**) es un arbusto aromático de la familia *Verbenaceae*, nativo de América Central y norte de Suramérica, especialmente en la región Amazónica. También se conoce como *Lippia berterii*, *Lippia schomburgkiana*, *Lantana organoides* o *Lantana ciliaris*. Esta planta es conocida popularmente como “Salvia de Marajó, orégano, orégano de burro, poleo, orégano cimarrón, orégano de cerro, orégano ancho”. Se utiliza en

culinaria y como planta medicinal popular para el tratamiento de cólicos, resfriados, asma, tos, infecciones pulmonares, indigestión, diarrea, náusea, fiebre y también se utiliza como estomáquico, antiespasmódico, emenagogo, expectorante y antiséptico [2,85,86,92,93].



**Figura 13.** *Lippia origanoides*.

La composición química y la actividad biológica de esta especie se muestran en la **Tabla 10** [85,86,94-96].

**Tabla 10.** Composición química y actividad biológica de *Lippia origanoides*.

Composición química	Actividad biológica
Brasil, AE: $\alpha$ -terpineno (22.4%), <i>p</i> -cimeno (27.8%) y timol (20.6%) [94].	El AE tiene actividad antimicrobiana contra los siguientes hongos y bacterias: <i>Candida albicans</i> , <i>Candida guilliermondii</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Trychophytum rubrum</i> , <i>Fonsecaes pedrosi</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> y <i>Streptococcus mutans</i> ; se supone que esta actividad está relacionada con los compuestos fenólicos, carvacrol y timol [85].
Brasil, AE: timol (38.4%), carvacrol en trazas (0.4%) [95].	
AE: $\gamma$ -terpineno (4.27%), <i>p</i> -cimeno (3.23%), metil timil éter (2.54%), acetato de timilo (17.0%), y trazas de carvacrol (0.36%) [96].	La evaluación <i>in vitro</i> de los AE demostró una alta actividad antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA, <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> [86].
Brasil, AE: carvacrol (38.6%) y timol (18.5%), <i>p</i> -cimeno (10.3%) $\gamma$ -terpineno (4.1%) y <i>trans</i> - $\beta$ -cariofileno (5.9%) [85].	
AE: carvacrol (33.5-42.9%), $\gamma$ -terpineno (8.0-10.5%), timol (5.1-8.4%), metil timil éter (6.1-8.7%) y <i>p</i> -cimeno (11.9-15.8%) [86].	

#### 1.12.4. *Lippia alba*

*Lippia alba* (Figura 14) es un subarbusto de la familia *Verbenaceae*, también conocido como *Lantana alba*, *Lippia geminata*, *Lantana citrata*, o *Lippia geniculata*, entre otros. Popularmente se conoce como “Pronto alivio, curalotodo, falsa melisa, juanilama, anís de España, orégano de cerro, salvia morada, poleo, salvia americana, etc.” Esta especie es nativa de América y se usa en medicina tradicional como estomacal, antiespasmódico, digestiva, estimulante, analgésico, béquico, antihemorroidal, expectorante, sedante, desinfectante, diaforético, abortiva, emenagogo y para el tratamiento de resfriados, diarrea, artritis, corazón, presión, sinusitis, espasmos, bronquitis y cólicos. También se utiliza en culinaria [2,27,91,93,97-101].



Figura 14. *Lippia alba*.

Tabla 11. Quimiotipos de *Lippia alba* y su lugar de origen.

Quimiotipo	Componente mayoritario	País
I	Citral, linalol	Argentina, Guadalupe, India, Brasil, Guatemala, Curazao, Uruguay
II	Tagetenona	Argentina, Guatemala
III	Carvona, limoneno	Brasil, Cuba, Colombia
IV	Mirceno	Argentina, India
V	$\gamma$ -Terpineno	Brasil
VI	Alcanfor, 1,8-cineol	Uruguay
VII	Estragol	EE.UU.

En un estudio realizado en 2006, se clasificaron los quimiotipos de *Lippia alba*, cultivados en diferentes partes del mundo; éstos se agruparon de acuerdo con la ruta biosintética de sus metabolitos secundarios, identificándose 7 quimiotipos para esta especie (**Tabla 11**) [97]. La composición química y la actividad biológica de esta especie se muestran en la **Tabla 12** [27,83,84,98,99,101-110].

**Tabla 12.** Composición química y actividad biológica de *Lippia alba*.

Composición química	Actividad biológica
AE: Quimiotipo A: Citral (55.1%), $\beta$ -mirceno (10.5%), y limoneno (1.5%). Quimiotipo B: Citral (63.0%) y limoneno (23.2%). Quimiotipo C: Carvona (54.7%) y limoneno (12.1%) [83,99,102].	Presenta actividad antimicrobiana contra <i>Candida albidans</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Neurospora crassa</i> , <i>Deschlera oryzae</i> y <i>Fusarium moniliforme</i> . Tóxica solo en altas dosis.
AE: Carvona (40–57%), limoneno (24–37%), biciclosesquifelandreno (5–22%), piperitona (1–2%), piperitona (ca. 1.0%), y $\beta$ -bourboneno (0.6–1.5%) [27].	Presenta actividad analgésica, antiedematogénica y anticonvulsiónante [83,106].
AE: $\beta$ -Cariofileno (24.3%), geranial (12.9%), neral (9.6%), 2-undecanona (9.0%) [103].	El quimiotipo rico en carvona presenta actividad AO, actividades antifúngica y antibacterial contra <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella typhimurium</i> [84].
AE: Quimiotipo A: Mirceno y <i>cis</i> -ocimeno. Quimiotipo B: Citral y 1,8-cineol [101].	Presenta una actividad AO baja. Se encontró actividad AO con un valor de IC <sub>50</sub> de 23 $\mu$ g/mL.
AE: Quimiotipo A: Dihidrocarvona, alcanfor, linalol y citral. Quimiotipo B: Limoneno, lippiona, piperitona. Quimiotipo C: Citral. Quimiotipo D: Limoneno, citral, carvona, $\alpha$ -cubebene y $\beta$ -cariofileno [104].	Presentó un efecto protector AO <i>in vitro</i> [27,107,108].
AE: Quimiotipo A: 1,8-Cineol (34,9%), limoneno (18,4%), carvona (8,6%) y sabineno (8,2%). Quimiotipo B: Limoneno (32,1%), carvona (31,8%) y mirceno (11,0%). Quimiotipo C: Neral (13,7%), geranial (22,5%), germacreno D (25,4%) y $\beta$ -cariofileno (10,2%) [105].	Presentó actividad analgésica y antiinflamatoria [102].
	Presentó un efecto preventivo para ulceraciones gástricas inducidas [88].
	Presentó actividad antiviral [109,110].

### 1.12.5. *Hyptis mutabilis*

*Hyptis mutabilis* (Figura 15) es una hierba de la familia *Labiatae*, también conocida como *Nepeta mutabilis* o *Hyptis spicata*. Se encuentra distribuida en Europa, Asia y América, se conoce popularmente como “Mastrando o polvoroso”. Se usa en medicina tradicional para el tratamiento del paludismo y las fiebres palúdicas, malaria, en el tratamiento de enfermedades de la mucosa cervical uterina, gastritis, úlceras gástricas, infecciones de la piel y conjuntivitis [93,111,112]. La composición química y la actividad biológica de esta especie se muestran en la **Tabla 13** [112-117].

**Tabla 13.** Composición química y actividad biológica de *Hyptis mutabilis*.

Composición química	Actividad biológica
Argentina, AE: Mircenona, <i>trans</i> - y <i>cis</i> -dihidrocarvonas y alcanfor [113].	El AE exhibió actividad antimicrobiana significativa contra el <i>Mucor sp.</i> [116].
Brasil, AE: Quimiotipo 1: Timol (37.4%), <i>p</i> -cimeno (19.3%) y $\gamma$ -terpineno (16.6%); Quimiotipo 2: $\delta$ -3-Careno (25.5%), terpinoleno (24.7%) y globulol (11.9%); Quimiotipo 3: $\beta$ -Cariofileno (18.4%), 1,8-cineol (16.8%) y biciclogermanceno (12.6%); Quimiotipo 4: (E)- y (Z)-Cinamatos de metilo (70.0 y 9.8%, respectivamente [114].	Exhibe una acción protectora contra ulceración gástrica [112].
AE: $\beta$ -Cariofileno (14.3-12.0%), germacreno D (14.7-15.3%), curzereno (11.5-12.7%) y biciclogermacreno (12.1-14.2%) [115].	
AE: $\beta$ -Cariofileno (14.7%), espatulenol (14.2%) y germacreno D (11.1%) [116].	
Brasil, AE: AE-1: $\alpha$ -Felandreno (18,4%), $\alpha$ -pineno (16,8%), $\beta$ -cariofileno (13,1%). AE-2: <i>p</i> -Cimeno (15,1%), $\beta$ -cariofileno (12,4%) y timol (7,9%) [117].	
Brasil, AE: $\beta$ -Cariofileno (65,1%), $\beta$ -cubebeno (8,7%) [112].	



**Figura 15.** *Hyptis mutabilis*.

#### **1.12.6. *Conyza bonariensis***

*Conyza bonariensis* (**Figura 16**) es una planta herbácea de la familia *Asteraceae*, suele encontrarse en regiones montañosas, entre el bosque y la sabana. Se conoce comúnmente como “Yerba carnífera, carnífera o rama negra”. Algunos sinónimos son *Conyza floribundus*, *Erigeron floribundus* y *Erigeron bonariensis*. Se utiliza en medicina tradicional para tratar reumatismo, gonorrea, disentería, cistitis, nefritis, dismenorrea, dolor dental, dolor de cabeza, hemorroides y diarrea. También se usa como vermífugo, hepatoprotector, antiinflamatorio, diurético antiulcerosa y antiuricémico. Sus hojas se utilizan junto con las hojas de *Bidens pilosa* y *Ageratum conyzoides* para tratar malaria e ictericia. El extracto acuoso se utiliza en Argentina como insecticida, antipirético, antihelmíntico, digestivo y astringente [61,92,118-121].



**Figura 16.** *Conyza bonariensis*.

La composición química y la actividad biológica de esta especie se muestran en la **Tabla 14** [63,81,118,119,121-124].

**Tabla 14.** Composición química y actividad biológica de *Conyza bonariensis*.

Composición química	Actividad biológica
<p>Camerún, AE de las hojas: (E)-Dec-2-en-4,6-diinoato de metilo (23.7-26.2%), <math>\beta</math>-cariofileno (14.7-16.6%), (E)-<math>\beta</math>-farneseno (14.6-16.4%) y limoneno (8.5-11.4%). AE de la flor: (E)-<math>\beta</math>-Farneseno (21.1-22.3%), <math>\beta</math>-cariofileno (17.3-20.1%) y germacreno D (10.1-11.0%) [81].</p> <p>Grecia, AE: <i>Lachnophyllum</i> éster (21,2%), matricaria éster (17,5%), <i>trans</i>-<math>\beta</math>-ocimeno (11,5%), limoneno (8,3%), <i>trans</i>-<math>\beta</math>-farneseno (8,1%), germacreno D (3,8%) [121].</p> <p>Brasil, AE: AE-1: <i>trans</i>-<math>\beta</math>-Farneseno (23,3%), germacreno D (15,3%), <math>\beta</math>-cariofileno (14,4%) y limoneno (12,6%). AE-2: <i>trans</i>-<math>\beta</math>-Farneseno (20,1-30,9%), <math>\beta</math>-cariofileno (13,3%) y limoneno (22,9%). AE-3: Limoneno (58,4%) [122].</p> <p>Brasil: AE: Limoneno (29,6%), <i>trans</i>-<math>\beta</math>-bergamoteno (10,3%), matricaria metil éster (8,3%), <math>\beta</math>-copaen-4-<math>\alpha</math>-ol (7,4%), carvona (4,5%) [123].</p> <p>España: <i>Lachnophyllum</i> éster y germacreno D-4-ol [124].</p>	<p>Posee características analgésicas centrales y periféricas, y actividad antiinflamatoria significativa [63,118].</p> <p>Posee actividad antimicótica contra el <i>Trichophyton rubrum</i>, <i>Trichophyton mentagrophytes</i>, <i>Cryptococcus neoformans</i> y <i>Candida albicans</i>. El AE de las flores es más activo que el AE de las hojas. El <i>Candida albicans</i> es el hongo más sensible, con un MIC de 2.25 g/mL [81].</p> <p>Las hojas secas en la India, tienen actividad antifúngica contra varios hongos [119].</p> <p>Se sospecha de su toxicidad para el ganado [119].</p>

### 1.12.7. *Piper auritum*

*Piper auritum* (**Figura 17**) es una especie vegetal perteneciente a la familia *Piperaceae*. También se conoce como *Artanthe aurita*, el hábitat de esta

especie es Centro y Sur América. Se conoce popularmente como “Anisillo, cordoncillo, santa maría, candela de Ixote, matarro e hinojo sabalero”. Se utiliza como analgésico, antirreumático, saborizante, estomático, antiinflamatorio, emenagogo, estimulante uterino, vasodilatador, antiséptico, para tratar lesiones de la piel, resfriado común, para remover ácaros y para agilizar el parto [2,9,125-127].



**Figura 17.** *Piper auritum*.

La composición química y la actividad biológica de esta especie se muestran en la **Tabla 15** [2,9,75,125-132].

**Tabla 15.** Composición química y actividad biológica de *Piper auritum*.

Composición química	Actividad biológica
Se encontró como componente mayoritario safrol [126,128].	Se utilizó <i>Artemia salina</i> L. para establecer su toxicidad. Se determinó un valor LC <sub>50</sub> de 26.67 µg/mL, lo cual indica toxicidad. Se determinó un LC <sub>50</sub> de 396 µg/mL. Un valor LC <sub>50</sub> < 1000 µg/mL se considera bioactivo [75,127].
AE: Safrol, canfeno, limoneno, alcanfor, eugenol y miristicina [2,9].	Se realizaron estudios con <i>Aspergillus nidulans</i> y no se encontraron efectos genotóxicos, tampoco se observó efecto tóxico sobre el crecimiento de las colonias [125].
Panamá, AE: Safrol, miristicina, canfeno, α-tuyeno, α-pineno, entre otros [129].	El extracto presentó una neutralización baja (10%) frente al efecto hemorrágico del veneno del <i>Bothrops atrox</i> [130].
	Presentó actividad antifúngica [131].
	No presenta actividad AO [132].

#### 1.12.8. *Piper bredemeyeri*

*Piper bredemeyeri* (Figura 18) es una planta perteneciente a la familia *Piperaceae*. También se conoce como *Artanthe bredemeyeri*, *Artanthe radula*, *Piper amagarum* o *Piper copacabanense*, entre otros. Es conocida popularmente con el nombre de “Cordoncillo negro” y se usa como antiblenorrágico. La composición y la actividad biológica de esta especie no se encuentran reportadas en la literatura [88,92].



Figura 18. *Piper bredemeyeri*.

#### 1.12.9. *Piper eriopodon*

*Piper eriopodon* (Figura 19) es una planta perteneciente a la familia *Pipereaceae*. También se conoce como *Artanthe eriopoda*, *Piper leptophyllum* o *Piper tomasi*, entre otros. Es conocida popularmente con el nombre de “Cordoncillo”. La composición y la actividad biológica de esta especie no se encuentran reportadas en la literatura [92].



Figura 19. *Piper eriopodon*.

### 1.12.10. *Hedyosmum racemosum*

*Hedyosmum racemosum* (Figura 20) es una planta perteneciente a la familia *Chlorantaceae*. También se conoce como *Hedyosmum bolivarianum*, *Hedyosmum glabratum*, *Hedyosmum huilense*, *Hedyosmum integrum*, *Hedyosmum llanorum* o *Tafalla glauca*, entre otros. Es conocida popularmente con el nombre de “Altacopa” y se utiliza para tratar el reumatismo. La composición y la actividad biológica de esta especie no se encuentran reportadas en la literatura [92,133].



**Figura 20.** *Hedyosmum racemosum*.

El creciente interés del hombre por reducir el consumo de sustancias sintéticas, lo ha llevado a la necesidad de desarrollar la agroindustria de productos naturales. Colombia, aunque actualmente es un importador de AE, también ha empezado a incursionar en esta industria y en el estudio de las especies oriundas y aclimatadas, con el fin de desarrollar nuevos productos y conquistar nuevos mercados.

Durante los últimos 60 años los terpenoides han sido objeto de intensa investigación en el mundo. Estos metabolitos secundarios parecen no tener relación directa con el crecimiento y desarrollo de las plantas, pero sí tienen importantes funciones ecológicas. El valor económico y la aplicación industrial de las esencias están directamente relacionados con su composición química,

la cual, a su vez, determina tanto las propiedades fisicoquímicas, a saber: color, sabor, volatilidad, etc. -como su actividad biológica [9,17].

El contenido de fenoles, principalmente, seguido de la presencia de alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, y otros compuestos oxigenados, determinan las propiedades biológicas de los aceites esenciales [39,87]. Así, los fenoles y aldehídos alifáticos  $\alpha,\beta$ -insaturados actúan como inhibidores o microbicidas, mientras que, los sesquiterpenos exhiben actividades citotóxica y mutagénica. De igual forma, a mayor contenido de fenoles en un AE, mayor es la actividad AO de la mezcla, debido a que estos compuestos son capaces de donar un átomo de hidrógeno a la especie molecular radicalaria [87,134,135].

Se puede concluir, que la bioactividad evaluada de los AE bajo estudio estará influenciada por su composición química. Se espera una alta actividad AO y antimicótica, para aquellos AE que poseen alto contenido de compuestos oxigenados; mientras que una alta citotoxicidad presentarán los AE con mayor contenido de hidrocarburos sesquiterpénicos o monoterpénicos. Para ésto, en este trabajo, se determinó la composición química de los AE de las 10 plantas aromáticas y sus actividades citotóxica, AO y antimicótica. Posteriormente, estas bioactividades se relacionaron con la composición química de los AE, usando un análisis estadístico MLR.

## 2. CIENCIOMETRÍA

En 1969, el ruso Vassily Vassilievich Nalimov definió la bibliometría en su libro *Naukometrija*, como: "La aplicación de métodos cuantitativos a la investigación sobre el desarrollo de la ciencia como un proceso informativo". La bibliometría como término surgió en Europa Oriental, y alcanzó su máxima popularidad en 1977, con el surgimiento de la revista titulada *Scientometrics* [136,137].

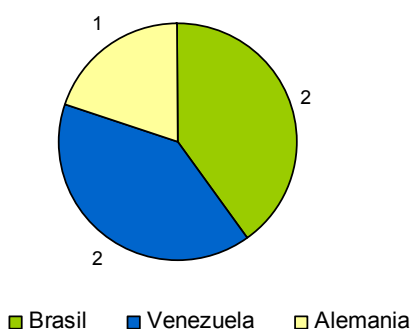
La bibliometría es el resultado de la convergencia de dos movimientos: uno norteamericano, centrado en el estudio de la "*Ciencia de las ciencias*"; y el otro, de los países del Este, especialmente, de la antigua Unión Soviética, corriente denominada como *Naukovodemia*. Los dos movimientos tienen un objetivo similar, *i.e.* estudiar científicamente la actividad de la investigación, para favorecer su desarrollo, ver sus tendencias futuras analizando el pasado y el presente [138].

La bibliometría comprende el conjunto de trabajos dedicados al análisis cuantitativo de la investigación científica y técnica; es una herramienta basada en el análisis y cómputo de determinados indicadores, *e.g.* autores de artículos, palabras contenidas en los títulos de los artículos o en los resúmenes, país de publicación del artículo, año de publicación y patentes, etc. El uso de indicadores bibliométricos es cada vez más frecuente en países desarrollados para definir sus políticas de apoyo a las actividades científicas y tecnológicas [138-140].

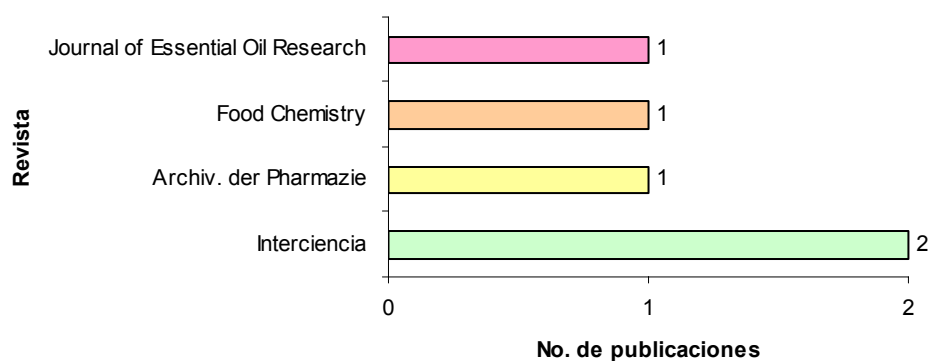
Para el análisis bibliométrico de esta investigación se tuvieron en cuenta los siguientes indicadores de actividad bibliométrica: Productividad de los autores, distribución de las publicaciones a escala internacional, años de publicación, revistas, áreas tecnológicas y patentes. Se realizó un análisis bibliométrico, utilizando las bases de datos ***Elsevier (Scopus)*** y ***Web of Science***, el período de observación fue entre 1970-2007 y 1975-2007, respectivamente [141,142].

## 2.1. *Lippia origanoides*

En las **Figuras 21-28** y las **Tablas 16-17** se indica la relación de los artículos registrados en las bases de datos de *Elsevier-Scopus* (5) y *Web of Science* (5), para la especie *Lippia origanoides*. Se encontró que 2005 fue el año en que más se publicó sobre esta especie, siendo *Interciencia* la revista con mayor número de publicaciones. Brasil y Venezuela son los países que más se han interesado por el estudio de esta planta aromática, especialmente, en el área de conocimiento, Química.



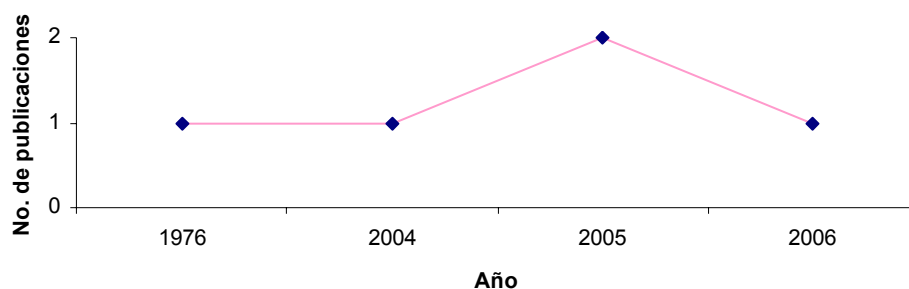
**Figura 21.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Lippia origanoides*. Fuente: *Elsevier (Scopus)*. Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia origanoides*").



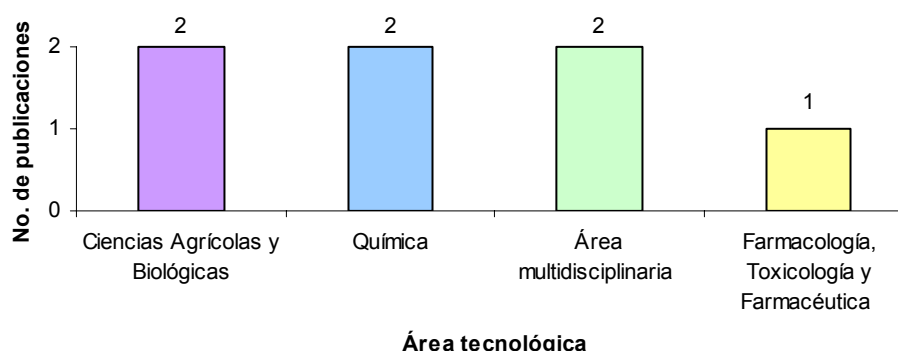
**Figura 22.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Lippia origanoides*. Fuente: *Elsevier (Scopus)*. Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia origanoides*").

**Tabla 16.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Lippia origanoides*.  
Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia origanoides*").

Autor	No. de publicaciones
Sanoja, E.	1
Sanabria, M.E.	1
Rosales, J.	1
Rodríguez, D.A.	1
Reis, F.D.A.M.	1
Poehlmann, R.	1
Oliveira, D.R.	1
Lopes, J.A.D.	1
Lopes, D.	1
Leitão, S.G.	1
Leitão, G.G.	1
Guevara, R.	1
Dos Santos, F.J.B.	1
De Oliveira, E.H.	1
De Lima, S.G.	1
Cito, A.M.G.L.	1
Brieskorn, C.H.	1
Bizzo, H.R.	1
Alviano, D.S.	1
Alviano, C.S.	1



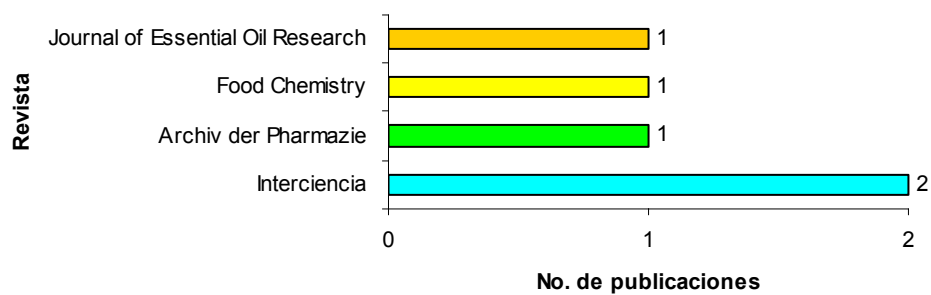
**Figura 23.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Lippia origanoides*.  
Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia origanoides*").



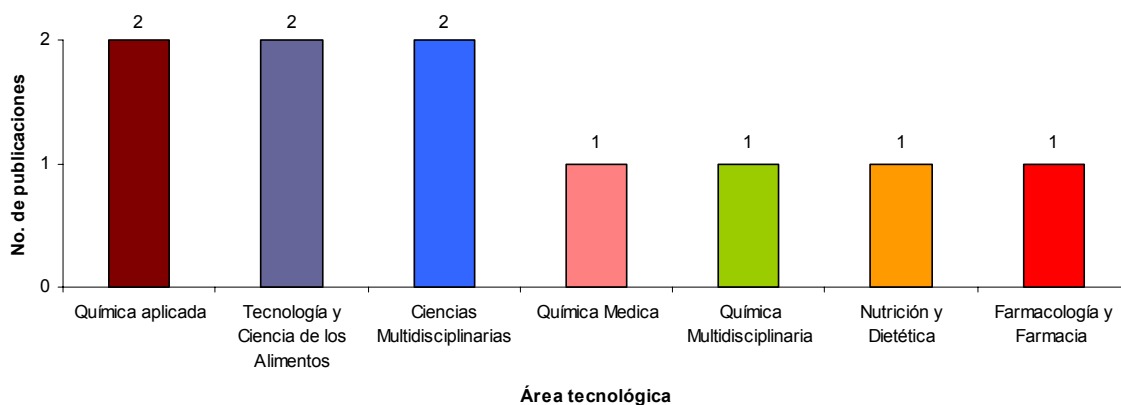
**Figura 24.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Lippia origanoides*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia origanoides*").



**Figura 25.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Lippia organoides*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia organoides*”).



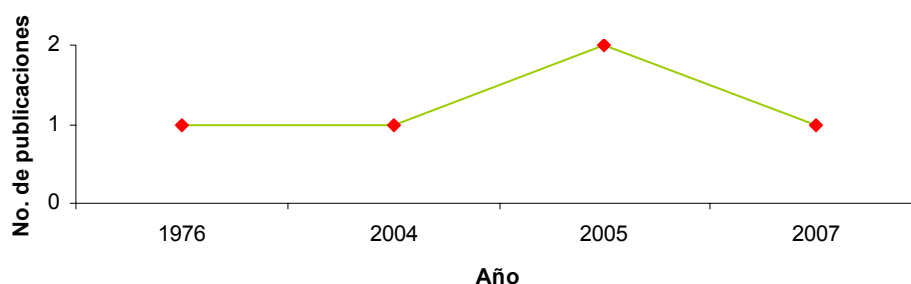
**Figura 26.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Lippia organoides*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia organoides*”).



**Figura 27.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Lippia organoides*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia organoides*”).

**Tabla 17.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Lippia origanoides*.  
Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia origanoides*”).

Autor	No. de publicaciones
Sanoja, E.	1
Sanabria, M.E.	1
Rosales, J.	1
Rodríguez, D.A.	1
Reis, F.D.A.M.	1
Poehlmann, R.	1
Oliveira, D.R.	1
Lopes, D.	2
Leitão, S.G.	1
Leitão, G.G.	1
Guevara, R.	1
Dos Santos, F.J.B.	1
De Oliveira, E.H.	1
De Lima, S.G.	1
Cito, A.M.G.L.	1
Brieskorn, C.H.	1
Bizzo, H.R.	1
Arimateia, J	1
Alviano, D.S.	1
Alviano, C.S.	1



**Figura 28.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Lippia origanoides*.  
Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia origanoides*”).

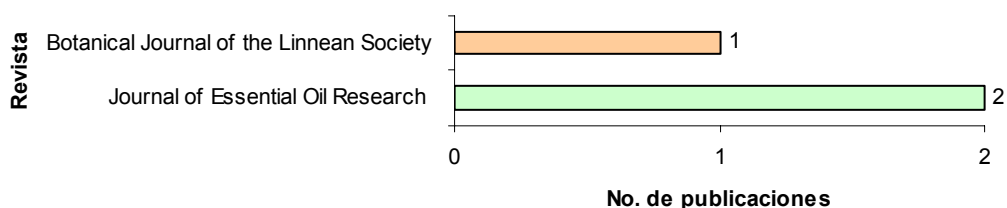
## 2.2. *Lippia micromera*

En las **Figuras 29-32** y la **Tabla 18** se observa, que existen sólo 3 publicaciones sobre esta especie, según la base de datos *Elsevier (Scopus)*. Estos estudios fueron realizados entre 1993 y 2004. Aunque no son muchos los investigadores en diferentes países, que se han interesado por esta planta, su estudio se ha incursionado principalmente en el área tecnológica de las ciencias agrícolas y biológicas, siendo *JEOR* la revista con mayor número de

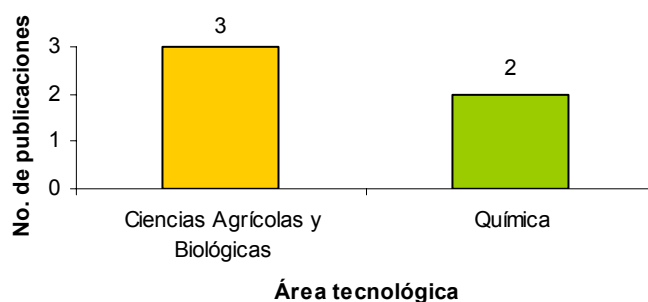
publicaciones. En la base de datos de *Web of Science* no se encontró ninguna referencia bibliográfica sobre esta especie.

**Tabla 18.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Lippia micromera*. Fuente: *Elsevier (Scopus)*. Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia micromera*").

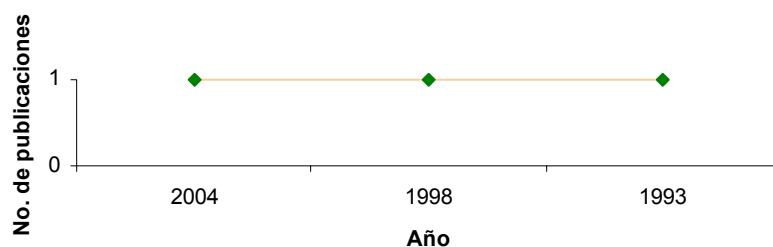
Autor	No. de publicaciones
Díez, M.J.	1
Espailat, J.R.	1
French, E.C.	1
Heredia, F.J.	1
Maciarelo, M.J.	1
Menéndez, R.	1
Pino, J.A.	1
Pontes, A.	1
Rosado, A.	1
Terrab, A.	1
Tucker, A.O.	1



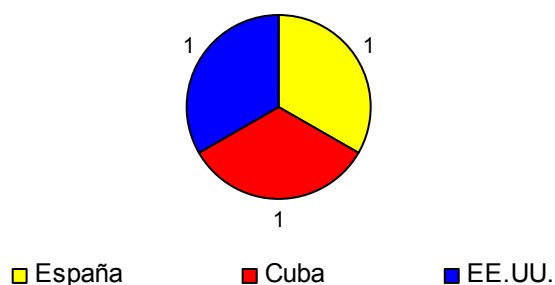
**Figura 29.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Lippia micromera*. Fuente: *Elsevier (Scopus)*. Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia micromera*").



**Figura 30.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Lippia micromera*. Fuente: *Elsevier (Scopus)*. Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia micromera*").



**Figura 31.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Lippia micromera*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia micromera*").



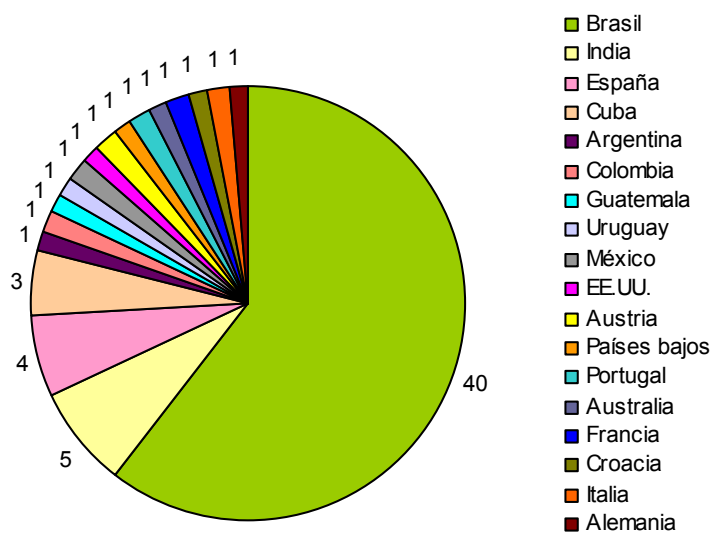
**Figura 32.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Lippia micromera*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia micromera*").

### 2.3. *Lippia alba*

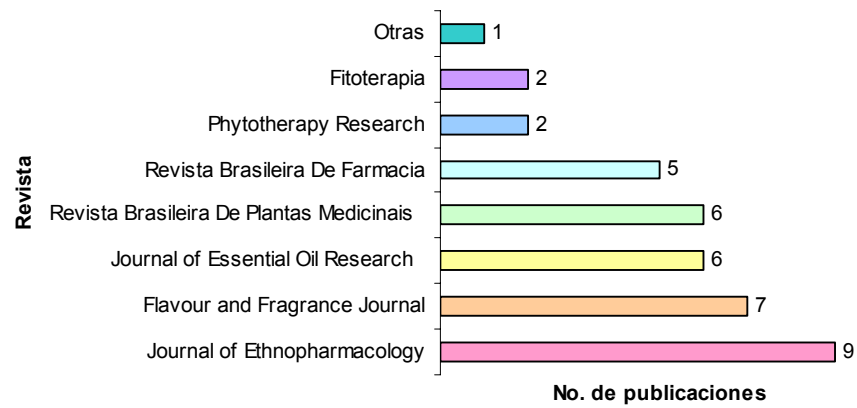
En las **Figuras 33-40** y en las **Tablas 19-20** se muestra la relación entre el número de publicaciones reportadas en las bases de datos de *Elsevier-Scopus* (66) y *Web of Science* (37), con los diferentes indicadores de actividad cuantitativa. Entre los diferentes países que han estudiado esta especie vegetal se destaca Brasil, con el número de publicaciones más alto. Se observa un aumento en las publicaciones sobre esta planta a partir de 1996, siendo 2002 el año con mayor actividad. Las áreas más desarrolladas en el estudio de esta planta aromática son la farmacéutica y farmacología. Las revistas con mayor número de publicaciones sobre esta especie son *Journal of Ethnopharmacology* y *Flavour and Frangance Journal*.

**Tabla 19.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*").

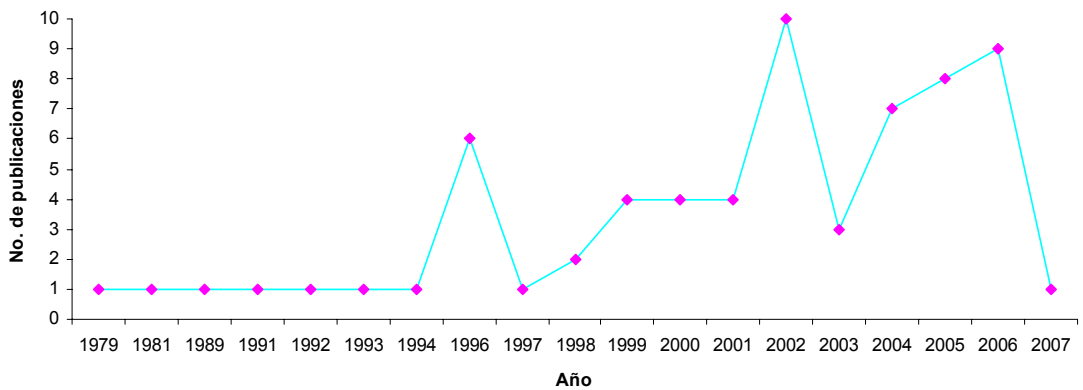
Autor	No. de publicaciones
De Abreu Matos, F.J.	3
Do Vale, T.G.	3
Viana, G.S.B.	3
Vicini, L.F.	3
Lima, M.A.S.	2
Bizzo, H.R.	2
Lopes, D.	2
De Lima, T.C.M.	2
Leitão, S.G.	2
Barbosa, F.G.	2
Recco-Pimentel, S.M.	2
Bansal, R.P.	2
Craveiro, A.A.	2
Bahl, J.R.	2
Singh, G.	2
Ming, L.C.	2
Silveira, E.R.	2
Matos, F.J.A.	2
Matos, F.J.A.	2
Dias Filho, B.P.	2
Alencar, J.W.	2
Otros (139)	1



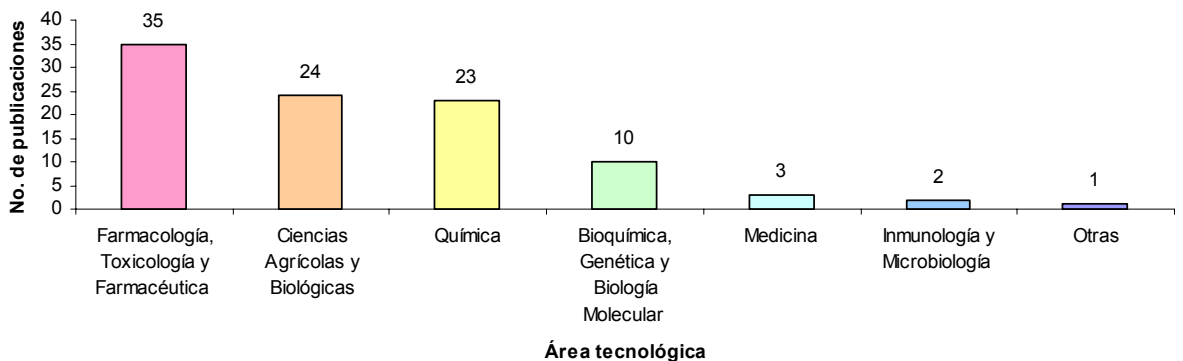
**Figura 33.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*").



**Figura 34.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*").



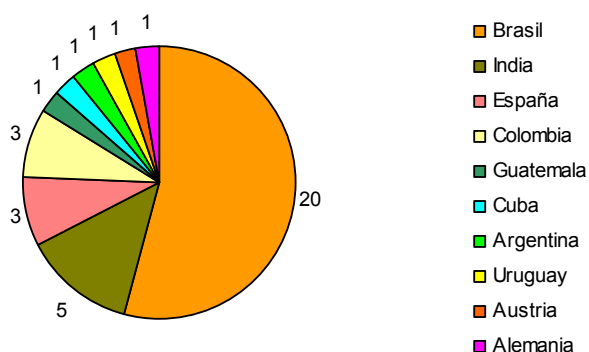
**Figura 35.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*").



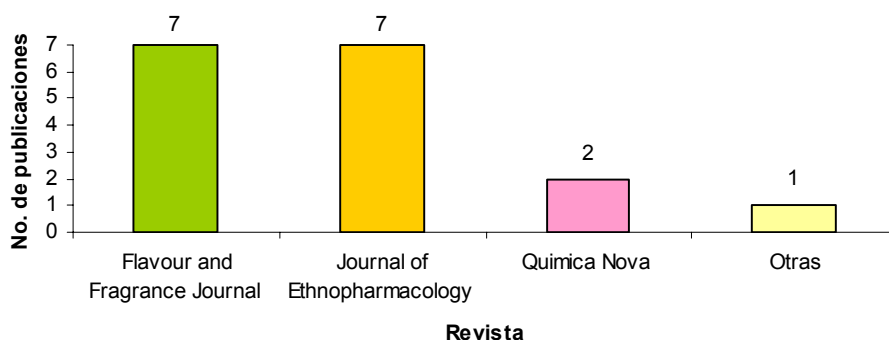
**Figura 36.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Lippia alba*").

**Tabla 20.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia alba*”).

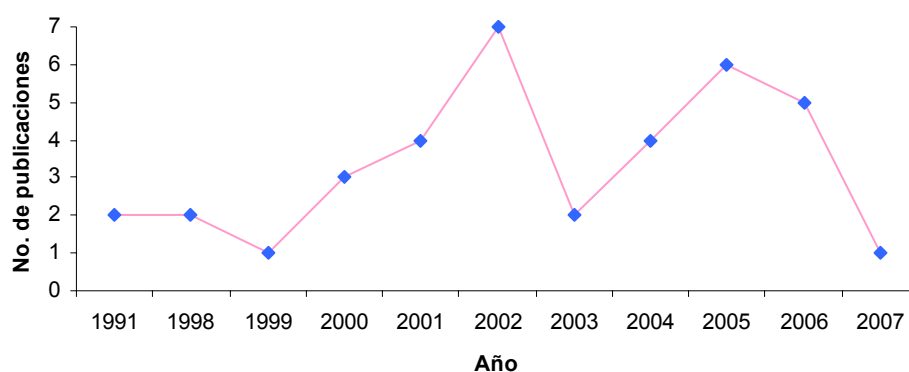
Autor	No. de publicaciones
Do Vale, T.G.	3
Kumar, S	3
Viana, G.S.B.	3
Bahl, J.R.	2
Bansal, R.P.	2
Barbosa, F.G.	2
Bizzo, H.R.	2
De Lima, T.C.M.	2
Leítao, S.G.	2
Lima, M.A.S.	2
Lopes, D	2
Matos, F.J.A.	2
Naqvi, A.A.	2
Recco-Pimentel, S.M.	2
Silveira, E.R.	2
Viccini, L.F.	2
Otros (141)	1



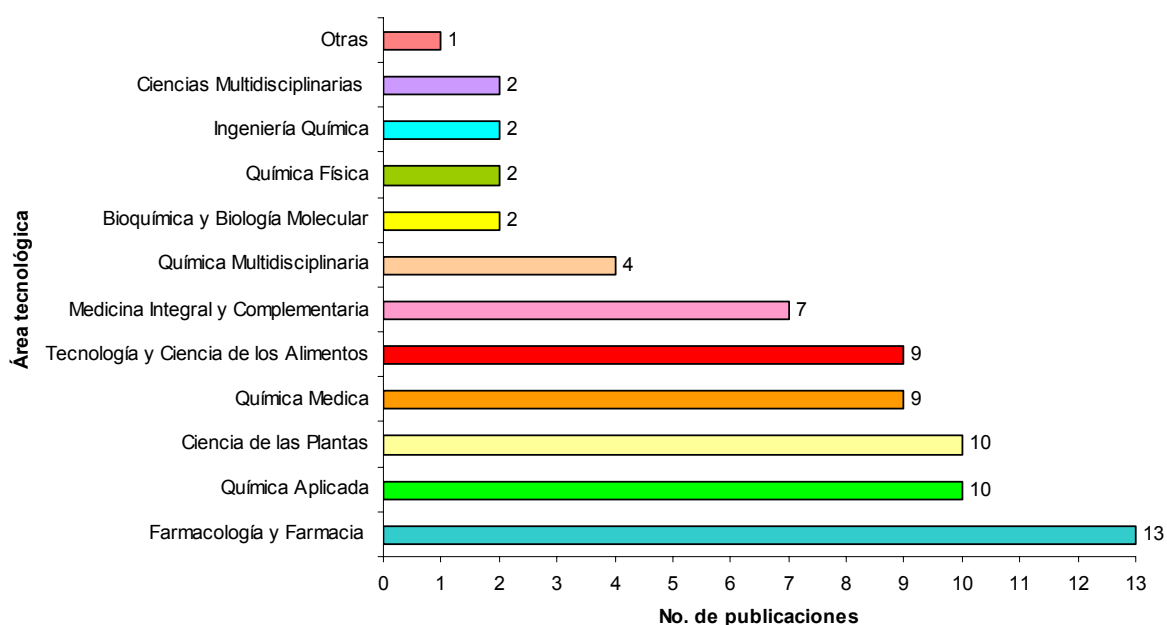
**Figura 37.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia alba*”).



**Figura 38.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia alba*”).



**Figura 39.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia alba*”).



**Figura 40.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Lippia alba*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Lippia alba*”).

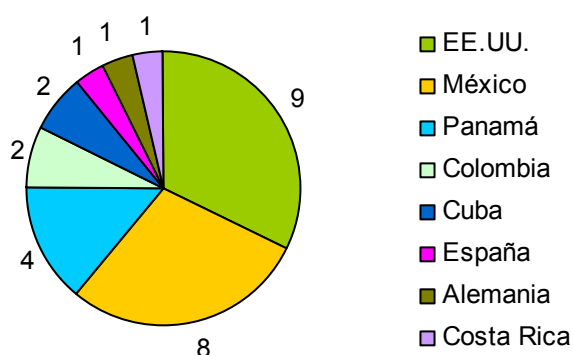
#### 2.4. *Piper auritum*

En las **Figuras 41-48** y en las **Tablas 21-22** se muestra la relación de las publicaciones encontradas en las bases de datos de *Elsevier-Scopus* (28) y *Web of Science* (40), con los diferentes indicadores de actividad intelectual. En el estudio de esta especie Vázquez-Yáñez (México) se destacó como el autor

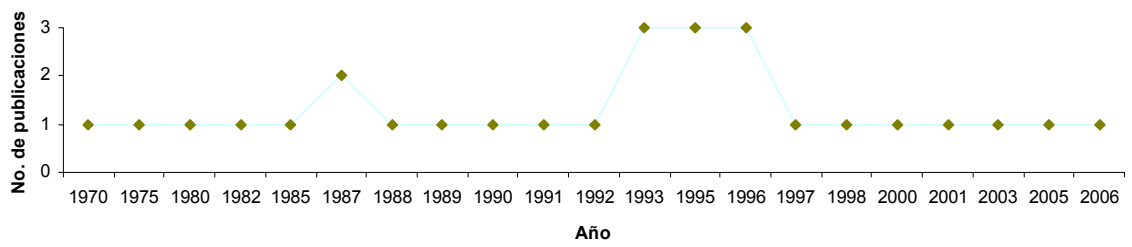
con mayor número de publicaciones. Las áreas tecnológicas más exploradas son las ciencias agrícolas y biológicas y las ciencias de las plantas, siendo *Oecologia* y *Functional Ecology*, las revistas con mayor número de publicaciones. Aunque existen notables diferencias en el número de publicaciones por año en las dos bases de datos, es importante resaltar, que 1993 fue el año de mayor auge en el estudio de esta especie vegetal. Los países con mayor número de trabajos sobre *Piper auritum* son EE.UU. y México.

**Figura 21.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*. Fuente: *Scopus*. Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Piper auritum*").

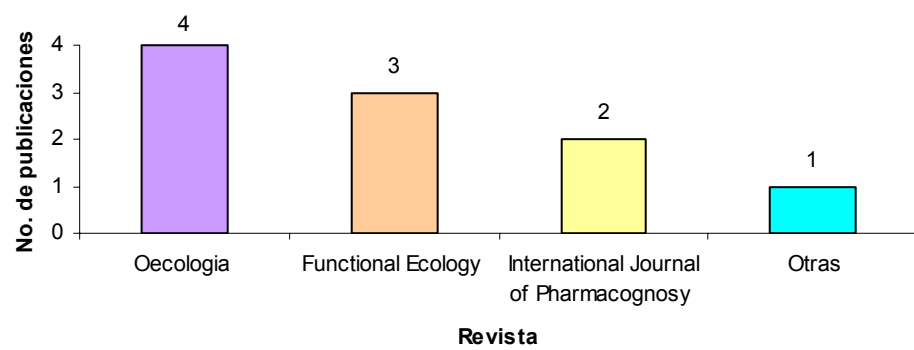
Autor	No. de publicaciones
Vázquez-Yánes, C.	5
Field, C.B.	4
Sanchez-Coronado, M.E.	3
Gupta, M.P.	3
Santana, A.I.	2
Solis, P.N.	2
Orozco-Segovia, A.	2
Ackerly, D.D.	2
Bazzaz, F.A.	2
Otros (82)	1



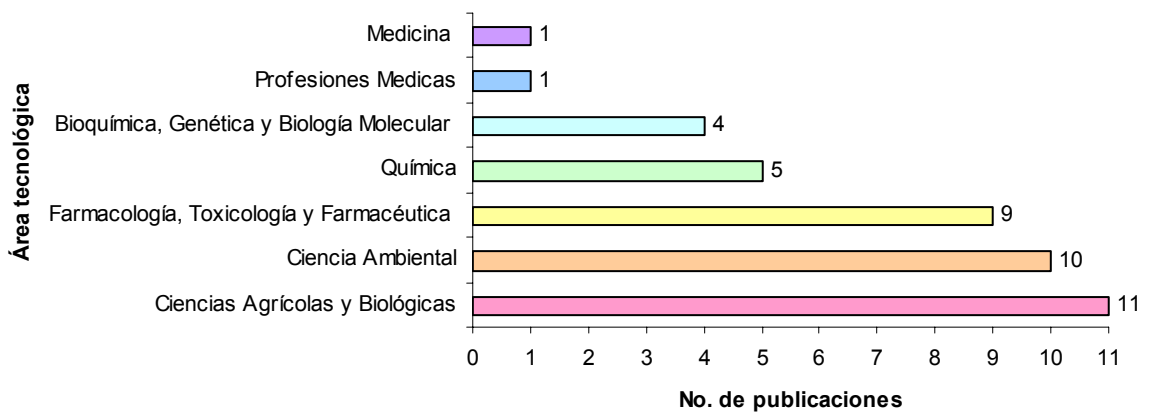
**Figura 41.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*. Fuente: *Elsevier (Scopus)*. Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Piper auritum*").



**Figura 42.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Piper auritum*").



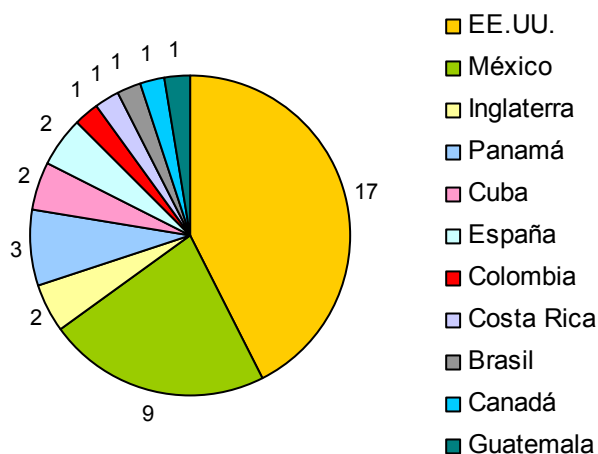
**Figura 43.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Piper auritum*").



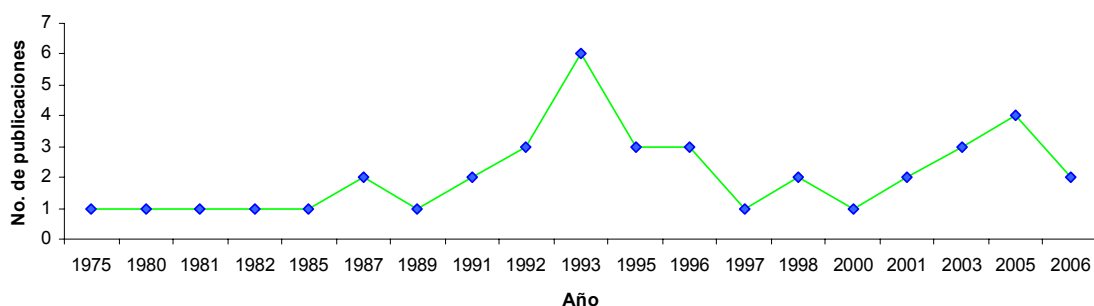
**Figura 44.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Piper auritum*").

**Tabla 22.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*.  
Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(*"Piper auritum"*).

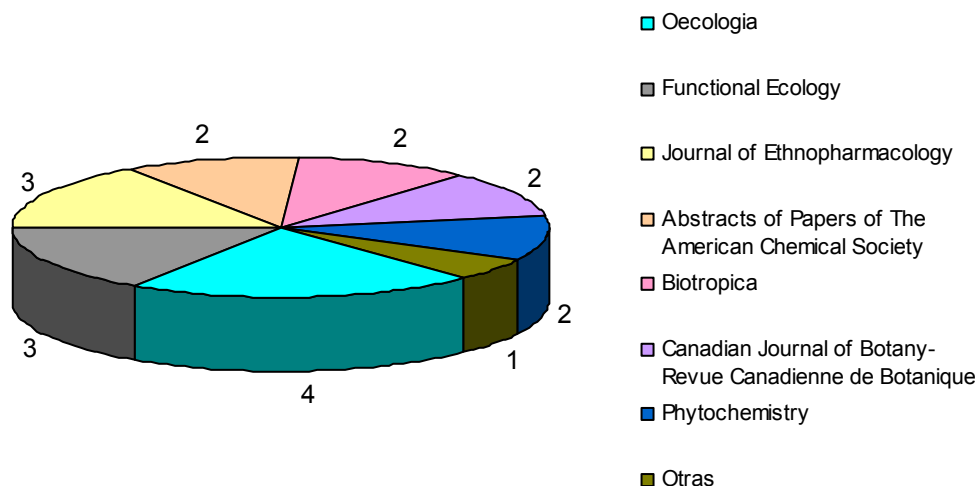
Autor	No. de publicaciones
Vázquez-Yánes, C	7
Orozco-Segovia, A	5
Gupta, MP	3
Pearcy, RW	3
Tinocojanguren, C	3
Ackerly, DD	2
Bin Kong, S	2
Lee, GH	2
Lopez, AC	2
Mcburnett, BG	2
Mosso, J	2
Sanchez-Coronado, ME	2
Solis, PN	2
Otros (84)	1



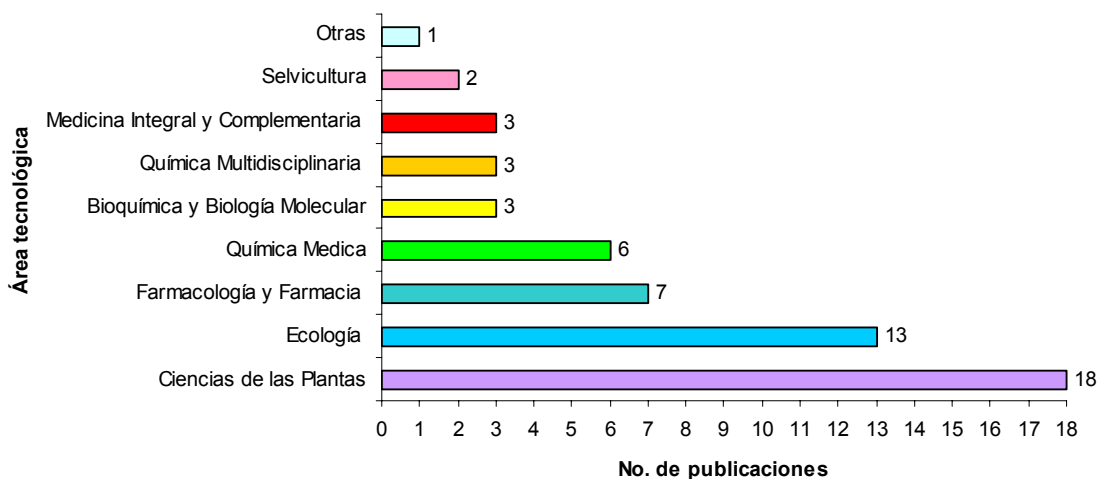
**Figura 45.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*.  
Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(*"Piper auritum"*).



**Figura 46.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(*"Piper auritum"*).



**Figura 47.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Piper auritum*”).



**Figura 48.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Piper auritum*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Piper auritum*”).

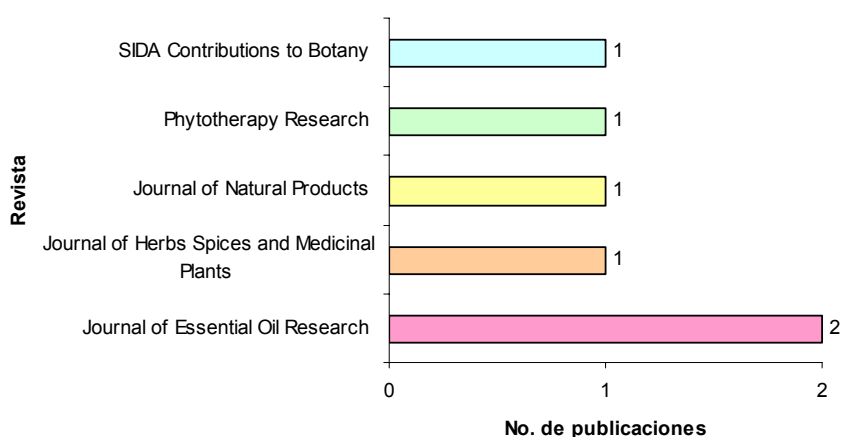
## 2.5. *Hyptis mutabilis*

En las **Figuras 49-56** y en las **Tablas 23-24** se muestra que, aunque son pocos los autores que han publicado sobre esta planta, Brasil es el país donde más se ha interesado por estudiarla. Se han reportado en las bases de datos de *Elsevier (Scopus)* 6 artículos y 3 en *Web of Science*. El estudio de esta especie

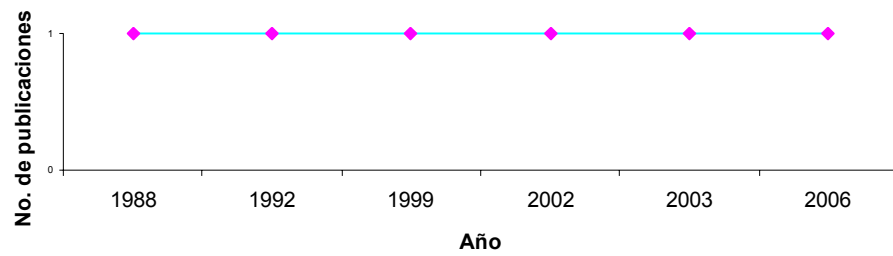
se desarrolló entre 1988 y 2003, especialmente, en las áreas tecnológicas de ciencias agrícolas y biológicas y en química. La revista *JEOR* es la que posee el mayor número de publicaciones sobre esta planta.

**Tabla 23.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Hyptis mutabilis*").

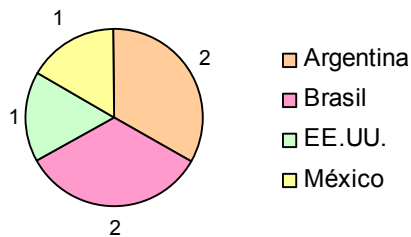
Autor	No. de publicaciones
Zygadlo, J.A.	1
Zoghbi, M.D.G.B.	1
Silva, M.H.L.	1
Rojas, U.M.	1
Ramos, C.P.	1
Ponzi, M.	1
Pereda-Miranda, R.	1
Oliva, M.M.	1
Maia, J.G.S.	1
Lopez, M.L.	1
Lopez, A.G.	1
Gascón-Figueroa, M.	1
Firpo, N.	1
Elsik, I.S.	1
Duschatzky, C.	1
Demo, M.S.	1
Brown, L.E.	1
Barbosa, P.P.P.	1
Bailac, P.	1
Amasifén, J.M.R.	1
Aguiar, E.H.A.	1



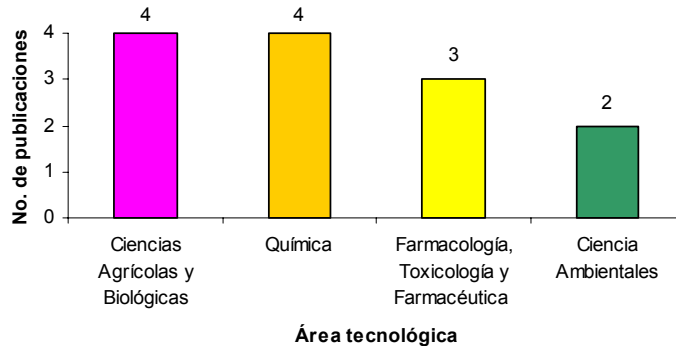
**Figura 49.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("*Hyptis mutabilis*").



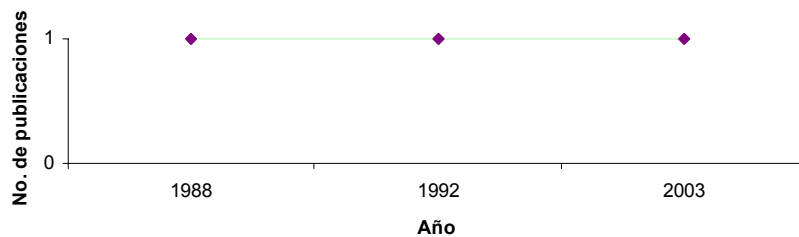
**Figura 50.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Hyptis mutabilis*”).



**Figura 51.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Hyptis mutabilis*”).



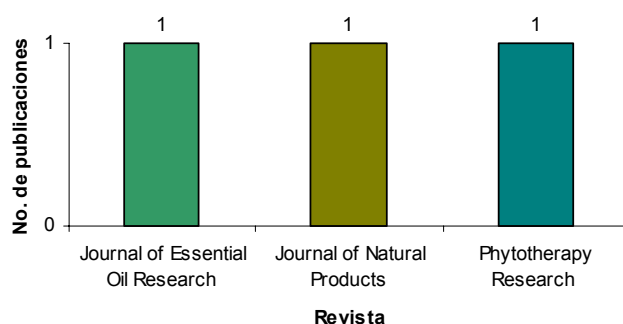
**Figura 52.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Hyptis mutabilis*”).



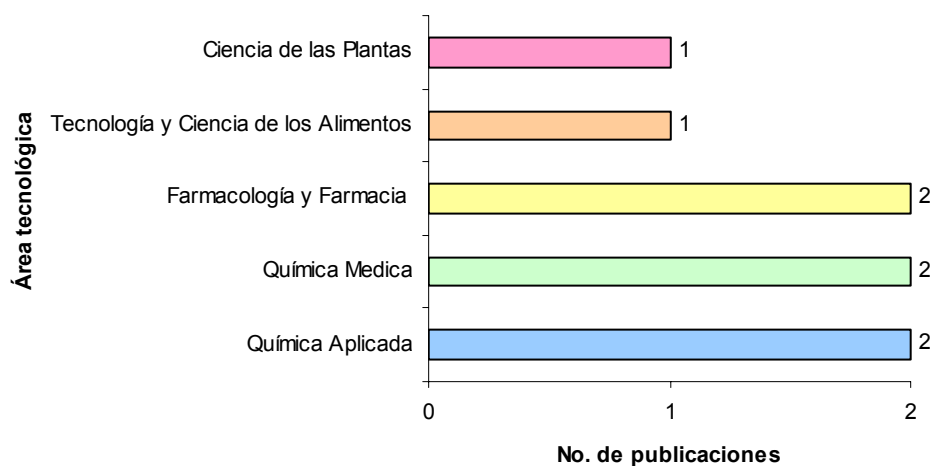
**Figura 53.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*. Fuente: Web of Science. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Hyptis mutabilis*”).

**Tabla 24.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*.  
Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Hyptis mutabilis*”).

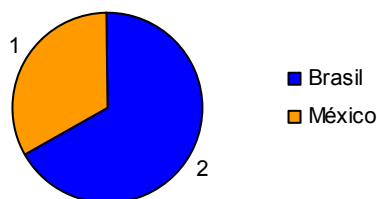
Autor	No. de publicaciones
Aguiar, EHA	1
Amasifen, JMR	1
Barbosa, PPP	1
Gasconfigueroa, M	1
Maia, JGS	1
Peredamiranda, R	1
Ramos, CP	1
Rojas, UM	1
Silva, MHL	1
Zoghbi, MDB	1



**Figura 54.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*.  
Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Hyptis mutabilis*”).



**Figura 55.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Hyptis mutabilis*”).



**Figura 56.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Hyptis mutabilis*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Hyptis mutabilis*”).

## 2.6. *Calycolpus moritzianus*

En las **Tablas 25-26** se puede observar, que esta especie ha sido poco estudiada, los artículos reportados provienen de Colombia y Venezuela, y se desarrollaron entre 2000 y 2002, abarcando las áreas tecnológicas de ciencias agrícolas y biológicas y química orgánica. El análisis cuantitativo reportó 2 publicaciones registradas en las bases de datos de *Elsevier (Scopus)* y 1 en *Web of Science*.

**Tabla 25.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Calycolpus moritzianus*.

<i>Elsevier (Scopus)</i> <sup>a</sup>		<i>Web of Science</i> <sup>b</sup>	
Autor	No. de publicaciones	Autor	No. de publicaciones
Camacho Molina, J.	1	Pinzon, ML	1
Katiyar, K.P.	1	Sanchez, LR	1
Mathheus, R.	1	Solano, F	1
Pinzón, M.L.	1	Yanez, X	1
Sánchez, L.R.	1		
Solano, F.	1		
Yanez, X.	1		
Camacho Molina, J.	1		
Katiyar, K.P.	1		
Mathheus, R.	1		

<sup>a</sup> Fuente: *Elsevier (Scopus)*. Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Calycolpus moritzianus*”).

<sup>b</sup> Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Calycolpus moritzianus*”).

**Tabla 26.** Relación entre las áreas tecnológicas, revista, país y año con el número de publicaciones sobre *Calycolpus moritzianus*.

<i>Elsevier (Scopus)</i> <sup>a</sup>		<i>Web of Science</i> <sup>b</sup>	
Área tecnológica	No. de publicaciones	Área tecnológica	No. de publicaciones
Ciencias Agrícolas y Biológicas	1	Química Orgánica	1
Química	1		
Revista	No. de publicaciones	Revista	No. de publicaciones
Florida Entomologist	1	Molecules	1
Molecules	1		
País	No. de publicaciones	País	No. de publicaciones
Colombia	1	Colombia	1
Venezuela	1		
Año	No. de publicaciones	Año	No. de publicaciones
2002	1	2002	1
2000	1		

<sup>a</sup> Fuente: *Elsevier (Scopus)*. Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("Calycolpus moritzianus").

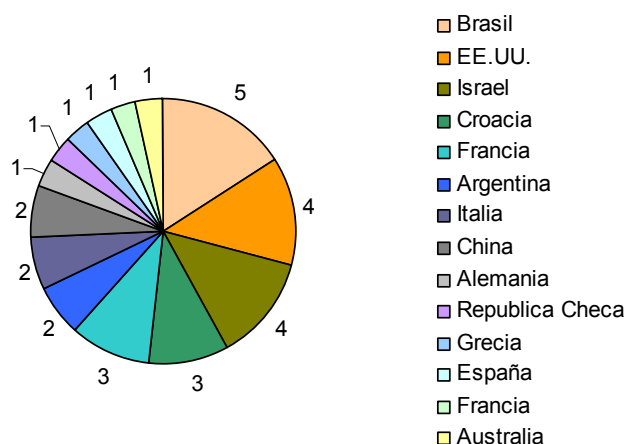
<sup>b</sup> Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=("Calycolpus moritzianus").

## 2.7. *Conyza bonariensis*

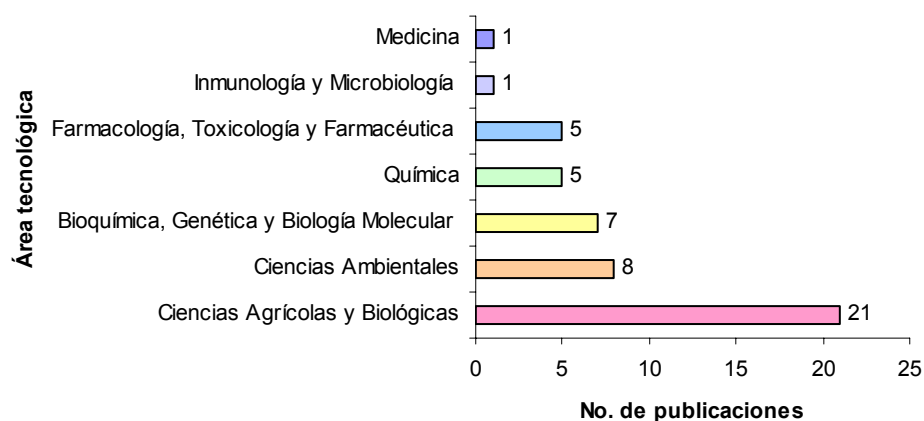
En las **Figuras 57-64** y en las **Tablas 27-28** se observa que el estudio de esta especie ha aumentado considerablemente desde 1993 y que la revista *Pesticide Biochemistry and Physiology* es la que posee mayor número de publicaciones sobre esta especie vegetal. Las áreas más estudiadas son las ciencias de las plantas y las ciencias agrícolas y biológicas. Se encontró que Gressel es el autor con mayor número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Los países más activos en el estudio sobre esta planta aromática son Israel, Francia, EE.UU. y Brasil. Se encontraron 31 publicaciones registradas en *Elsevier (Scopus)* y 56 en *Web of Science*.

**Tabla 27.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Conyza bonariensis*”).

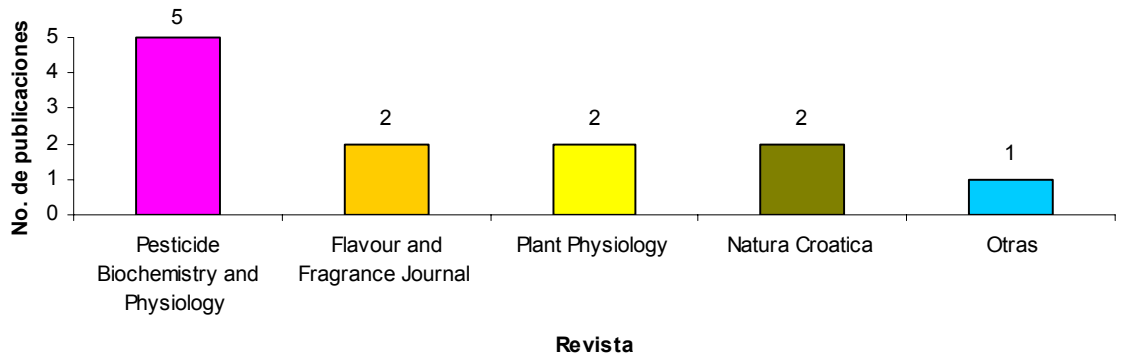
Autor	No. de publicaciones
Gressel, J.	4
Prieur-Richard, A.H.	4
Lavorel, S.	4
Ye, B.	3
Dos Santos, A.	3
Grigulis, K.	2
Milović, M.	2
Fuerst, E.P.	2
Otros (68)	1



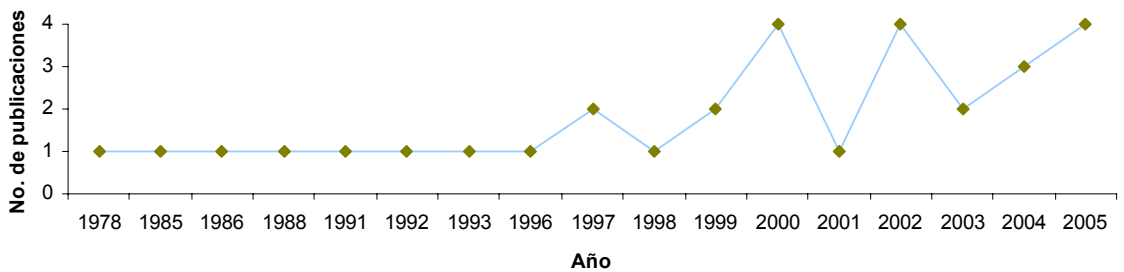
**Figura 57.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Conyza bonariensis*”).



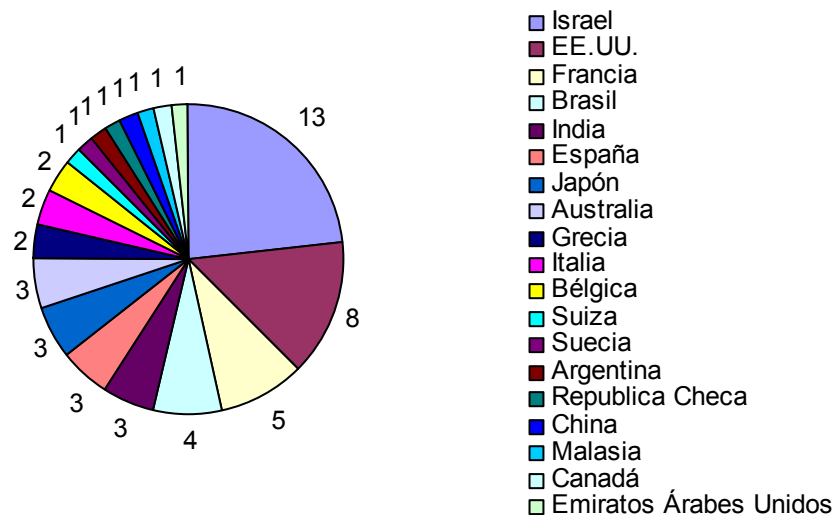
**Figura 58.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Conyza bonariensis*”).



**Figura 59.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Conyza bonariensis*”).



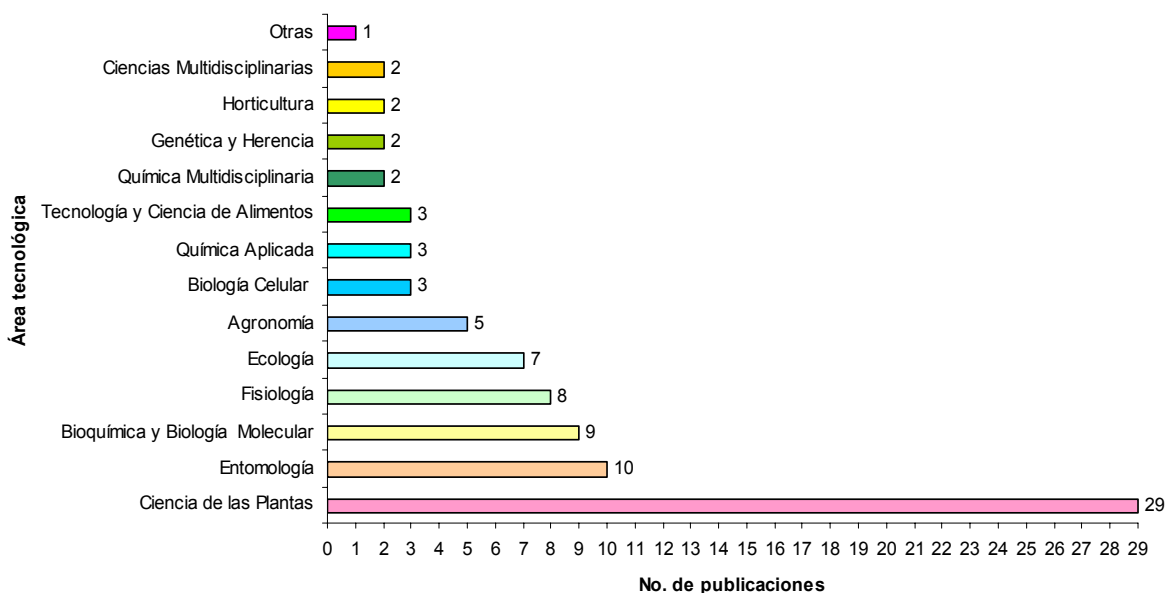
**Figura 60.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Fuente: Elsevier (Scopus). Periodo de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH (“*Conyza bonariensis*”).



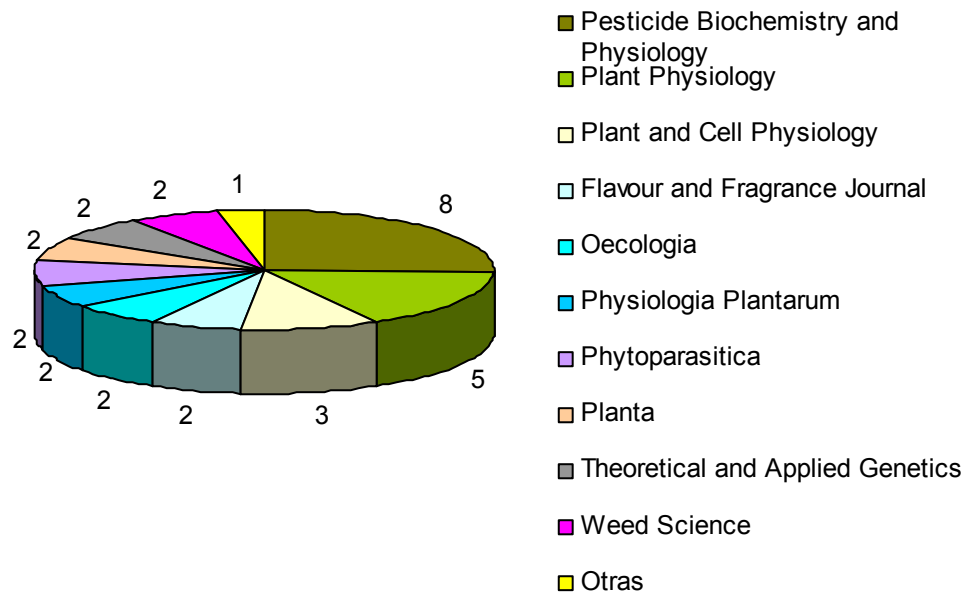
**Figura 61.** Relación entre los países y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Fuente: Web of Science. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Conyza bonariensis*”).

**Tabla 28.** Relación entre los autores y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*.  
Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Conyza bonariensis*”).

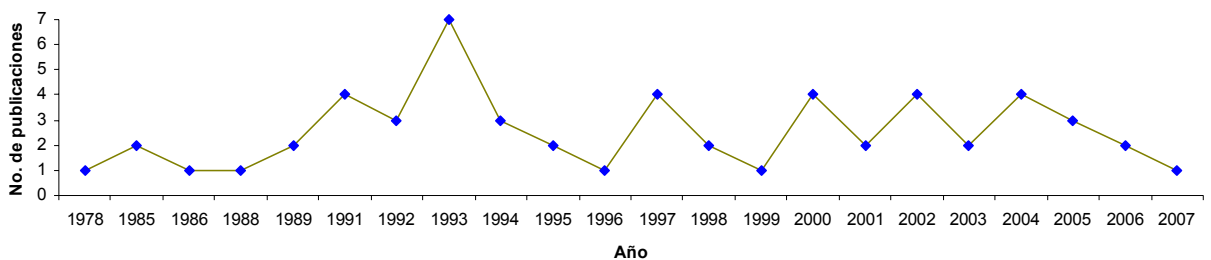
Autor	No. de publicaciones
Gressel, J	9
Lavorel, S	4
Prieur-Richard, AH	4
Shaaltiel, Y	4
Aono, M	3
Dos Santos, A	3
Kondo, N	3
Powles, SB	3
Saji, H	3
Tanaka, K	3
Ye, B	3
Benhayyim, G	2
Bhargava, S	2
Eshdat, Y	2
Faltin, Z	2
Fuerst, EP	2
Grigulis, K	2
Inze, D	2
Jansen, MAK	2
Kubo, A	2
Malkin, S	2
Norman, MA	2
Preston, C	2
Slooten, L	2
Vancamp, W	2
Vanmontagu, M	2
Vaughn, KC	2
Otros (73)	1



**Figura 62.** Relación entre las áreas tecnológicas y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Conyza bonariensis*”).



**Figura 63.** Relación entre las revistas y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Conyza bonariensis*”).



**Figura 64.** Relación entre los años y el número de publicaciones sobre *Conyza bonariensis*. Fuente: *Web of Science*. Periodo de observación: 1975-2007. Fecha de consulta: abril 13 de 2007. Ecuación de búsqueda: TS=(“*Conyza bonariensis*”).

Sobre las otras especies aromáticas bajo estudio (*Piper bredemeyeri*, *Piper eriopodon* y *Hedyosmum racemosum*) no se ha encontrado ninguna publicación en las bases de datos analizadas. Mientras que, las plantas aromáticas con mayor número de publicaciones en estas bases de datos son *Lippia alba*, *Conyza bonariensis* y *Piper auritum*. El impacto de estas especies en la productividad científica radica en las múltiples propiedades etnobotánicas que poseen, y los usos que tienen en las diferentes industrias (alimenticia, licorera, cosmética y farmacéutica). Todas estas aplicaciones despiertan el interés de la comunidad científica, convirtiéndolas en objeto de estudio y

permitiendo así, la constante actualización de diversos aspectos, desde su manejo agrícola, hasta su composición química, usos, mercados, propiedades farmacológicas y calidad, por lo que este análisis puede dar un indicio de las posibilidades, fluctuaciones, tendencias del mercado y desarrollo de las especies aromáticas estudiadas.

En resumen, se encontró que los países más activos en el estudio de las especies aromáticas son Brasil, EE.UU. y México; las áreas tecnológicas de mayor estudio sobre estas plantas son las ciencias agrícola y biológica, la ciencia de las plantas y la química. También se observó que desde los inicios de la década de los 90, se ha intensificado el estudio de las plantas aromáticas especialmente después del año 2000. Las revistas internacionales de mayor impacto en el estudio de las especies aromáticas son *JEOR*, *Oecologia*, *Functional Ecology*, *Journal of Ethnopharmacology*, *Flavour and Frangance Journal*, *Interciencia* y *Pesticide Biochemistry and Physiology*.

El análisis de las patentes se realizó usando las bases de datos **Elsevier (Scopus)** y **Goldfire Innovador**; los períodos de observación fueron 1970-2007 y 1980-2007, respectivamente. El número de patentes registradas en las bases de datos analizadas para *Lippia alba*, *Conyza bonariensis* y *Piper auritum* se muestra en la **Tabla 29** [141,143]. No se encontró ninguna patente relacionada con las otras especies aromáticas bajo estudio.

**Tabla 29.** Número de patentes registradas en las bases de datos *Elsevier (Scopus)* y *Goldfire Innovador*.

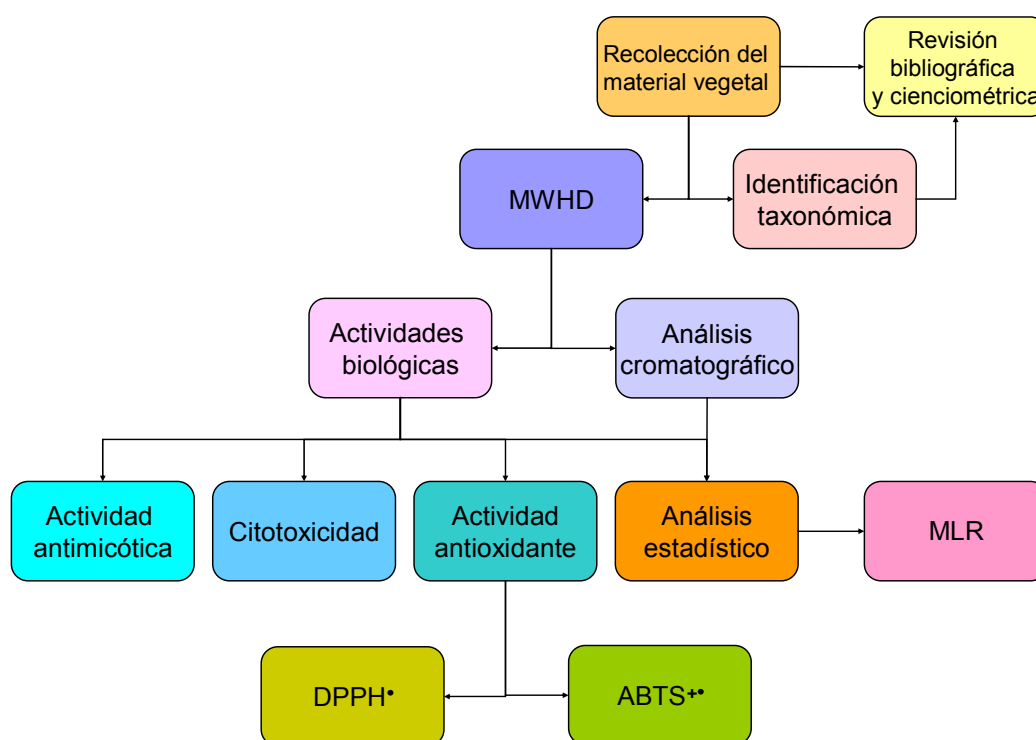
Especie vegetal	No. de patentes	
	<i>Elsevier (Scopus)</i> <sup>a</sup>	<i>Goldfire Innovador</i> <sup>b</sup>
<i>Conyza bonariensis</i>	38	42
<i>Piper auritum</i>	19	21
<i>Lippia alba</i>	5	5

<sup>a</sup> Fuente: *Elsevier (Scopus)*. Período de observación: 1970-2007. Fecha de consulta: abril 10 de 2007. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY-AUTH ("Calycolpus moritzianus").

<sup>b</sup> Fuente: *Goldfire Innovador*. Período de observación: 1980-2007. Fecha de consulta: agosto 26 de 2007.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

Con el fin de cumplir con todos los objetivos planteados en el Proyecto, el trabajo fue realizado según las etapas indicadas en la **Figura 65**.



**Figura 65.** Principales etapas del Proyecto.

#### 3.1 MATERIALES Y REACTIVOS

##### Reactivos y solventes

Vitamina E (97%), DPPH\* (90%), Trolox® (97%) y ABTS (98%) marca *Aldrich Chemical Co. Inc.*, (Milwaukee, WI. EE.UU.); peroxodisulfato de potasio (99%) y *n*-tetradecano (99%), marca *Merck* (Darmstadt, Alemania); agua grado HPLC marca *J.T. Baker* (México, México); etanol (99,8%) y diclorometano (99,9%) marca *Riedel-de Haën de Sigma-Aldrich* (Buchs, Suiza).

### Patrones certificados

En la **Tabla 30** se reportan los patrones de terpenos e hidrocarburos lineales certificados empleados en este proyecto.

**Tabla 30.** Patrones de hidrocarburos lineales y terpenos certificados.

Patrón certificado	Pureza (%)	Casa productora
Serie homóloga de patrones de hidrocarburos lineales desde C <sub>10</sub> hasta C <sub>25</sub> .	≥95,7	<i>AccuStandard, Inc.</i>
Timol	99,5	<i>Sigma-Aldrich</i>
Carvacrol	98	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>p</i> -Cimeno	99	<i>Sigma-Aldrich</i>
Citral	95	<i>Sigma-Aldrich</i>

### Materiales

Pipetas volumétricas y aforadas de 2 y 10 mL, balones aforados de 1, 2, 5, 10, 25, 50 y 100 mL, vasos de precipitados de 50 y 100 mL, marca *Vilab* (Bogotá, Colombia). *Septa* marca *Agilent Technologies* (Palo Alto, CA, EE.UU.). Tubos cónicos de poli(propileno) de 1.5 mL, micropipeteadores de 2-20, 25-250 y 100-1000 µL, puntas plásticas para las micropipetas, cubetas plásticas de 3 mL para espectrofotómetro, dispensadores para solventes y pipetas Pasteur desechables, marca *BRAND GMBH Co.* (Wertheim, Alemania).

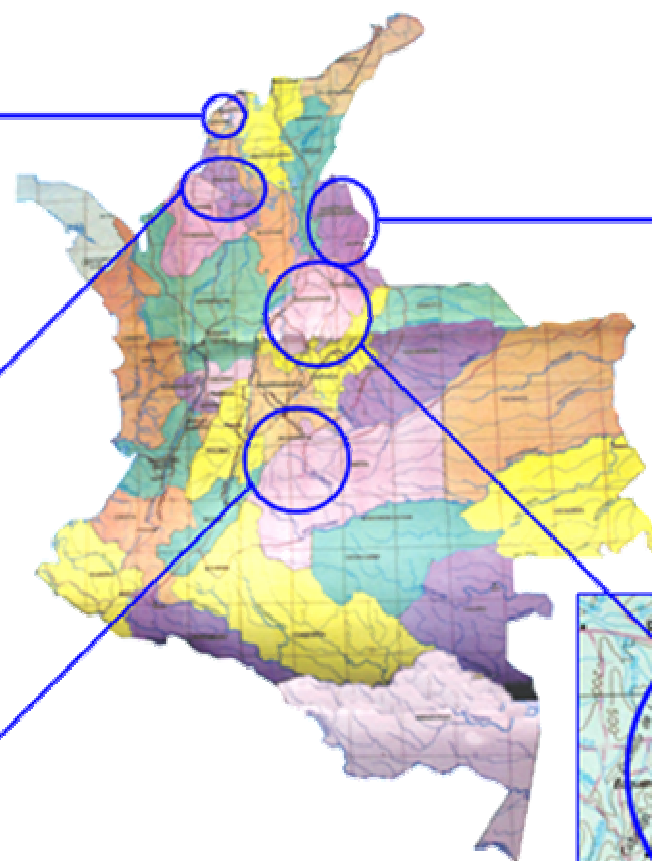
### 3.2 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La recolección del material vegetal fue realizada por dos botánicos de Fundacofan (Cali), grupo de apoyo de la Unión Temporal CENIVAM. Las colectas botánicas se llevaron a cabo en las zonas indicadas en la **Figura 66** y los recorridos se especifican en la **Tabla 31**.

**Sucre y Bolívar (Colecta II)**



**Cesar (Colecta IV)**



**Santander (Colecta I)**




















**Meta (Colecta III)**



**Figura 66.** Ubicación geográfica de las colectas botánicas (marzo 2005-febrero 2006).

**Tabla 31.** Colectas botánicas realizadas durante el primer año de funcionamiento del Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM

Colecta	Recorrido	Fecha	Lugar
I. Cañón del Río Chicamocha		Marzo 7 de 2005	La zona de colecta comprendió la cuenca del río Chicamocha, en los municipios de Guane, Barichara, San Gil, Jordán Sube, Curití, Aratoca, Cepitá y Piedecuesta, en el Departamento de Santander, sobre la Cordillera Oriental entre 450 y 1270 msnm.
		Marzo 8 de 2005	
		Marzo 9 de 2005	
II. Bolívar y Sucre		Mayo 17 de 2005	Jardín Botánico Guillermo Piñeres, municipio de Turbaco (Bolívar), entre 150 y 200 msnm.
		Mayo 18 de 2005	Cartagena – Lomarena – Volcán del Totumo – Colorado – Santa Catalina (Norte de Bolívar), entre 0 y 50 msnm.
		Mayo 20 de 2005	Sincelejo – Colosó – Tolú Viejo – Lapiche (Sucre, subregión de Montes de María), entre 400 y 600 msnm.
		Mayo 21 de 2005	Sincelejo – San Juan de Betulia – Sincé – Galeras (Sucre subregión sabanas). Entre 400 y 50 msnm.
		Mayo 22 de 2005	Jardín Botánico de José Luis Quessep en Sincelejo. A 450 msnm (Sucre).
III. Meta		Agosto 3 de 2005	Entre Bogotá y Villavicencio, carretera vieja. Del recorrido sólo se colectó en las inmediaciones del municipio de Cáqueza, localizada entre 1700 y 1800 msnm (Cundinamarca).
		Agosto 4 de 2005	Villavicencio – Pachaquirá – Puerto López – Alto Menegua – Las Palmeras, localizada entre 200 y 250 msnm.
		Agosto 5 de 2005	Villavicencio – Acacias – San Martín – Granada – San Juan de Arama – Estribaciones de la Serranía de la Macarena, localizada entre 420 y 470 msnm.
		Agosto 6 de 2005	Villavicencio – Restrepo – Cumaral – área rural de Cumaral saliendo por el Coliseo de Ferias, localizada entre 420 y 470 msnm.
		Agosto 8 de 2005	Villavicencio – Restrepo – Cumaral (veredas Bavaria, el Vergel, Laguna Brava, Mundo Nuevo, localizada entre 420 y 470 msnm.
IV. Cesar		Febrero 3 de 2006	Manaure – vereda Sabana de León (1700-2200 msnm).
		Febrero 4 de 2006	Manaure – veredas La Nevera y El Cinco (1700-2200 msnm).
		Febrero 7 de 2006	Curumaní – vereda Villacolón (0-500 msnm).
		Febrero 9 de 2006	Pueblo Bello – veredas La Federación y Paz de Río (1000 y 1200 msnm).

En la **Tabla 32** se indica el Departamento y la colecta botánica respectiva de cada especie vegetal bajo estudio.

**Tabla 32.** Origen de las especies vegetales bajo estudio.

Especie vegetal	Departamento	Colecta
<i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo “Carvacrol”)	Santander	I
<i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo “ <i>p</i> -Cimeno”)	Santander	I
<i>Lippia alba</i> (quimiotipo “Citral”)	Bolívar	II
<i>Piper auritum</i>	Sucre	II
<i>Hyptis mutabilis</i>	Meta	III
<i>Lippia micromera</i>	Cesar	IV
<i>Hedyosmum racemosum</i>	Cesar	IV
<i>Piper eriopodon</i>	Cesar	IV
<i>Piper bredemeyeri</i>	Cesar	IV
<i>Conyza bonariensis</i>	Cesar	IV
<i>Calycolpus moritzinus</i>	Cesar	IV

En la primera colecta botánica se encontró una población de *Lippia origanoides* con dos quimiotipos cohabitando exactamente en el mismo nicho. Las poblaciones fueron simpátricas (ocupan el mismo sitio), los dos quimiotipos crecían exactamente al lado del otro sin que se observaran diferencias morfológicas en ellas, excepto los olores distintivos de cada quimiotipo. La separación de los dos quimiotipos para su colecta se hizo con base en el análisis olfativo.

El material vegetal colectado se destinó al análisis fitoquímico y a su conservación en bancos de germoplasma de plantas medicinales y aromáticas, de conformidad con la formulación del Proyecto “*Estudio integral de especies aromáticas y medicinales tropicales promisorias para el desarrollo sostenible y competitivo de la agroindustria de esencias, extractos y derivados naturales en Colombia*”, financiado por Colciencias como parte del programa de Centros de Investigación de Excelencia 2004.

### 3.3 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

La identificación de las 10 plantas aromáticas recolectadas en las 4 colectas botánicas se llevó a cabo en el Herbario Nacional Colombiano (HNC), Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Los pliegos testigos de cada especie vegetal quedaron depositados como muestras permanentes en el HNC, como se muestra en la **Tabla 33**.

**Tabla 33.** Números de *voucher* COL de las especies bajo estudio

Especie (Familia)	Autor	No. COL.	No. Colección CENIVAM	Determinó
<i>Lippia origanoides</i> (Fam. Verbenaceae)	Kunth	512271	R. T. González Mina No.17	J.L.Fernández
<i>Lippia origanoides</i> (Fam. Verbenaceae)	Kunth	512270	R. T. González Mina No.18	J.L.Fernández
<i>Lippia alba</i> (Fam. Verbenaceae)	(Mill.) N. E. Brown	512272	R. T. González Mina No.36	J.L.Fernández
<i>Piper auritum</i> (Fam. Piperaceae)	Kunth	512209	R. T. González Mina No.56	A.Zuluaga
<i>Hyptis mutabilis</i> (Fam. Lamiaceae)	(L. Rich.) Briq.	512275	R. T. González Mina No.71	J.L.Fernández
<i>Lippia micromera</i> (Fam. Verbenaceae)	Schauer.	516924	R.T. González, H.J.Rodríguez T. No. 87	J.L.Fernandez
<i>Hedyosmum racemosum</i> (Fam. Chloranthaceae)	(Ruiz & Pav.) G.Don.	517005	R.T.González, H.J.Rodríguez T. No. 89	A.Jara M.
<i>Conyza bonariensis</i> (Fam. Asteraceae)	(L.) Cronquist	517011	R.T.González, H.J.Rodríguez T. No. 90	J.A.Infante B.
<i>Piper eriopodon</i> (Fam. Piperaceae)	(Miq.) C.DC.	516937	R.T.González, H.J.Rodríguez T. No. 93	A.Jara M.
<i>Piper bredemeyeri</i> (Fam. Piperaceae)	Jacq.	516939	R.T.González, H.J.Rodríguez T. No. 94	A.Jara M.
<i>Calycolpus moritzianus</i> (Fam. Myrtaceae)	(O.Berg) Burret.	517006	R.T.González, H.J.Rodríguez T. No. 96	A.Jara M.

### 3.4 OBTENCIÓN DE LOS AE

Para la extracción de cada AE se utilizó material vegetal fresco (hojas, ca. 100 g). Los AE se aislaron mediante la técnica de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHd), según los procedimientos descritos por Stashenko y colaboradores [27]. Esta etapa del Proyecto fue llevada a cabo por personal especializado del Laboratorio de Cromatografía, CIBIMOL, Escuela de Química, UIS. Los metabolitos secundarios se aislaron empleando un equipo de destilación tipo *Clevenger* con reservorio de destilación *Dean-Stark* y adaptación para calentamiento a través de un horno microondas *LG-Interlowave* (Tianjin, China) con potencia de salida de 1200 W (Véase la **Figura 67**).



**Figura 67.** Montaje empleado para obtener los AE por el método de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.

El tiempo de extracción fue de 40 min y se empleó el 60% de la potencia del horno (720 W). El AE se separó del agua previamente saturada con NaCl, por decantación y se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Posteriormente, el AE aislado fue pesado, y el rendimiento de la extracción se determinó con base en el peso inicial del material vegetal fresco.

### 3.5 ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA

La identificación de los metabolitos secundarios presentes en los AE se llevó a cabo mediante análisis cromatográfico. Para esto, se tomó una alícuota de cada AE (100 µL), y se aforó a 1,5 mL con diclorometano.

En el cromatógrafo, como gas de arrastre se empleó helio. El volumen de inyección de muestra fue de 2 µL, con una relación *split* 1:30. Los EM se obtuvieron por impacto de electrones (EI) con energía de 70 eV. La corriente iónica total (TIC) reconstruida y los EM se obtuvieron por medio de barrido automático en el rango de masas de *m/z* 40-350, con analizador cuadrupolar operado en el modo de barrido completo, *full scan*.

La identificación de cada uno de los componentes presentes en los AE asilados por MWHD se basó en los  $I_K$ , calculados teniendo en cuenta los tiempos de retención de una serie homóloga de patrones de hidrocarburos lineales desde C<sub>10</sub> hasta C<sub>25</sub>, empleando las columnas DB-5 y DB-Wax de diferente polaridad. Se usó la siguiente ecuación para el cálculo de los  $I_K$  [144]:

$$I_K = 100n + 100 \left[ \frac{t_{Rx} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}} \right] \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$I_K$ : Índice de retención del compuesto de interés;

$n$ : Número de átomos de carbono del  $n$ -alcano que eluye antes del compuesto de interés;

$N$ : Número de átomos de carbono del  $n$ -alcano que eluye después del compuesto de interés,  $N > n$ ;

$t_{R_x}$ : Tiempo de retención del compuesto de interés;

$t_{R_n}$ : Tiempo de retención de  $n$ -alcano que eluye antes del compuesto de interés;

$t_{R_N}$ : Tiempo de retención de  $N$ -alcano que eluye después del compuesto  $x$ .

La identificación de los componentes se realizó comparando los EM experimentales, obtenidos por GC-MS, con los EM de los patrones de terpenos certificados y con los EM de las bases de datos *QuadLib2004*, *NIST 2002* y *Wiley 138K*. Los  $I_K$  también se utilizaron para la identificación de los metabolitos secundarios a través de su comparación con los reportados en la literatura [145-147].

Para llevar a cabo la identificación de los metabolitos secundarios de los AE, se utilizó un cromatógrafo de gases de alta resolución *Agilent Technologies* modelo 6890 *Series Plus*, acoplado a un detector selectivo de masas (MSD) *Agilent Technologies 5973 Network* (**Figura 68**), con sistema de datos MSD *ChemStation* (Versión D.02.00.275) y equipado con un inyector automático *Agilent Technologies*, modelo 7863 *Series Injector*. Se empleó una columna capilar DB-5 (*J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.*) de 60 m (L) x 0,25 mm (D.I.), con fase estacionaria apolar de 5%-fenil-poli(metilsiloxano) de 0,25  $\mu\text{m}$  ( $d_f$ ). La temperatura del horno se programó desde 45°C (5 min) @ 4°C/min, hasta 150°C (2 min) @ 5°C/min, hasta 250°C (5 min) @ 10°C/min, hasta 275°C (5 min).



**Figura 68.** Cromatógrafo *Agilent Technologies* modelo 6890 *Series Plus*, acoplado a un MSD *Agilent Technologies* 5973 *Network* y equipado con un inyector automático *Agilent Technologies*, modelo 7863 *Series Injector*.

La caracterización química se realizó empleando un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890N *Network*, acoplado a un detector selectivo de masas (MSD) *Agilent Technologies* 5975 *Inert XL* (**Figura 69**), con sistema de datos MSD *ChemStation* (Versión D.02.00.275) y equipado con un inyector automático *Hewlett-Packard*, modelo 7683 *Series Injector*. Se empleó una columna capilar polar DB-Wax (*J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.*), con fase estacionaria entrecruzada e inmobilizada de poli(etilenglicol), de 60 m (L) x 0,25 mm (D.I.) x 0,25  $\mu\text{m}$  ( $d_f$ ). La temperatura del horno se programó desde 45°C (5 min) @ 3°C/min, hasta 120°C (3 min) @ 4°C/min, hasta 220°C (5 min).



**Figura 69.** Cromatógrafo *Agilent Technologies 6890N Network*, acoplado a un *MSD Agilent Technologies 5975 Inert XL*, y equipado con un inyector automático *Hewlett-Packard*, modelo *7683 Series Injector*.

### 3.6 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD AO

Para el estudio de la posible actividad AO de los AE, obtenidos por MWHD de las 10 especies aromáticas, se utilizaron los métodos de decoloración del radical DPPH<sup>•</sup> y del catión-radical ABTS<sup>•+</sup>, ensayos que permiten evaluar la capacidad para atrapar radicales tanto de sustancias hidrofóbicas, como hidrofílicas.

En todos los casos se usaron cubetas desechables (1 x 1 x 4.5 cm). Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se utilizó la vitamina E y el Trolox<sup>®</sup>, como compuestos de referencia, con capacidad AO basada en su habilidad para atrapar los radicales DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup>.

### 3.6.1 Ensayo de decoloración del radical DPPH<sup>•</sup>

El estudio de la capacidad AO de los AE y de las sustancias de referencia se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito por Brand-Williams [62]. La concentración inicial del DPPH<sup>•</sup> en el medio de reacción, se determinó mediante interpolación en una curva de calibración de soluciones del radical DPPH<sup>•</sup> medidas a 514 nm, en concentraciones de 5, 10, 40, 60, 80 y 100 µM, (absorbancia Vs concentración de DPPH<sup>•</sup>).

Posteriormente, a una alícuota de la solución del radical DPPH<sup>•</sup> (2,5 mL, 0,09 mM), en etanol se le adicionaron 0,5 mL de cada uno de los compuestos con posible habilidad para secuestrar radicales (AE y sustancias de referencia). Inmediatamente, en un espectrofotómetro VIS *Jenway 6300* (**Figura 70**), a 514 nm, se midió la absorbancia de la mezcla de reacción, cada minuto hasta alcanzar el estado estacionario ( $\Delta A/\Delta t = 4 \cdot 10^{-4}$ ; A = absorbancia y t = tiempo).



**Figura 70.** Espectrofotómetro *Jenway 6300*.

La concentración del radical DPPH<sup>•</sup>  $t=0$ , es la concentración inicial medida antes de agregar la sustancia AO (blanco).

Para cada concentración de AO se graficó la cinética de reacción (absorbancia Vs tiempo), y con los valores de absorbancia en el estado estacionario se determinaron los porcentajes del DPPH<sup>•</sup> remanente, para cada una de las concentraciones efectivas, EC (**Ecuación 2**). Estos valores se graficaron (%).

DPPH<sup>•</sup> remanente Vs EC) y se estableció la respectiva ecuación de correlación entre la EC y el porcentaje de DPPH<sup>•</sup> remanente. Posteriormente, se interpolaron los valores de EC, correspondientes al 50% de DPPH<sup>•</sup> remanente. El valor obtenido se denomina la concentración media efectiva, EC<sub>50</sub>, *i.e.* la concentración de antioxidante necesaria para disminuir la concentración del radical DPPH<sup>•</sup> en un 50%.

$$EC = \frac{\text{Concentración de AO}}{\text{Concentración de DPPH}^{\bullet} \text{ en el estado estacionario}} \quad \text{Ecuación 2}$$

### 3.6.2 Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS<sup>•+</sup>.

La determinación de la capacidad AO de los AE y de las sustancias de referencia se realizó con base en el procedimiento descrito por Re [67]. Para la preparación del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> se utilizaron 3,34 mg de peroxodisulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), 19,60 mg de ABTS y la mezcla se aforó a 5 mL con agua grado HPLC. La solución se dejó reaccionar durante 16 horas a temperatura ambiente y en ausencia de luz.

Una alícuota de la solución del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> se diluyó en etanol hasta conseguir una absorbancia de 0.700 (± 0.20) a 734 nm. Posteriormente, a una alícuota de la nueva solución del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> (3 mL), se le adicionaron 30 µL de cada uno de los compuestos con posible habilidad para secuestrar radicales (AE y sustancias de referencia). Finalmente, en un espectrofotómetro 20 Genesys (Véase la **Figura 71**), a 734 nm, se midió la absorbancia de la mezcla de reacción, exactamente 6 min después de la adición de cada uno de los posibles agentes o mezclas, “secuestradores” de radicales.



**Figura 71.** Espectrofotómetro 20 Genesys.

El porcentaje de inhibición se determinó mediante la siguiente relación [58]:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{A_o - A_f}{A_o} \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

$A_o$ : Absorbancia del catión-radical determinada antes de adicionar la sustancia AO (blanco);

$A_f$ : Absorbancia del catión-radical determinada 6 min después de la adición de la sustancia AO.

Para cada sustancia, con posible habilidad para atrapar radicales, se determinó la concentración en kg/L en la celda y se graficó el % de inhibición Vs concentración. Utilizando esta gráfica, se obtuvo la pendiente de la recta, la cual posteriormente se empleó para establecer la capacidad secuestradora de radicales y se determinó la actividad AO total (*Total Antioxidant Activity*, TAA), expresada como mmol de Trolox<sup>®</sup> por kg de sustancia.

### **3.7 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE LOS AE.**

Este ensayo fue realizado por los doctores Juan Gabriel Bueno, Jehidys Montiel, Ana Cecilia Mesa y otros colaboradores del Grupo de Investigación en

Infección y Cáncer de la Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia), que forma parte de CENIVAM. Para este ensayo, se evaluó la actividad antimicótica de los AE frente a levaduras utilizando las cepas control de calidad *Candida parapsilosis* ATCC 22019 y *Candida krusei* ATCC 6258. También se evaluó la actividad antimicótica de los AE contra hongos filamentosos usando las cepas de referencia *Aspergillus fumigatus* ATCC 204305 y *Aspergillus flavus* ATCC 204304. Como control positivo se utilizó el fármaco itraconazol (ITZ, Sigma).

La actividad antimicótica del fármaco control y los AE se determinó mediante la concentración mínima inhibitoria (MIC), definida como la concentración mínima del AE o molécula que inhibió el crecimiento del hongo. Para este fin se utilizaron las técnicas de microdilución en caldo AFST-EUCAST (*Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) para levaduras fermentadoras de glucosa y la M38-A CLSI (*Clinical Laboratory Standard Institute*) para hongos filamentosos. Todos los ensayos se realizaron por duplicado en tres momentos diferentes.

### **3.8 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA**

Este ensayo fue realizado por el Dr. Jesús Olivero y su grupo de investigación de Química Ambiental y Computacional de la Universidad de Cartagena (Cartagena, Colombia), que forma parte del Centro de Investigación de Excelencia, CENIVAM.

Los nauplios de *Artemia franciscana* fueron expuestos a diversas concentraciones de los AE en agua de mar (predisueltos en DMSO), el conteo de los organismos muertos se llevó a cabo 24 y 48 horas después de inoculadas las soluciones. El grado de toxicidad de los AE frente a *Artemia franciscana* se expresó como concentración letal media (CL<sub>50</sub>), *i.e.* la cantidad de AE requerida para ocasionar la muerte del 50% de los nauplios de *Artemia franciscana*. La CL<sub>50</sub> fue determinada usando el método de análisis *probit*.

### 3.9. CONSTRUCCIÓN DE MODELOS

Mediante el método estadístico de Regresión Lineal Múltiple (MLR), usando el programa *STATISTICA* 6.0, se construyeron modelos matemáticos que relacionaron la composición química de los AE de las 10 plantas aromáticas obtenidas en las 4 colectas botánicas, con sus actividades biológicas (antimicótica, AO y citotóxica).

Se aplicó la MLR por pasos, utilizando el procedimiento de eliminación hacia adelante (*Forward stepwise*). Las actividades biológicas y la composición química se relacionaron mediante una función matemática conocida, F:

$$\text{Actividad biológica} = F(\text{composición química}) \quad \text{Ecuación 4}$$

Las actividades biológicas son conocidas como las variables dependientes, y están determinadas por la composición química de los AE de las plantas (variables independientes). La composición química está representada por el tipo y la cantidad relativa (%) de cada componente.

## 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1. OBTENCIÓN DE LOS AE POR MWHD

Todos los AE se aislaron utilizando la técnica de MWHD, bajo las condiciones descritas en el **Numeral 3.4**. En la **Tabla 34** se reporta el rendimiento de extracción de los AE con base en el peso inicial del material vegetal fresco.

**Tabla 34.** Rendimientos de los AE obtenidos por MWHD, de las 10 plantas aromáticas colombianas bajo estudio.

Especie vegetal	Rendimiento de extracción, (% p/p)
<i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo Carvacrol)	3,57
<i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo <i>p</i> -Cimeno)	0,97
<i>Lippia alba</i> (quimiotipo Citral)	0,30
<i>Piper auritum</i>	2,30
<i>Hyptis mutabilis</i>	0,32
<i>Lippia micromera</i>	2,00
<i>Hedyosmum racemosum</i>	0,10
<i>Piper eriopodon</i>	0,16
<i>Piper bredemeyeri</i>	0,20
<i>Conyza bonariensis</i>	0,80
<i>Calycolpus moritizinus</i>	0,30

Los AE de *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol), *Piper auritum* y *Lippia micromera* presentaron mayores rendimientos de extracción (2,00-3,57%), mientras que, el resto de los AE se obtuvo con rendimientos mucho más bajos (0,97-0,10%).

## 4.2. ANÁLISIS POR GC-MS DE LOS AE

Los AE se analizaron por GC-MS, en dos columnas, a saber: polar, DB-Wax (60 m) y apolar, DB-5 (60 m), bajo las condiciones descritas en el **Numeral 3.5**. La identificación de los analitos se realizó con base en dos criterios, *i.e.* cromatográfico ( $I_K$ ,  $t_R$ ) y espectroscópico (MS, EI, 70 eV). Para algunos compuestos mayoritarios, *e.g.* timol y carvacrol, se usaron los respectivos patrones, analizados por GC-MS, bajo las mismas condiciones operacionales usadas para el análisis de los AE, comparando los  $t_R$ ,  $I_K$  en la columna apolar y los MS.

### 4.2.1. *Lippia micromera*

En el AE de *Lippia micromera* obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 43 compuestos en cantidades  $>0,1\%$ ; de ellos, se identificaron positivamente, usando  $I_K$  (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 39 compuestos (91%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración,  $Thshd = 18$  y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 72**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia micromera*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 35**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Lippia micromera*.

Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a timol (29,1%), metil timil éter (14,9%),  $\gamma$ -terpineno (12,5%) y *p*-cimeno (13,1%). El AE de *Lippia micromera* puede clasificarse como de tipo monoterpenoide (48,0%), según la **Tabla 35**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

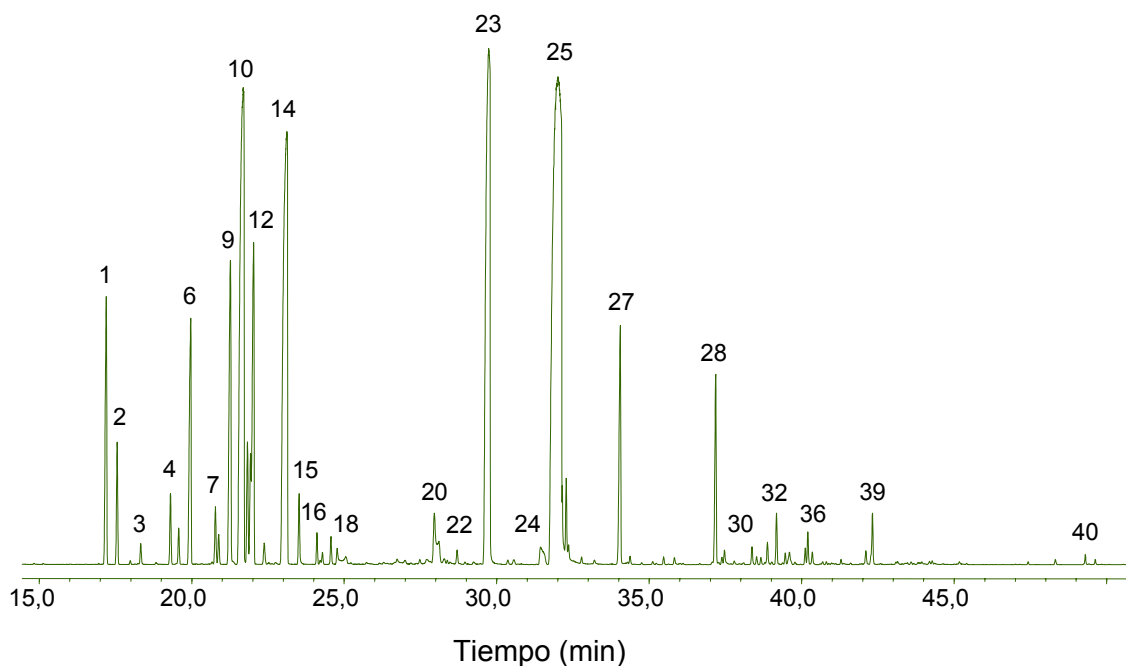
**Tabla 35.** Composición química del AE de *Lippia micromera*, quimiotipo Timol, aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>k</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	α-Tuyeno	925	1026	2,8
2	α-Pineno	934	1022	1,0
3	Canfeno	952	1065	0,2
4	Sabineno	976	1122	0,6
5	β-Pineno	982	1108	0,3
6	β-Mirceno	991	1165	3,1
7	α-Felandreno	1011	1165	0,5
8	Δ <sup>3</sup> -Careno	1013	1149	0,3
9	α-Terpineno	1022	1181	4,0
10	<i>p</i> -Cimeno	1033	1274	13,1
11	Limoneno	1036	1200	1,1
12	β-Felandreno	1041	1210	5,0
	Eucaliptol (1,8-Cineol)	1041	1213	
13	<i>trans</i> -β-Ocimeno	1049	1253	0,2
14	γ-Terpineno	1067	1250	12,5
15	<i>trans</i> -4-Tuyanól	1076	1559	0,6
16	α-Terpinoleno	1090	1286	0,2
17	<i>p</i> -Cimeno	1094	----	0,1
	6,7-Epóxido de mirceno	1094	----	
18	Linalool	1101	1553	0,2
19	<i>cis</i> -4-Tuyanól	1106	1469	0,1
20	Umbelulona	1188	1652	0,8
21	Terpinen-4-ol	1192	1611	0,4
22	α-Terpineol	1207	1705	0,1
23	Metil timil éter	1237	1599	14,9
24	2-Isopropil-4-metilfenol (isómero Timol)	1286	2209	0,5
	Geranial	1286	1741	
25	Timol	1293	2193	29,1
26	Carvacrol	1304	2222	1,0
27	Acetato de timilo	1350	1858	2,7
28	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1436	1606	1,9
29	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> , N.I.	1444	1687	0,1
30	α-Humuleno	1471	1679	0,2
31	γ-Muuroleno	1486	1697	0,2
32	Germacreno D	1495	1719	0,4
33	Valenceno	1504	1722	0,1
34	α-Muuroleno	1508	1736	0,2
35	δ-Amorfeno	1529	1767	0,1
36	<i>trans</i> -Calameneno	1534	1844	0,3
37	Espatuleno	1592	2143	0,1

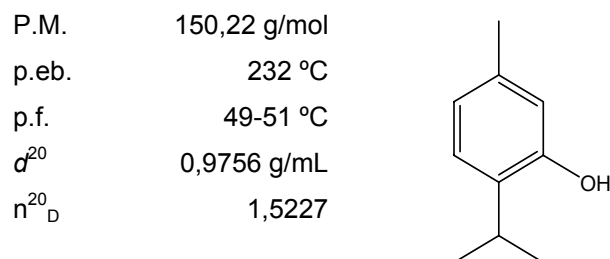
Continuación **Tabla 35.**

38	$\gamma$ -Cadineno	1526	1770	0,1
39	Óxido de cariofileno	1600	2006	0,5
40	N.I.	1886	---	0,1
Familia de compuestos		Cantidad relativa (%)		
Hidrocarburos monoterpénicos		40,2		
Monoterpenos oxigenados		7,8		
Hidrocarburos sesquiterpénicos		3,5		
Sesquiterpenos oxigenados		0,7		
Fenilpropanoides		47,7		
Otros compuestos oxigenados		0,1		
<sup>a</sup>	Número de pico en la <b>Figura 72</b>	N.I. No identificado		
<sup>b</sup>	Índices de Kovàts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente		

La identidad del timol, fue corroborada comparando los  $t_R$ ,  $I_K$  y los MS del timol (AE) con los del patrón de timol certificado (**Anexo 1**). Por lo tanto, se encontró que esta especie de *Lippia micromera* es un nuevo quimiotipo, no descrito previamente en la literatura, y se destaca por el alto contenido de timol; mientras que los quimiotipos de esta planta, cultivados en Brasil, poseen carvacrol o citral como compuestos mayoritarios [90,91]. En el AE de *Lippia micromera* de Cuba predomina el carvacrol como componente principal [89].

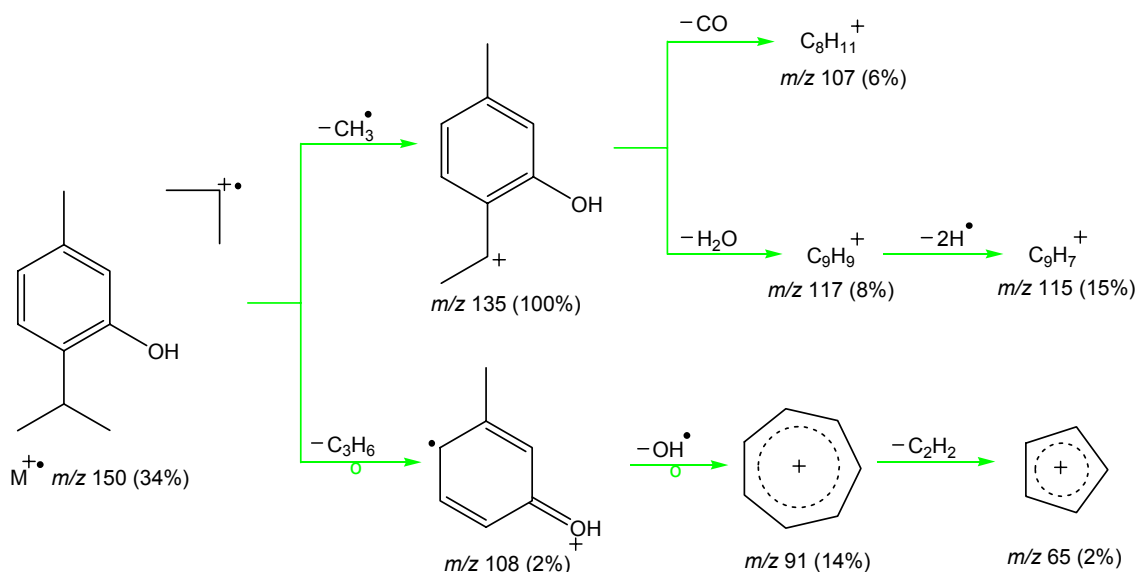


**Figura 72.** Perfil cromatográfico típico del AE de *Lippia micromera*, quimiotipo Timol, aislado por MWDH. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).



**Figura 73.** Timol y sus propiedades físicas.

Timol ( $C_{10}H_{14}O$ ) es un terpeno fenólico (**Figura 73**), se encuentra en forma de cristales incoloros, posee un olor a hierba picante, reminiscente a tomillo, se utiliza como nota odorífera en composiciones de lavanda, en perfumes de hombres, y como desinfectante en productos de cuidado oral. También se usa como materia prima en la producción de mentol racémico. Es el principal ingrediente del tomillo y de algunos oréganos. Es irritante [10,148,149].



**Figura 74.** Rutas de fragmentación del timol (MS, EI, 70eV).

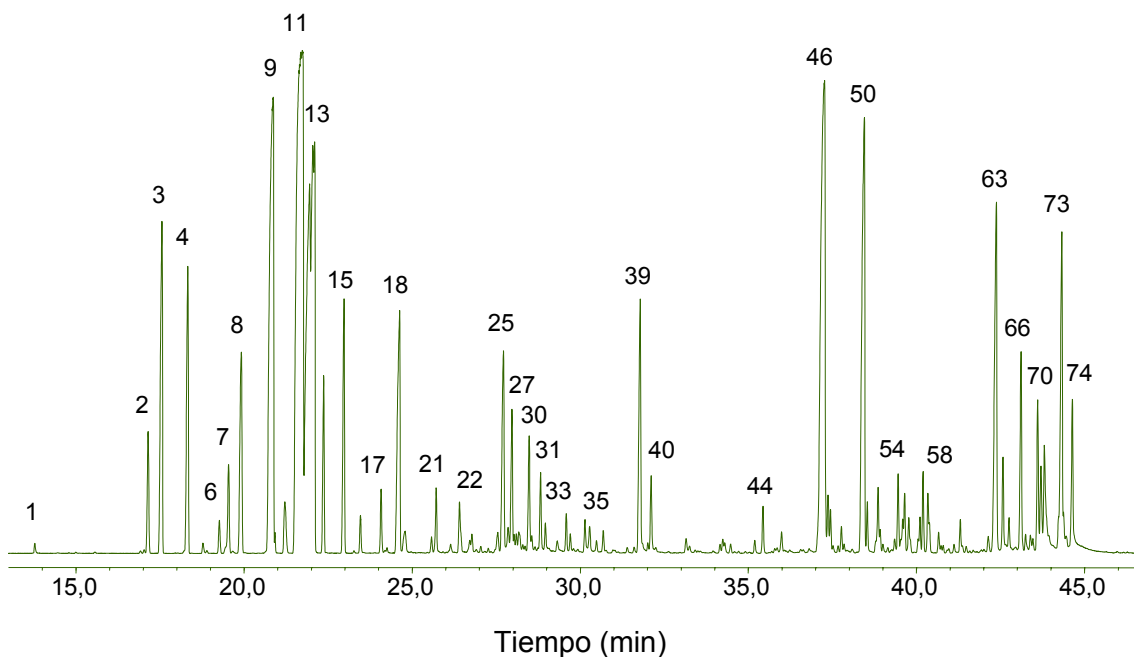
Las rutas de fragmentación del timol, según su MS (70 eV, EI) obtenido, se ilustran en la **Figura 74**. El MS de este compuesto (**Anexo 1**) se caracteriza por tener un ion molecular relativamente intenso,  $M^{+\bullet}$ ,  $m/z$  150 (34%), y por poseer pocas señales, con una fragmentación escasa, característica de los compuestos aromáticos, sometidos al impacto electrónico. El ion, pico de base

en  $m/z$  135 se forma por la eliminación de un radical metilo a partir del ion molecular. Además, se observan iones típicos para los compuestos aromáticos en  $m/z$  91, 77 y 65 [150,151].

#### 4.2.2. *Lippia origanoides* (quimiotipo *p*-Cimeno)

En el AE de *Lippia origanoides* (quimiotipo *p*-Cimeno) obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 95 compuestos en cantidades  $>0,1\%$ ; de ellos, se identificaron positivamente, usando  $I_K$  (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 73 compuestos (77%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración,  $Thshd = 18$  y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 75**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia origanoides* (quimiotipo *p*-Cimeno), obtenidos por MWHD. En la **Tabla 36**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Lippia origanoides* (quimiotipo *p*-Cimeno).



**Figura 75.** Perfil cromatográfico típico del AE de *Lippia origanoides*, quimiotipo *p*-Cimeno, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

**Tabla 36.** Composición química del AE de *Lippia origanoides*, quimiotipo *p*-Cimeno, aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>K</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa, (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	<i>trans</i> -2-Hexenal	844	1220	0,1
2	$\alpha$ -Tuyeno	924	1026	0,9
3	$\alpha$ -Pinoeno	934	1022	3,1
4	Canfeno	952	1066	2,4
5	Benzaldehído	963	1199	0,1
6	Sabineno	975	1122	0,2
7	1-Octen-3-ol	981	1451	0,7
	$\beta$ -Pinoeno	981	1108	
8	$\beta$ -Mirceno	990	1165	2,0
9	$\alpha$ -Felandreno	1014	1168	8,3
	$\Delta^3$ -Careno	1014	1149	0,4
10	$\alpha$ -Terpineno	1021	1181	0,5
11	<i>p</i> -Cimeno	1034	1275	15,7
12	Limoneno	1039	1201	6,9
13	$\beta$ -Felandreno	1042	1214	2,7
	Eucaliptol (1,8-Cineol)	1042	1214	4,1
14	<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimeno	1048	1254	1,2
15	$\gamma$ -Terpineno	1063	1248	1,9
16	<i>trans</i> -4-Tuyanól	1074	1559	0,2
17	$\alpha$ -Terpinoleno	1089	1286	0,4
18	Linalool	1102	1554	2,9
19	<i>cis</i> -4-Tuyanól	1106	1469	0,3
20	<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	1127	1634	0,1
21	<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1130	1573	0,4
22	<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1149	1638	0,4
	<i>trans</i> -Pinocarveol	1149	1666	
23	Alcanfor	1158	1528	0,2
	2,6-Dimetil-1,5,7-octatrien-3-ol*	1158	---	
24	$\delta$ -Terpineol	1178	1615	0,2
	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1178	---	
25	Borneol	1182	1715	1,9
26	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1185	---	0,2
27	Terpinen-4-ol	1188	1611	1,1
28	<i>p</i> -Cimen-8-ol	1191	1846	0,1
29	Criptota*	1194	---	0,2
	<i>trans</i> -Isocarveol	1194	1807	
30	$\alpha$ -Terpineol	1203	1705	0,9
	<i>cis</i> -Piperitol*	1203	---	
31	<i>cis</i> -Sabinol	1210	1818	0,5
32	<i>trans</i> -Piperitol	1214	1756	0,2

Continuación **Tabla 36.**

33	Metil timil éter	1231	1598	0,2
34	<i>cis-p</i> -Menta-1(7),8-dien-2-ol	1234	1898	0,1
35	<i>trans</i> -Sabinol	1247	1914	0,2
	Fenetilmetilcetona*	1247	----	
36	Cumaldehído	1252	1790	0,2
	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> , N.I.	1252	----	
37	Carvotanacetona*	1256	----	0,1
38	Piperitona	1261	1743	0,2
39	Timol	1291	2192	2,2
40	Carvacrol	1300	2223	0,5
41	N.I.	1327	----	0,1
42	α-Cubebeno	1356	1464	0,2
	Eugenol	1356	2177	
43	α-Ylangeno	1380	1491	0,1
44	α-Copaeno	1386	1499	0,3
45	Metil eugenol	1401	2020	0,2
46	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1439	1609	9,4
47	<i>trans</i> -α-Bergamoteno	1441	1592	0,4
48	β-Copaeno	1444	1691	0,3
49	Aromadendreno	1453	1710	0,1
50	α-Humuleno	1474	1682	5,7
51	<i>allo</i> -Aromadendreno	1476	1657	0,3
52	Cadina-1(6),4-dieno	1486	1615	0,6
	γ-Muuroleno	1486	1702	
	<i>ar</i> -Curcumeno	1486	1780	
53	<i>di-epi</i> -α-Cedreno*	1500	----	0,1
54	β-Selineno	1503	1731	0,5
55	<i>trans</i> -Muurolo-4(14),5-dieno*	1508	----	0,7
	α-Selineno	1508	1736	
	α-Muuroleno	1508	1697	
56	β-Bisaboleno	1516	1734	0,3
	β-Curcumeno*	1516	----	
57	γ-Cadineno	1525	1770	0,3
	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1525	----	
58	δ-Amorfeno	1528	1767	0,5
59	<i>trans</i> -Calameneno	1533	1844	0,5
	<i>trans</i> -γ-Bisaboleno	1533	1764	
60	<i>cis</i> -Calameneno	1544	1837	0,1
	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> , N.I.	1544	----	
61	<i>trans</i> -Nerolidol	1566	2045	0,2
	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1566	2208	
62	Espatuleno	1593	2143	0,1
63	Óxido de cariofileno	1602	2006	3,7

Continuación **Tabla 36.**

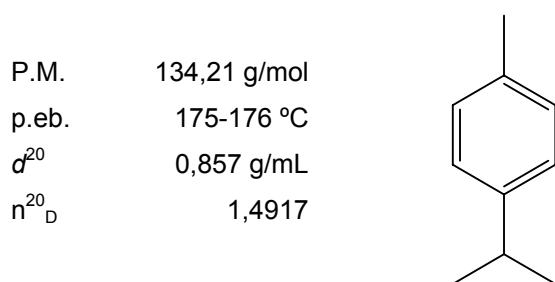
64	Guaiol	1609	2105	0,7
65	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1616	2308	0,3
66	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1630	----	1,5
67	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1634	2322	0,1
68	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1640	2315	0,1
69	1- <i>epi</i> -Cubenol	1643	2086	0,1
70	γ-Eudesmol	1648	2188	1,0
71	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1652	2356	0,7
72	Cariofila-4(14),8(15)-dien-5-α-ol*	1655	----	1,2
73	α-Cadinol	1675	2208	3,2
	α-Eudesmol	1675	2244	
74	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1687	2398	1,3
Familia de compuestos		Cantidad relativa (%)		
Hidrocarburos monoterpénicos		44,5		
Monoterpenos oxigenados		17,4		
Hidrocarburos sesquiterpénicos		20,3		
Sesquiterpenos oxigenados		14,2		
Fenilpropanoides		3,3		
Otros compuestos oxigenados		0,3		
a	Número de pico en la <b>Figura 75</b>	N.I. No identificado		
b	Índices de Kováts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente		

Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a *p*-cimeno (15,7%), *trans*-β-cariofileno (9,4%), α-felandreno (8,3%) y limoneno (6,9%). El AE de *Lippia origanoides* (quimiotipo *p*-Cimeno) puede clasificarse como de tipo monoterpenoide (61,9%), según la **Tabla 36**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

La identidad del *p*-cimeno, fue corroborada comparando los  $t_R$ ,  $I_K$  y los MS del *p*-cimeno (AE) con los del patrón de *p*-cimeno certificado (**Anexo 1**). Estos datos concuerdan con la composición química de uno de los quimiotipos de *Lippia origanoides* reportados en Brasil [94].

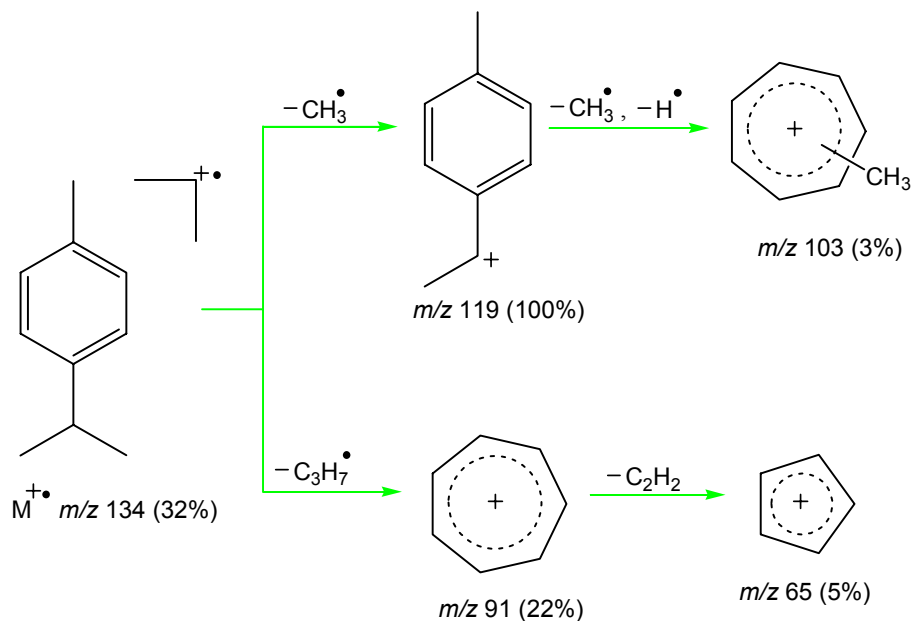
*p*-Cimeno (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>) es un hidrocarburo monoterpénico (**Figura 76**), que se encuentra ampliamente difundido en la naturaleza, especialmente, en los AE de trementina ruso y sueco. Es un líquido incoloro, ópticamente inactivo, posee el olor típico de los hidrocarburos aromáticos. Se utiliza ampliamente en jabones y

preparaciones técnicas para enmascarar olores indeseables. Con el envejecimiento este compuesto tiende a oscurecerse, no es tóxico, pero es moderadamente irritante. Es uno de los precursores biosintéticos de los fenoles en el metabolismo secundario vegetal [10,149,152].



**Figura 76.** *p*-Cimeno y sus propiedades físicas.

En el **Anexo 1** se ilustran los MS del *p*-cimeno en el AE junto el espectro del patrón certificado y la tabla comparativa de los  $t_R$  e  $I_K$  en la columna DB-5 para este compuesto.



**Figura 77.** Rutas de fragmentación del *p*-cimeno (MS, EI, 70 eV).

Las rutas de fragmentación del *p*-cimeno se ilustran en la **Figura 77**. En el EM (**Anexo 1**) del *p*-cimeno el ion molecular  $M^{+\bullet}$  aparece en  $m/z$  150 presentando una intensidad media (32%). El ion pico de base ( $m/z$  119) en el MS del *p*-

cimeno corresponde al fragmento originado por la eliminación de un radical metilo del ion molecular. También, se observa la formación de una serie de fragmentos que son típicos para los compuestos aromáticos ( $m/z$  91 y 65) [9,150,151].

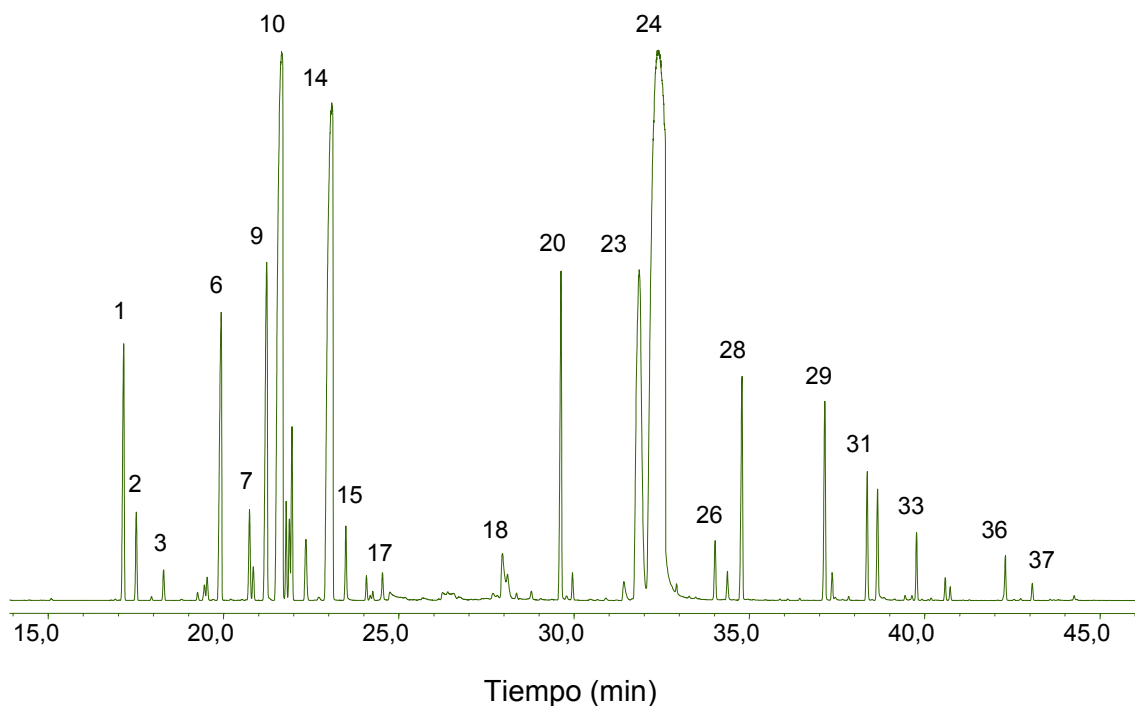
#### 4.2.3. *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol)

En el AE de *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol) obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 38 compuestos en cantidades  $>0,1\%$ ; de ellos, se identificaron positivamente, usando  $I_K$  (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 34 compuestos (89%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración,  $Thshd = 18$  y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 78**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol), obtenidos por MWHD. En la **Tabla 37**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol).

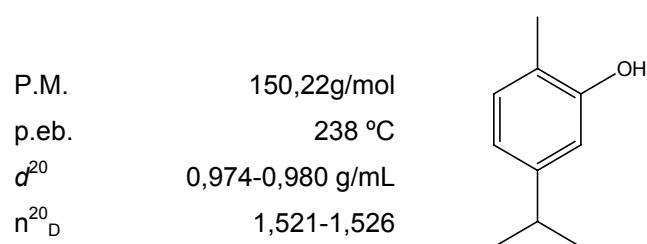
Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a carvacrol (36,6%), *p*-cimeno (14,0%),  $\gamma$ -terpineno (13,3%) y timol (9,1%). El AE de *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol) puede clasificarse como de tipo fenilpropanoide (51,5%), según la **Tabla 37**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

Para confirmar la presencia del carvacrol, compuesto mayoritario del aceite, se llevó a cabo la comparación del MS,  $t_R$  e  $I_K$  de este compuesto en el AE con un patrón certificado de carvacrol (**Anexo 1**). El AE de este quimiotipo de *Lippia origanoides* es similar al descrito en la literatura por los autores brasileiros [85,86].



**Figura 78.** Perfil cromatográfico típico del AE de *Lippia origanoides*, quimiotipo Carvacrol, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Carvacrol (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O) es un terpeno fenólico (**Figura 79**), irritante y corrosivo, debido a su naturaleza fenólica, es moderadamente tóxico y, por ende, proporciona cierta toxicidad a los AE que lo contienen. Es un líquido incoloro o ligeramente amarillo, insoluble en agua y soluble en alcohol y éter, con olor pungente. Es el principal constituyente de muchas especies de la familia *Labiatae*, se usa como antiséptico y germicida en muchas preparaciones medicinales y orales, también se emplea como desinfectante; se ha sugerido como anestésico local en odontología y como antihelmíntico [10,149,152].



**Figura 79.** Carvacrol y sus propiedades físicas.

**Tabla 37.** Composición química del AE de *Lippia organoides*, quimiotipo Carvacrol, aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>K</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	α-Tuyeno	924	1026	2,2
2	α-Pineno	933	1022	0,6
3	Canfeno	952	1065	0,2
4	1-Octen-3-ol	979	1451	0,1
5	β-Pineno	981	1108	0,2
6	β-Mirceno	991	1165	3,2
7	α-Felandreno	1010	1166	0,7
8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> , N.I.	1012	1148	0,2
9	α-Terpineno	1022	1181	3,8
10	<i>p</i> -Cimeno	1033	1274	14,0
11	Limoneno	1035	1200	0,6
12	β-Felandreno	1039	1212	1,7
	Eucaliptol (1,8-Cineol)	1039	1212	
13	<i>trans</i> -β-Ocimeno	1048	1253	0,6
14	γ-Terpineno	1066	1250	13,3
15	<i>trans</i> -4-Tuyanól	1075	1559	0,5
16	α-Terpinoleno	1089	1286	0,2
17	Linalool	1100	1553	0,2
18	Terpinen-4-ol	1188	1611	0,7
19	Umbelulona	1192	1650	0,3
20	Metil timil éter	1232	1597	2,8
21	Metil carvacril éter	1241	1608	0,2
22	2-Isopropil-4-metilfenol (isómero del timol)	1281	2173	0,3
23	Timol	1293	2192	9,1
24	Carvacrol	1308	2224	36,6
25	<i>iso</i> -Ascaridol*	1321	----	0,2
26	Acetato de timilo	1350	1860	0,5
27	Eugenol	1359	2180	0,2
28	Acetato de carvacrilo	1370	1882	1,9
29	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1435	1606	1,6
30	<i>trans</i> -α-Bergamoteno	1441	1591	0,2
31	α-Humuleno	1471	1680	1,0
32	2,5-Dimetoxiacetofenona*	1478	----	0,9
33	β-Bisaboleno	1514	1736	0,5
34	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1542	----	0,1
35	<i>trans</i> -α-Bisaboleno	1546	1766	0,1
36	Óxido de cariofileno	1599	2006	0,3
37	Epóxido de humuleno	1628	2064	0,1

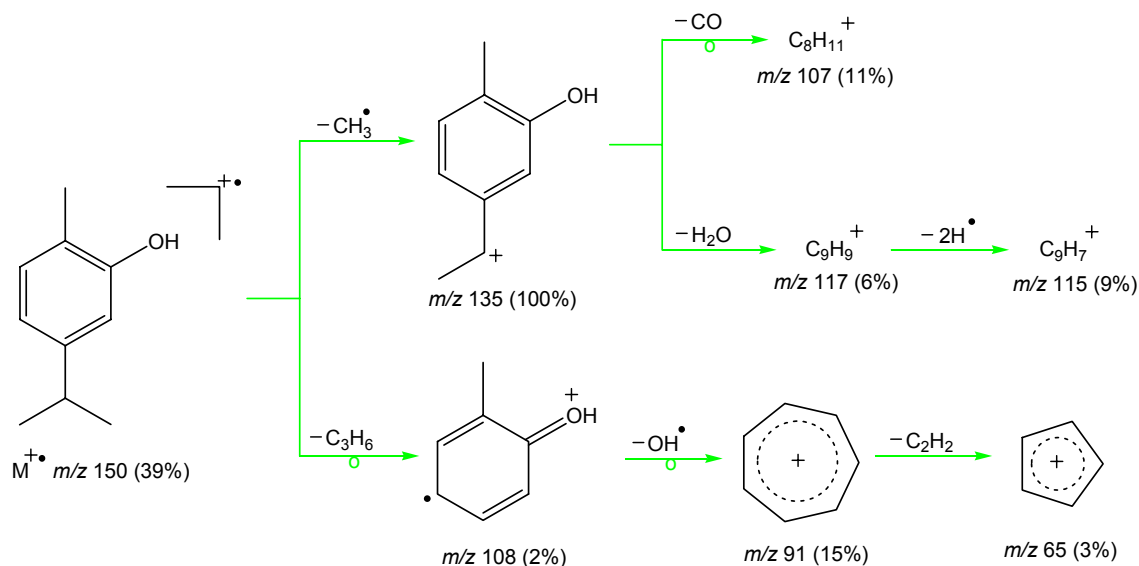
Continuación **Tabla 37.**

Familia de compuestos	Cantidad relativa (%)
Hidrocarburos monoterpénicos	39,8
Monoterpenos oxigenados	3,7
Hidrocarburos sesquiterpénicos	3,4
Sesquiterpenos oxigenados	0,6
Fenilpropanoides	51,5
Otros compuestos oxigenados	1,0

a Número de pico en la **Figura 78** N.I. No identificado.

b Índices de Kovàts determinados experimentalmente \* Identificado tentativamente

En la **Figura 80**, aparece la formación de algunos fragmentos a partir del ion molecular,  $M^+$ ,  $m/z$  150 (39%) del carvacrol (MS, **Anexo1**). Al igual que su isómero timol, el carvacrol debe su ion, pico de base en  $m/z$  135, a la pérdida de un radical metilo del ion molecular. Asimismo, se forman los iones típicos de los compuestos aromáticos en  $m/z$  91, 77 y 65. Ambos isómeros presentan un patrón de fragmentación similar, que es bastante escasa, debido a la estabilidad característica del anillo aromático, pero en sus MS se observan algunas diferencias en las intensidades de iones fragmento. [150,151].

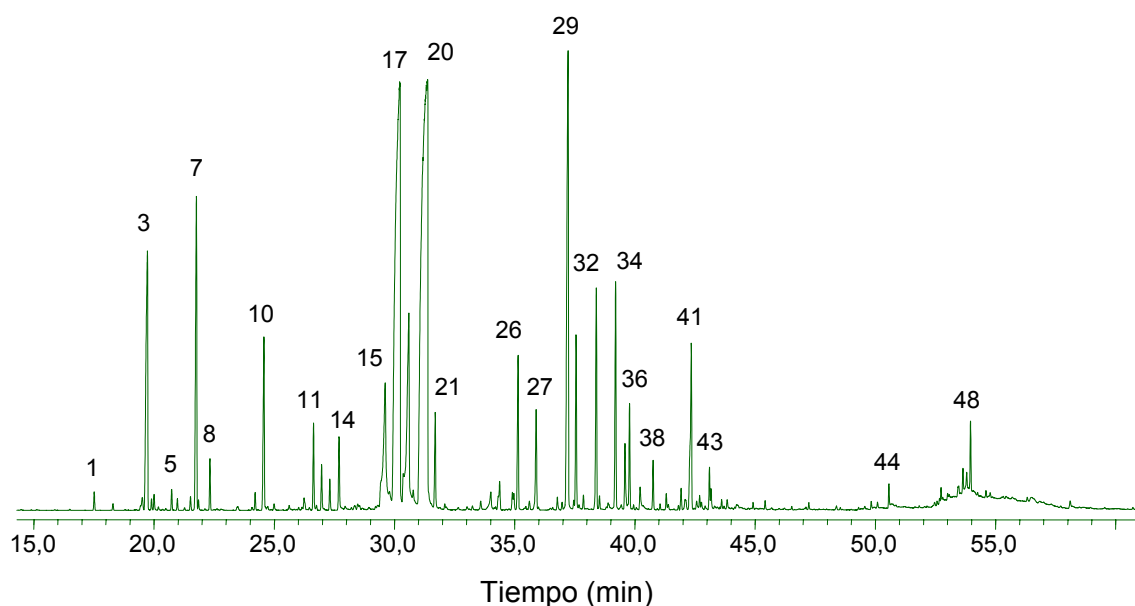


**Figura 80.** Rutas de fragmentación del carvacrol (MS, EI, 70 eV).

#### 4.2.4. *Lippia alba* (quimiotipo Citral)

En el AE de *Lippia alba* (quimiotipo Citral) obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 56 compuestos en cantidades >0,1%; de ellos, se identificaron positivamente, usando I<sub>K</sub> (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV), 39 compuestos (70%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, *Thshd* = 18 y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 81**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Lippia alba* (quimiotipo Citral), obtenidos por MWHD. En la **Tabla 38**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Lippia alba* (quimiotipo Citral).



**Figura 81.** Perfil cromatográfico típico del AE de *Lippia alba*, quimiotipo Citral, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a geranial (27,1%), neral (20,8%), *trans*- $\beta$ -cariofileno (7,5%) y geraniol (5,3%). El AE de *Lippia alba* (quimiotipo Citral) puede clasificarse como de tipo monoterpenoide (68,5%), según la **Tabla 38**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

**Tabla 38.** Composición química del AE de *Lippia alba* (quimiotipo Citral), aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>K</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	α-Pineno	933	1022	0,2
2	1-Octen-3-ol	981	1451	0,2
	β-Pineno	981	1108	
3	6-Metil-5-hepten-2-ona	986	1341	4,7
4	6-Metil-5-hepten-2-ol*	992	----	0,1
5	α-Felandreno	1010	1166	0,2
6	o-Cimeno	1033	1270	0,1
7	Limoneno	1034	1200	3,9
8	<i>trans</i> -β-Ocimeno	1048	1253	0,5
9	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O, N.I.	1092	1403	0,2
10	Linalool	1101	1553	2,1
11	Citronelal	1154	1481	0,8
12	<i>trans</i> -Verbenol	1162	1577	0,5
13	Epóxido de rosafurano	1171	1609	0,3
14	<i>cis</i> -Verbenol	1181	1548	0,8
15	Nerol	1232	1808	3,9
16	Isogeraniol	1237	1817	0,4
17	Neral	1249	1689	20,8
18	Geraniol	1259	1855	5,3
19	Piperitona	1264	1743	0,4
20	Geranial	1280	1741	27,1
21	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1289	----	1,0
22	Ácido geránico	1349	2336	0,4
23	Acetato de α-terpenilo*	1359	----	0,5
	Acetato de nerilo	1359	1732	
24	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> , N.I.	1372	----	0,2
25	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O, N.I.	1374	----	0,2
26	Acetato de geranilo	1379	1762	1,7
27	β-Elemenol	1398	1597	1,2
	Metil isoeugenol	1398	2020	
28	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O, N.I.	1424	----	0,1
29	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1437	1606	7,5
30	β-Copaeno	1447	1691	1,8
	α-Guaieno	1447	1597	
31	<i>trans</i> -β-Farneseno	1456	1669	0,1
32	α-Humuleno	1472	1680	2,5
33	<i>allo</i> -Aromadendreno	1476	1656	0,1
34	Germacreno D	1495	1719	2,4

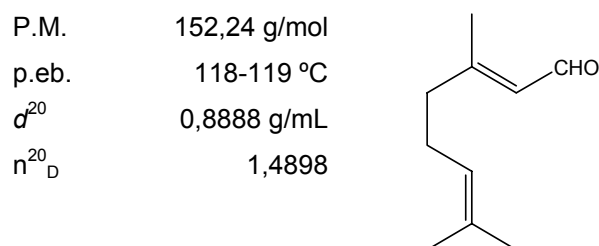
Continuación **Tabla 38.**

35	<i>iso</i> -Butanoato de nerilo	1509	1815	0,7
	$\alpha$ -Muuruleno	1509	1736	
	Biciclogermacreno	1509	1747	
36	$\alpha$ -Bulneseno	1514	1725	1,1
37	10- <i>epi</i> -Cubebol	1529	1955	0,4
38	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1547	----	0,5
39	<i>trans</i> -Nerolidol	1566	2045	0,1
40	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1586	1952	0,2
41	Isovalerato de nerilo	1601	1817	2,3
	Óxido de cariofileno	1601	2005	
42	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1613	----	0,1
43	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O, N.I.	1629	----	0,6
	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1632	2202	
44	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O, N.I.	1946	2254	0,2
45	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O, N.I.	2054	----	0,2
46	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O, N.I.	2101	----	0,2
47	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O, N.I.	2108	2269	0,4
48	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O, N.I.	2116	2306	0,8
Familia de compuestos		Cantidad relativa (%)		
Hidrocarburos monoterpénicos		5,1		
Monoterpenos oxigenados		63,4		
Hidrocarburos sesquiterpénicos		16,7		
Sesquiterpenos oxigenados		3,8		
Fenilpropanoides		1,2		
Otros compuestos oxigenados		9,8		
a	Número de pico en la <b>Figura 81</b>	N.I. No identificado		
b	Índices de Kovàts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente		

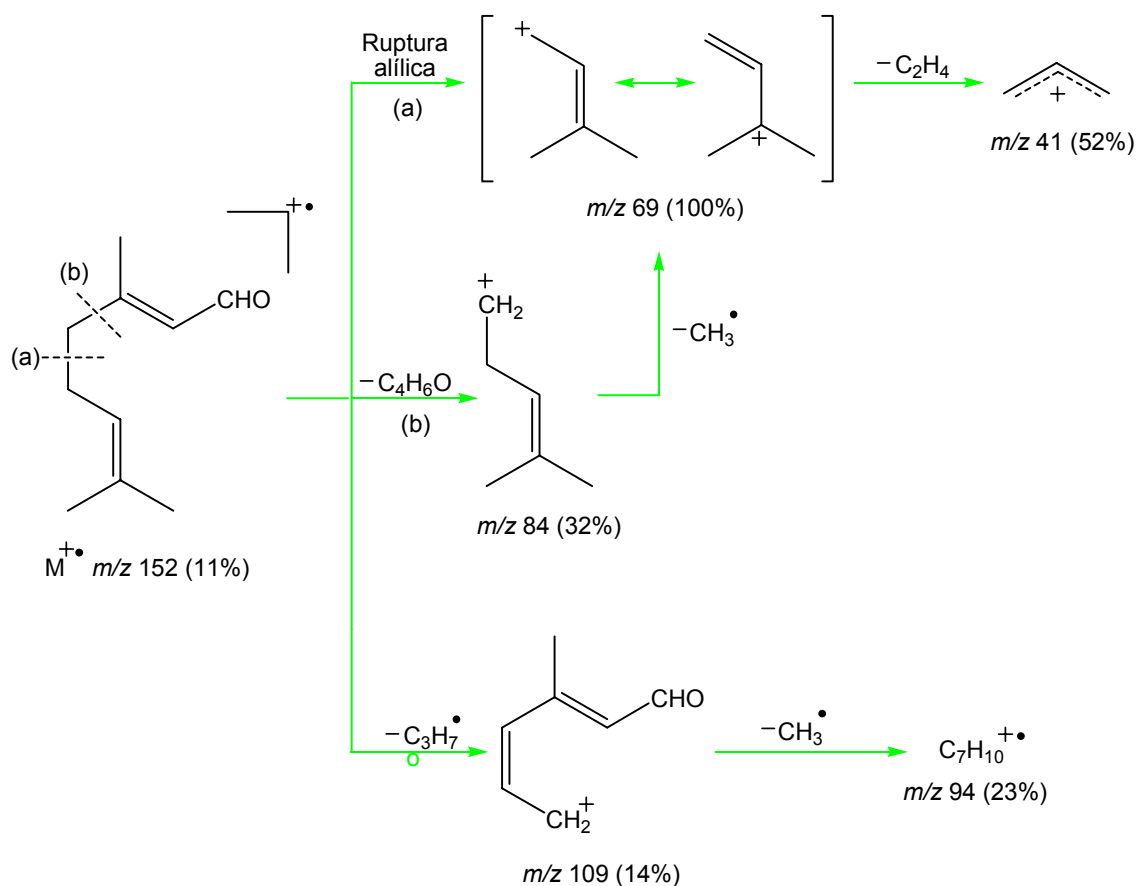
Para confirmar la presencia de geranial y neral, compuestos mayoritarios del aceite, se llevó a cabo la comparación de los MS,  $t_R$  e  $I_K$  de estos compuestos con patrones certificados de geranial y neral, respectivamente (**Anexo 1**). La composición de este AE de *Lippia alba* coincide con uno de los quimiotipos descritos en Brasil, India, Antillas francesas y Colombia [83,97,99,101-105,153,154].

Geranial (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O, Citral A) es un aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado, altamente reactivo; es un líquido, incoloro o ligeramente amarillo con olor a limón. No se ha reportado su toxicidad; el geranial se usa en la industria de fragancias y

condimentos, y para la síntesis de otros terpenoides. En la naturaleza, se encuentra casi siempre en los AE, junto con su isómero neral (Citral B), principalmente, en los AE de limonaria (85%) y *Litsea cubeba* (75%). La mezcla de neral y geranial se conoce como citral. En la **Figura 82** se presenta la estructura química del geranial [10,148].



**Figura 82.** Geranial y sus propiedades físicas.

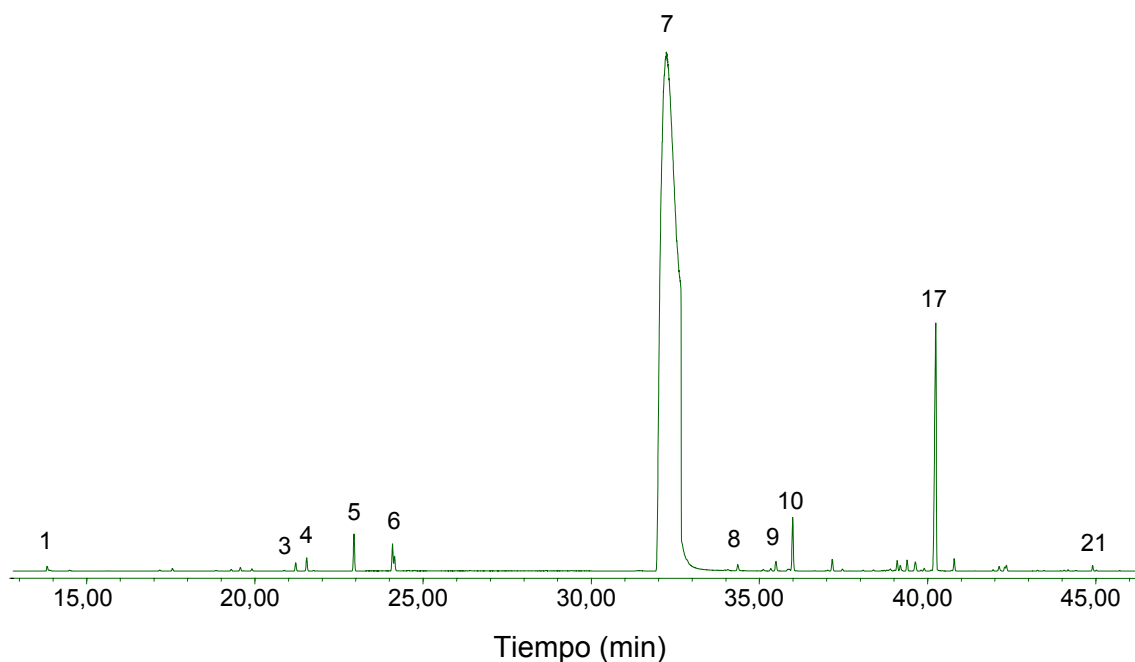


**Figura 83.** Rutas de fragmentación del geranial (MS, EI, 70 eV).

Las rutas de fragmentación del geranial se ilustran en la **Figura 83**. En el MS del geranial, el ion molecular,  $M^{+}$ ,  $m/z$  152 (11%) presenta una intensidad relativamente media. El ion, pico de base, es originado por una ruptura alílica  $\alpha$  (**Figura 83**). Este ion, posteriormente, elimina una molécula de etileno generando la formación del ion alílico en  $m/z$  41 (52%). También, se observa la formación de otros fragmentos a partir del ion molecular, e.g.  $m/z$  109, formado por la eliminación del radical propilo, el ion  $m/z$  84 formado por la eliminación de butenal, y el ion en  $m/z$  94, producto de la disociación del ion  $M^{+}$  en  $m/z$  152, acompañada de la pérdida sucesiva de  $C_3H_7^{\bullet}$  y  $CH_3^{\bullet}$  [9,150,151].

#### 4.2.5. *Piper auritum*

En el AE de *Piper auritum* obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 23 compuestos en cantidades  $>0,1\%$ ; de ellos, se identificaron positivamente, usando  $I_K$  (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 20 compuestos (90%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración,  $Thshd = 16$  y área de rechazo del pico en la base = 0,1).



**Figura 84.** Perfil cromatográfico típico del AE de *Piper auritum*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

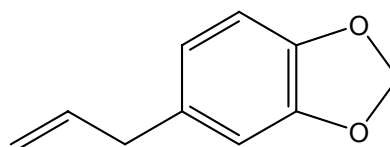
En la **Figura 84**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Piper auritum*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 39**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Piper auritum*.

**Tabla 39.** Composición química del AE de *Piper auritum*, aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>K</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	<i>trans</i> -2-Hexenal	845	1220	0,1
2	β-Pineno	982	1108	0,1
3	α-Terpineno	1021	1180	0,1
4	<i>p</i> -Cimeno	1033	1272	0,2
5	γ-Terpineno	1062	1248	0,5
6	α-Terpinoleno	1091	1286	0,6
	2-Nonanona	1091	1393	
7	Safrol	1303	1890	91,3
8	Eugenol	1358	2180	0,1
9	α-Copaeno	1388	1498	0,2
10	Metil eugenol	1401	2020	0,8
11	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1435	1605	0,2
12	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> , N.I.	1492	2042	0,2
13	Germacreno D	1495	1721	0,1
14	Pentadecano	1501	1501	0,2
15	α-Muuroleno	1509	1736	0,2
16	Acetato de eugenilo	1518	2269	0,0
17	Miristicina	1530	2281	4,8
18	Elemicina	1548	2237	0,2
19	Espatuleno	1593	2142	0,1
20	Metoxieugenol*	1600	----	0,1
	Óxido de cariofileno	1600	2006	
21	Acetato de 2,6-dimetoxi-4-( <i>trans</i> -1-propenil)fenilo*	1697	----	0,1
<b>Familia de compuestos</b>		<b>Cantidad relativa (%)</b>		
Hidrocarburos monoterpénicos		1,4		
Monoterpenos oxigenados		0,0		
Hidrocarburos sesquiterpénicos		0,8		
Sesquiterpenos oxigenados		0,2		
Fenilpropanoides		97,4		
Otros compuestos oxigenados		0,2		
a	Número de pico en la <b>Figura 84</b>	N.I. No identificado		
b	Índices de Kovàts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente		

Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a safrol (91,3%) y miristicina (4,8%). El AE de *Piper auritum* puede clasificarse como de tipo fenilpropanoide (97,4%), según la **Tabla 39**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes. La composición del AE de *Piper auritum* concuerda con la reportada para aceites aislados de *Piper auritum* cultivado en Panamá, Colombia y Costa Rica [2,9,126,128,129].

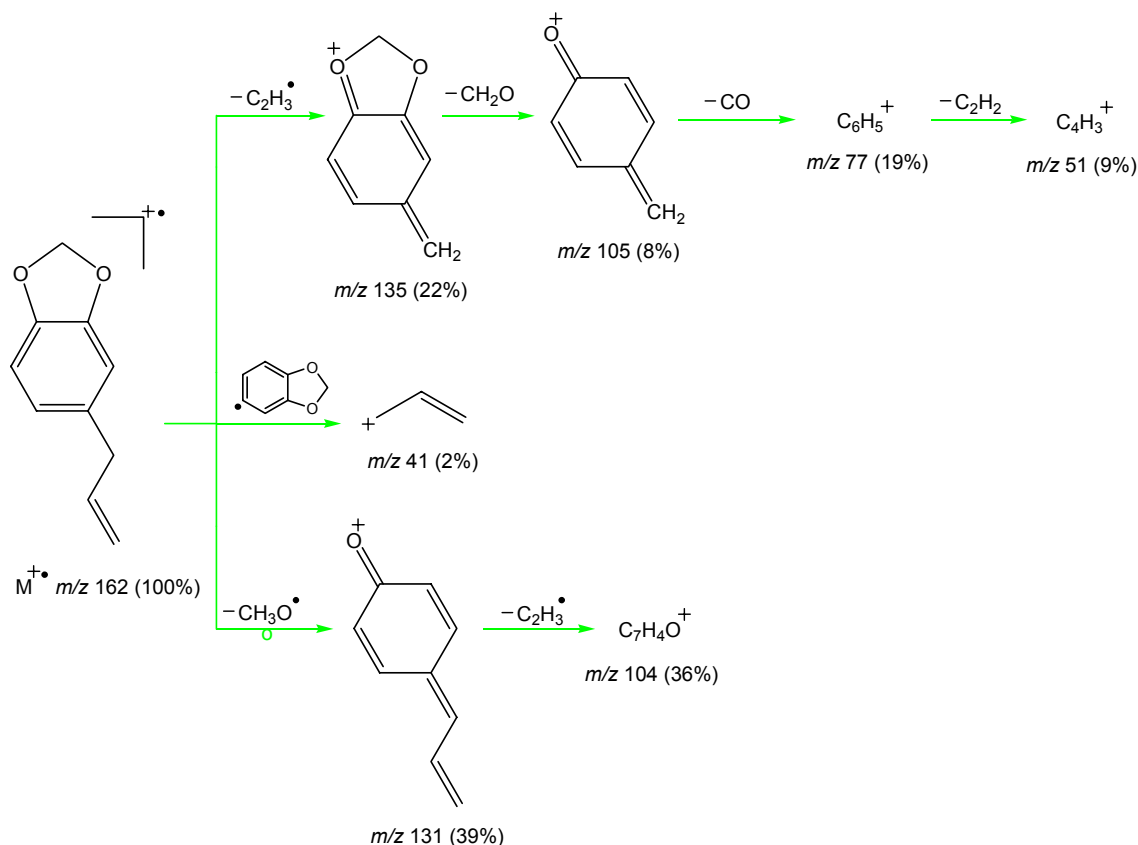
P.M.	162,18 g/mol
p.eb.	233-236 °C
$\alpha^{20}$	1,092-1,101 g/mL
$n_D^{20}$	1,5360-1,5385



**Figura 85.** Safrol y sus propiedades físicas.

Safrol ( $C_{10}H_{10}O_2$ ) es un éter fenólico (**Figura 85**), se encuentra como componente minoritario en muchos AE y es el componente principal de los AE de sasafrás de América, Brasil, y de anís estrellado. Es un líquido incoloro o ligeramente amarillo, su olor y sabor se asemejan a los de sasafrás. Es insoluble en agua, soluble en alcohol y éter. Se usa como saborizante de ciertas bebidas, chicles, productos farmacéuticos, preparaciones orales, etc., pero su uso principal es como materia prima para la preparación de isosafrol y la fabricación de heliotropina. Safrol describió propiedades genotóxicas en experimentos con ratas, hepatotóxicas y carcinogénicas en roedores [10,149,152].

El MS del safrol se presenta en el **Anexo 1**. El ion molecular en el MS (EI, 70 eV) del safrol es un pico de base; demuestra una alta estabilidad, típica de compuestos aromáticos. La fragmentación del safrol es característica para los éteres aromáticos, así como se observa en la **Figura 86**. La presencia del radical alilo se manifiesta a través del fragmento  $C_3H_5^+$  en  $m/z$  41 (2%); y la de los átomos de oxígeno, por medio de fragmentos,  $(M-C_2H_3-CH_2O)^+$  en  $m/z$  105 (8%) y  $(M-C_2H_3-CH_2O-CO)^+$  en  $m/z$  77 (19%); así como en  $m/z$  131 (39%), correspondiente al fragmento  $(M-CH_3O)^+$  [150,151].

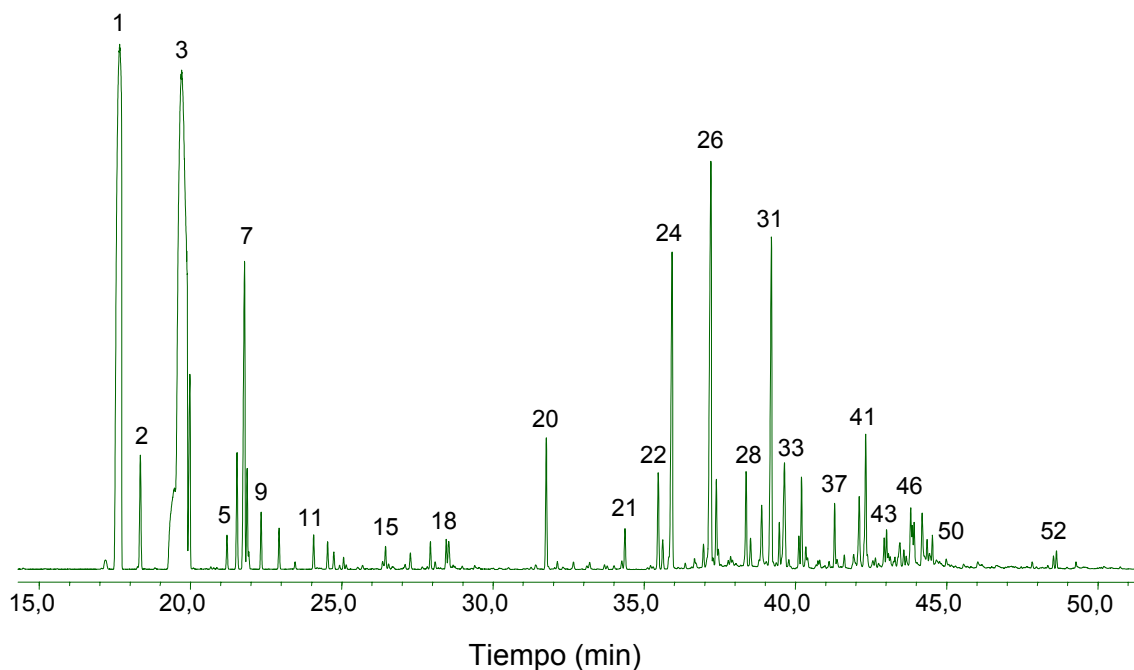


**Figura 86.** Rutas de fragmentación del safrol (MS, EI, 70 eV).

#### 4.2.6. *Piper bredemeyeri*

En el AE de *Piper bredemeyeri* obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 58 compuestos en cantidades >0,1%; de ellos, se identificaron positivamente, usando  $I_K$  (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 49 compuestos (84%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración,  $Thshd = 18$  y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 87**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Piper bredemeyeri*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 40**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE *Piper bredemeyeri*.

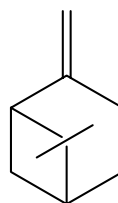


**Figura 87.** Perfil cromatográfico típico del AE de *Piper bredemeyeri*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a  $\beta$ -pineno (33,8%),  $\alpha$ -pineno (20,3%) y *trans*- $\beta$ -cariofileno (6,3%). El AE de *Piper bredemeyeri* puede clasificarse como de tipo monoterpenoide (67,1%), según la **Tabla 40**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

$\beta$ -Pineno ( $C_{10}H_{16}$ ) es uno de los monoterpenos bicíclicos (**Figura 88**) más importante en la industria de perfumes; se usa también en síntesis orgánica fina, especialmente, para la producción de mircenol. Se encuentra en muchos AE, principalmente, en el aceite de trementina, es insoluble en agua y no se reporta su toxicidad [9,10,148,149].

P.M.	136,24 g/mol
p.eb.	165 °C
$d^{20}$	0,867 g/mL
$n_D^{20}$	1,477-1,481



**Figura 88.**  $\beta$ -Pineno y sus propiedades físicas.

**Tabla 40.** Composición química del AE de *Piper bredemeyeri*, aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>K</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	α-Pineno	938	1022	20,3
2	Canfeno	953	1065	1,3
3	Sabineno	986	1122	1,5
	β-Pineno	986	1109	32,3
4	β-Mirceno	992	1164	2,2
5	α-Terpineno	1021	1181	0,3
6	p-Cimeno	1029	1272	1,1
7	Limoneno	1035	1201	4,1
8	β-Felandreno	1038	1210	1,0
	Eucaliptol (1,8-Cineol)	1038	1215	
9	trans-β-Ocimeno	1048	1253	0,5
10	γ-Terpineno	1062	1248	0,4
11	α-Terpinoleno	1089	1286	0,3
12	Linalool	1100	1553	0,3
13	Óxido de α-pineno*	1105	----	0,2
14	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> , N.I.	1114	----	0,1
15	trans-Pinocarveol	1149	1666	0,2
16	Pinocarvona	1170	1579	0,2
17	Terpinen-4-ol	1287	1611	0,3
18	α-Terpineol	1200	1705	0,3
19	Mirtenol	1203	1804	0,3
	Mirtenal	1203	1639	
20	Acetato de bornilo	1291	1586	1,4
21	Acetato de nerilo	1358	1732	0,4
22	α-Copaeno	1387	1499	1,0
23	δ-Elemeno	1391	1642	0,3
24	β-Bourboneno	1399	1528	0,3
	β-Elemeno	1399	1597	4,1
25	α-Santaleno	1429	1579	0,2
26	trans-β-Cariofileno	1437	1608	6,3
27	trans-α-Bergamoteno	1442	1591	1,0
28	α-Humuleno	1471	1682	1,0
29	allo-Aromadendreno	1475	1657	0,3
30	γ-Muuroleno	1486	1686	0,8
31	Germacreno D	1496	1721	4,2
32	β-Selineno	1504	1731	0,4
33	Biciclogermacreno	1509	1748	1,6
34	γ-Cadineno	1526	1770	0,3
35	δ-Amorfenol	1528	1767	0,9
36	trans-Calameneno	1533	1834	0,4

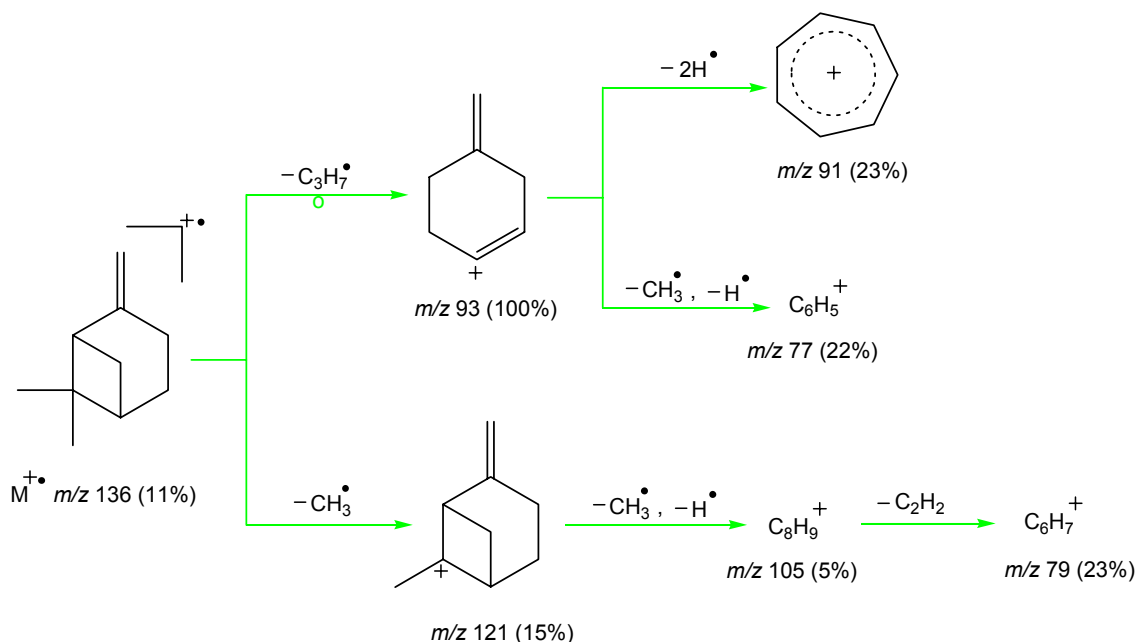
Continuación **Tabla 40.**

37	<i>trans</i> -Nerolidol	1565	2045	0,7
38	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> , N.I.	1576	----	0,1
39	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1589	----	0,2
40	Espatulanol	1593	2143	0,9
41	Óxido de cariofileno	1600	2006	1,7
42	Viridiflorol	1623	2096	0,3
43	<i>Dill</i> apiol	1630	2381	0,6
	1,10- <i>di-epi</i> -Cubenol	1630	2077	
44	1- <i>epi</i> -Cubenol	1643	2086	0,4
45	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1647	----	0,2
46	<i>r</i> -Cadinol*	1658	----	1,0
	<i>r</i> -Muurolol	1658	2205	
47	$\alpha$ -Muurolol	1660	2217	0,5
48	$\alpha$ -Cadinol	1670	2252	0,7
49	Eudes-11-en-4-ol	1676	1731	0,2
50	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> , N.I.	1683	----	0,3
51	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> , N.I.	1853	----	0,1
52	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> , N.I.	1856	----	0,2
Familia de compuestos		Cantidad relativa (%)		
Hidrocarburos monoterpénicos		64,4		
Monoterpenos oxigenados		2,7		
Hidrocarburos sesquiterpénicos		23,3		
Sesquiterpenos oxigenados		6,7		
Fenilpropanoides		0,6		
Otros compuestos oxigenados		2,3		
a	Número de pico en la <b>Figura 87</b>	N.I. No identificado		
b	Índices de Kovàts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente		

La composición química del AE de *Piper bredemeyeri* se reporta por primera vez, ya que no existen reportes sobre este aceite en las bases de datos *Elsevier (Scopus)* y *Web of Science*, consultadas para el período de observación entre 1970-2007 y 1975-2007, respectivamente.

En el **Anexo 1** se presenta el MS del  $\beta$ -pineno. Las rutas de fragmentación del  $\beta$ -pineno se presentan en la **Figura 89**. Se observa, que el ion molecular, M<sup>+</sup>, *m/z* 136 (11%), posee intensidad media y pierde C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>•</sup>, para formar el ion, pico de base, en *m/z* 93. El MS de este compuesto presenta señales características

de los monoterpenos en  $m/z$  121 ( $M-CH_3$ )<sup>+</sup>, 105 ( $M-2CH_3-H$ )<sup>+</sup>, 91 ( $M-C_3H_7-2H$ )<sup>+</sup>, 79 ( $M-C_3H_7-CH_3-H$ )<sup>+</sup>, y 77 ( $M-2CH_3-H-C_2H_2$ )<sup>+</sup> [9,150,151].



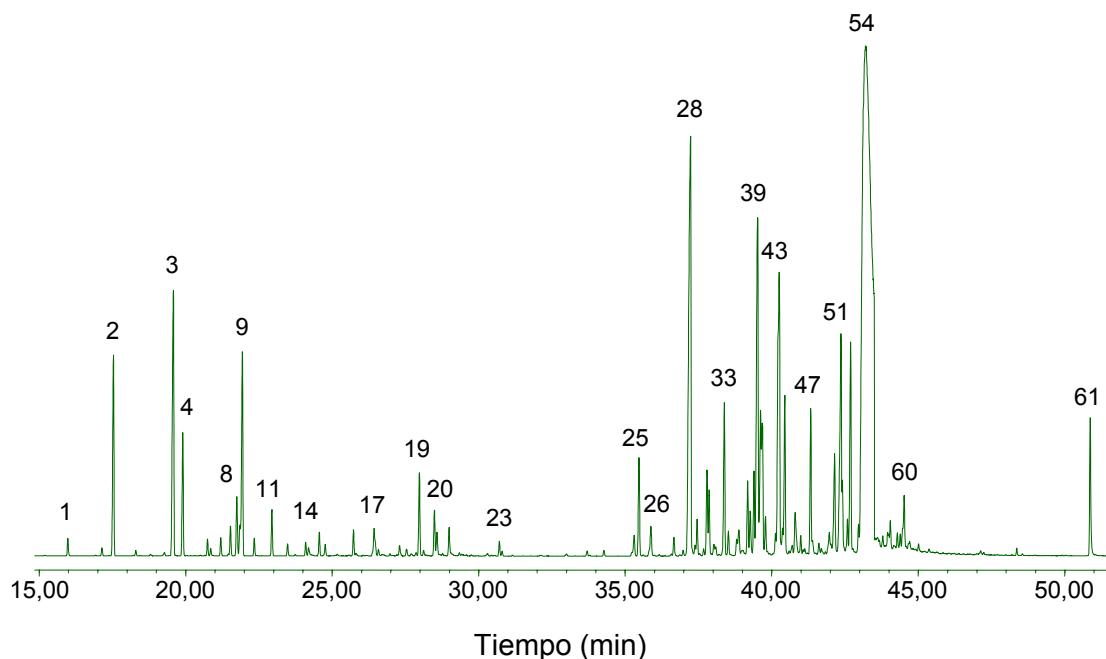
**Figura 89.** Rutas de fragmentación del  $\beta$ -pineno (MS, EI, 70 eV).

#### 4.2.7. *Piper eriopodon*

En el AE de *Piper eriopodon* obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 79 compuestos en cantidades  $>0,1\%$ ; de ellos, se identificaron positivamente, usando  $I_K$  (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 71 compuestos (90%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración,  $Thshd = 18$  y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 90**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Piper eriopodon*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 41**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Piper eriopodon*.

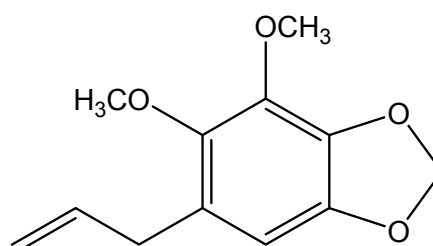
Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a *dill* apiol (38,8%) y *trans*- $\beta$ -cariofileno (8,1%) y  $\beta$ -selineno (5,0%). El AE de *Piper eriopodon* puede clasificarse como de tipo fenilpropanoide (45,3%), según la **Tabla 41**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.



**Figura 90.** Perfil cromatográfico típico del AE de *Piper eriopodon*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

*Dill* apiol ( $C_{12}H_{14}O_4$ ) es un éter fenólico (**Figura 91**) que se encuentra en el AE de *Crithmum maritimum*, también se encuentra en pequeñas cantidades en otros AE. Es un líquido viscoso, casi inodoro, de genotoxicidad muy baja y no es carcinogénico. Es sensible a la descomposición durante su almacenamiento [10,152].

P.M.	222,23 g/mol
p.eb.	232 °C
$d^{15}$	1,1598 g/mL
$n_D^{25}$	1,52778



**Figura 91.** *Dill* apiol y sus propiedades físicas.

**Tabla 41.** Composición química del AE de *Piper eripodon*, aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>k</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	Heptanal	896	----	0,2
2	α-Pineno	934	1022	2,1
3	β-Pineno	982	1108	3,3
4	β-Mirceno	990	1165	1,2
5	α-Felandreno	1010	1165	0,1
6	α-Terpineno	1021	1181	0,2
7	<i>p</i> -Cimeno	1029	1274	0,3
8	Limoneno	1034	1200	0,6
9	β-Felandreno	1038	1210	2,5
	Eucaliptol (1,8-Cineol)	1038	1213	
10	<i>trans</i> -β-Ocimeno	1048	1253	0,2
11	γ-Terpineno	1062	1250	0,4
12	<i>trans</i> -4-Tuyanol	1075	1559	0,1
13	α-Terpinoleno	1090	1286	0,1
14	Linalool	1101	1553	0,2
15	<i>cis</i> -4-Tuyanol	1106	1469	0,1
16	<i>cis-p</i> -Menth-2-en-1-ol	1131	1573	0,3
17	Nopinona	1149	1589	0,4
	<i>trans-p</i> -Menth-2-en-1-ol	1149	1638	
	<i>trans</i> -Pinocarveol	1149	1666	
18	Pinocarvona	1171	1579	0,1
19	Terpinen-4-ol	1188	1611	0,8
20	α-Terpineol	1202	1705	0,5
21	Mirtenol	1204	1804	0,3
	Mirtenal	1204	1639	
	<i>cis</i> -Piperitol*	1204	----	
22	<i>trans</i> -Piperitol	1215	1756	0,3
23	Piperitona	1262	1743	0,1
24	α-Ylangeno	1383	1488	0,3
	Ciclosativeno*	1383	----	
25	α-Copaeno	1387	1499	1,0
26	β-Bourboneno	1398	1528	0,4
	β-Elemeno	1398	1597	
27	α-Gurjuneno	1420	1536	0,2
28	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1437	1608	8,1
29	<i>trans</i> -α- Bergamoteno	1444	1591	0,5
	β-Copaeno	1444	1691	
	β-Gurgujeno	1444	1611	
30	Aromadendreno	1454	1710	0,9
31	<i>trans</i> -β-Farneseno	1456	1669	0,6
32	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> , N.I.	1461	----	0,2

Continuación **Tabla 41.**

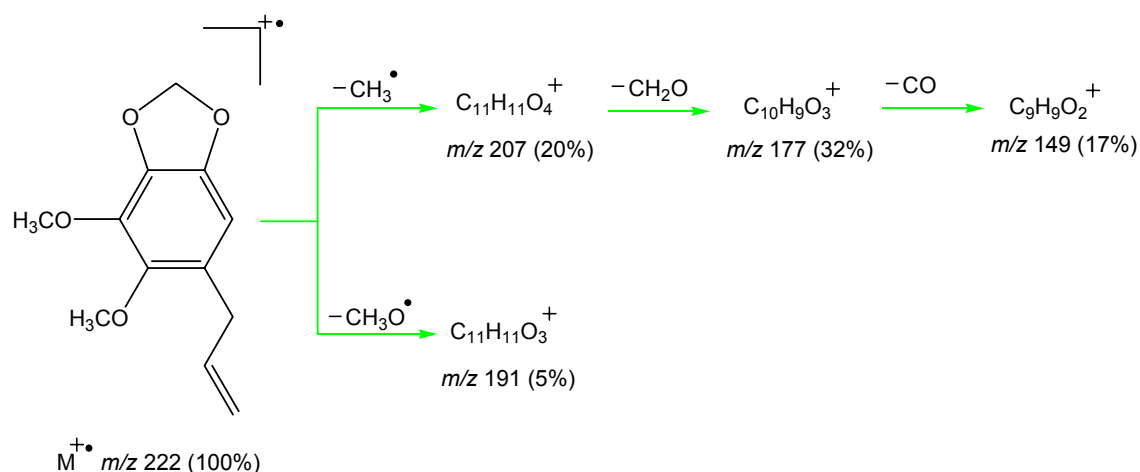
33	$\alpha$ -Humuleno	1471	1682	1,6
34	<i>allo</i> -Aromadendreno	1475	1657	0,3
35	<i>trans</i> -Cadina-1(6),4-dieno	1486	1615	0,5
	$\gamma$ -Muuroleno	1486	1686	
36	Germacreno D	1475	1719	0,8
37	Selina-4,11-dieno*	1497	----	0,5
38	Pentadecano	1501	1501	0,8
39	$\beta$ -Selineno	1506	1731	5,0
40	<i>epi</i> -Cubebol	1509	2086	1,7
41	Biclogermacreno	1511	1748	1,6
	$\alpha$ -Selineno	1511	1736	
42	$\delta$ -Amorfenol	1515	1767	0,5
43	$\gamma$ -Cadineno	1528	1770	0,2
	Miristicina	1528	2281	1,1
	10- <i>epi</i> -Cubebol	1528	1955	3,9
44	<i>trans</i> -Calameneno	1537	1834	1,9
	7- <i>epi</i> - $\alpha$ -Selineno	1537	1776	
45	Elemicina	1548	2237	0,6
46	$\alpha$ -Calacoreno	1555	1916	0,2
47	<i>trans</i> -Nerolidol	1566	2045	1,6
48	$\beta$ -Calacoreno	1576	1928	0,1
49	Ledol	1588	1946	0,4
50	Espatulenol	1594	2142	1,2
51	Óxido de cariofileno	1601	2006	3,8
	Globulol	1601	2051	
52	Guaiol	1609	2105	0,4
53	Viridiflorol	1614	2096	2,4
54	<i>Dill</i> apiol	1633	2381	38,8
55	1- <i>epi</i> -Cubenol	1648	2086	0,4
56	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1655	----	0,2
57	<i>epi</i> - $\alpha$ -Muurolol	1665	2205	0,6
	$\alpha$ -Muurolol	1665	2217	
58	$\alpha$ -Cadinol	1674	2252	0,2
	<i>cis</i> -Calamenen-10-ol	1674	2354	
59	$\alpha$ -Eudesmol	1677	2249	0,1
60	Apiol	1682	2277	0,7
	Selin-11-en-4- $\alpha$ -ol*	1682	----	
61	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1961	----	1,4
<b>Familia de compuestos</b>		<b>Cantidad relativa (%)</b>		
Hidrocarburos monoterpénicos		8,5		
Monoterpenos oxigenados		5,7		
Hidrocarburos sesquiterpénicos		25,9		
Sesquiterpenos oxigenados		12,9		

Continuación **Tabla 41.**

Fenilpropanoides		45,3
Otros compuestos oxigenados		1,5
a	Número de pico en la <b>Figura 90</b>	N.I. No identificado
b	Índices de Kovàts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente

La composición química del AE de *Piper eriopodon* se reporta por primera vez, ya que no existen reportes sobre este aceite en las bases de datos *Elsevier (Scopus)* y *Web of Science*, consultadas para el período de observación entre 1970-2007 y 1975-2007, respectivamente.

En el **Anexo 1** se presenta el MS del *dill* apiol y en la **Figura 92** se observan las rutas de fragmentación de su ion molecular. Al igual que el safrol, el *dill* apiol posee oxígenos enlazados directamente al anillo aromático, lo que le otorga altas estabilidad e intensidad al ion molecular ( $M^{+\bullet}$   $m/z$  222), que es pico de base en el espectro [150,151].



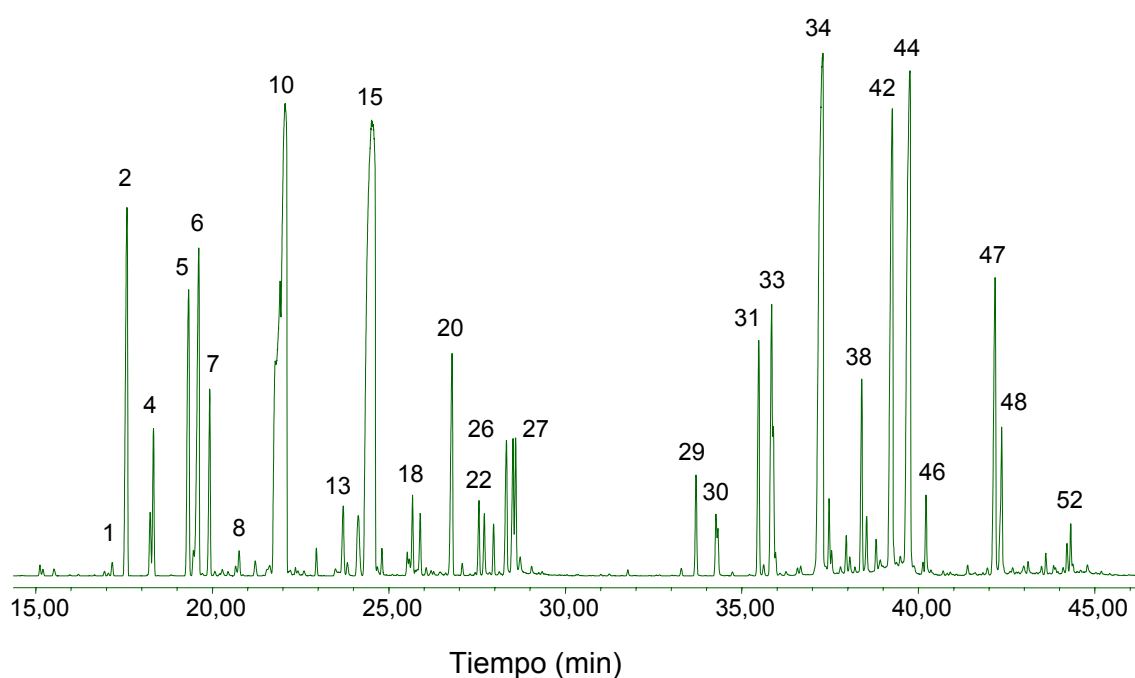
**Figura 92.** Rutas de fragmentación del *dill* apiol (MS, EI, 70 eV).

#### 4.2.8. *Hyptis mutabilis*

En el AE de *Hyptis mutabilis* obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 58 compuestos en cantidades  $>0,1\%$ ; de ellos, se identificaron positivamente,

usando  $I_K$  (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 46 compuestos (79%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración,  $Thshd = 18$  y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 93**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Hyptis mutabilis*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 42**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Hyptis mutabilis*.



**Figura 93.** Perfil cromatográfico típico del AE de *Hyptis mutabilis*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a fenchona (17,1%), eucaliptol (12,6%), *trans*- $\beta$ -cariofileno (10,9%) y biciclogermacreno (8,7%). El AE de *Hyptis mutabilis* puede clasificarse como de tipo monoterpenoide (57,4%), según la **Tabla 42**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

**Tabla 42.** Composición química del AE de *Hyptis mutabilis*, aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>K</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	α-Tuyeno	925	1026	0,1
2	α-Pineno	935	1022	3,8
3	α-Fencheno	950	1057	0,5
4	Canfeno	952	1065	1,0
5	Sabineno	976	1122	2,8
6	β-Pineno	983	1109	3,7
7	β-Mirceno	990	1164	1,4
8	α-Felandreno	1010	1164	0,2
9	α-Terpineno	1021	1181	0,1
10	Limoneno	1039	1201	4,8
	<b>Eucaliptol (1,8-Cineol)</b>	<b>1039</b>	<b>1215</b>	<b>12,6</b>
11	γ-Terpineno	1062	1248	0,2
12	<i>trans</i> -4-Tuyanol	1080	1560	0,6
13	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1083	1393	0,1
14	α-Terpinoleno	1091	1286	0,8
15	<b>Fenchona</b>	<b>1102</b>	<b>1406</b>	<b>17,1</b>
16	<i>cis</i> -4-Tuyanol	1107	1469	0,2
17	Isofenchona*	1127	----	0,3
	α-Fenchol	1127	1574	
18	2-Hexilfurano	1129	1435	0,6
19	<i>trans</i> -Pinan-2-ol	1135	1560	0,5
20	Alcanfor	1158	1528	2,1
21	Hidrato de canfeno	1165	1356	0,1
22	δ-Terpineol	1178	1680	0,5
23	Borneol	1181	1712	0,4
24	Terpinen-4-ol	1188	1611	0,3
25	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1198	----	1,1
26	α-Terpineol	1202	1705	1,1
27	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1204	----	1,0
28	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1208	----	0,2
29	δ-Elemeno	1342	1469	0,7
30	α-Cubebeno	1358	1460	0,8
	Eugenol	1358	2180	
31	α-Copaeno	1388	1499	1,9
32	γ-Elemeno	1391	1642	0,1
33	β-Bourboneno	1398	1528	3,4
	β-Elemeno	1398	1597	
34	<b><i>trans</i>-β-Cariofileno</b>	<b>1439</b>	<b>1608</b>	<b>10,9</b>
35	β-Copaeno	1447	1600	0,7
	α-Guaieno	1447	1602	
36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> , N.I.	1459	----	0,2

Continuación **Tabla 42.**

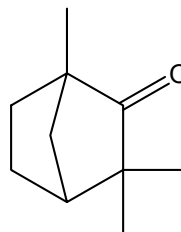
37	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> , N.I.	1462	----	0,1
38	α-Humuleno	1472	1680	1,4
39	<i>allo</i> -Aromadendreno	1476	1657	0,4
40	γ-Muuroleno	1484	1686	0,2
41	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> , N.I.	1487	1651	0,2
42	Germacreno D	1497	1720	6,2
43	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> , N.I.	1504	----	0,2
44	Biciclogermacreno	1514	1747	8,7
45	γ-Cadineno	1526	1770	0,1
46	δ-Amorfeno	1529	1767	0,5
	Cubebol*	1529	----	
47	Espatuleno	1595	2143	3,0
48	Óxido de cariofileno	1599	2006	1,4
49	Epóxido de humuleno	1629	2066	0,1
50	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1648	2245	0,1
51	α-Cadinol	1671	2252	0,2
52	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1675	2343	0,4
Familia de compuestos		Cantidad relativa (%)		
Hidrocarburos monoterpénicos		14,5		
Monoterpenos oxigenados		42,9		
Hidrocarburos sesquiterpénicos		36,0		
Sesquiterpenos oxigenados		5,2		
Fenilpropanoides		0,8		
Otros compuestos oxigenados		0,6		
a	Número de pico en la <b>Figura 93</b>	N.I. No identificado.		
b	Índices de Kovàts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente		

El AE de *Hyptis mutabilis* colombiano es un nuevo quimiotipo, no descrito previamente en la literatura; se destaca por el alto contenido de fenchona; mientras que los quimiotipos de esta planta, cultivados en Brasil, poseen timol, Δ<sup>3</sup>-careno, *trans*-β-cariofileno, α-felandreno, p-cimeno o (E)-cinamato de metilo como compuestos mayoritarios [112,114-117]. En el AE de *Hyptis mutabilis* de Argentina predomina la mircenona. [113].

Fenchona (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O) es una cetona monoterpénica, se encuentra presente en los AE de hinojo y *Lavandula stoechas*. Es un líquido incoloro, ligeramente

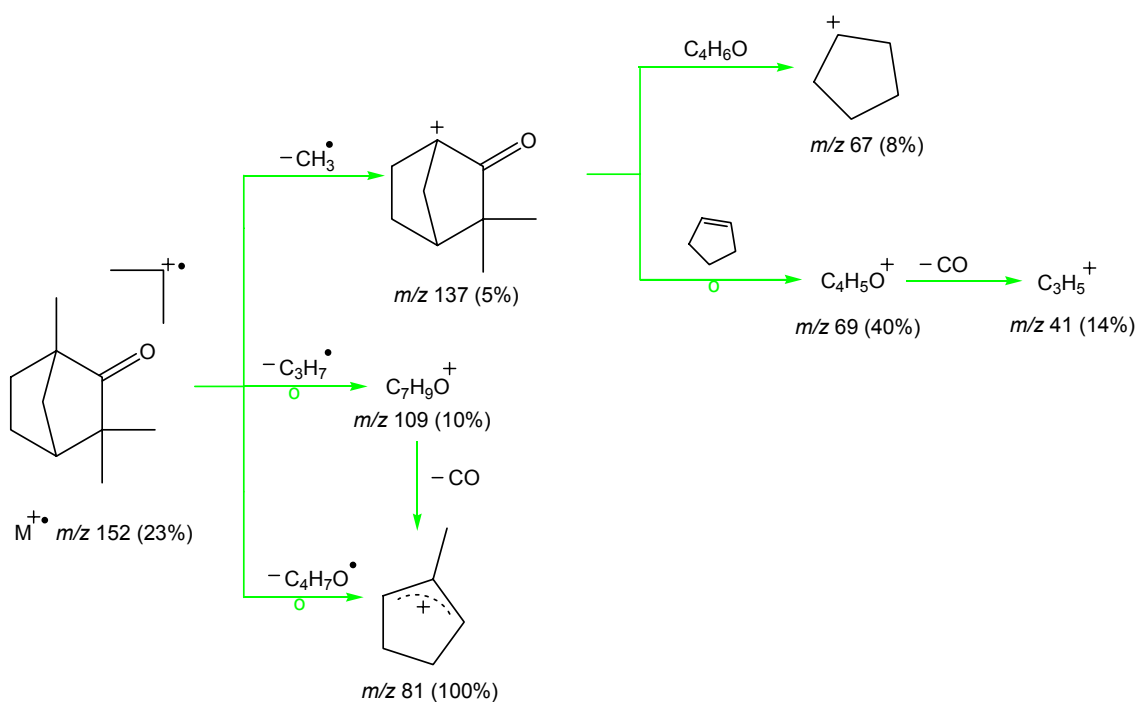
viscoso, con olor a alcanfor, no es tóxico, ni irritante. Se usa para preparar aceites artificiales de hinojo y aromas para productos domésticos [10,148].

P.M. 152,24 g/mol  
 p.eb. 193 °C  
 $d^{20}$  0,9484 g/mL  
 $n_D^{20}$  1,4628



**Figura 94.** Fenchona y sus propiedades físicas.

El MS de la fenchona se presenta en el **Anexo 1**. Las rutas de fragmentación de la fenchona se ilustran en la **Figura 95**. El ion, pico de base ( $m/z$  81), se origina a partir del ion en  $m/z$  109 ( $C_7H_9O^+$ ), por la eliminación de CO, o se forma directamente por la pérdida del radical  $C_4H_7O^\bullet$  del ion  $M^+$ . También se observa la presencia de los fragmentos característicos en  $m/z$  41 ( $M-CH_3-C_5H_8-CO^+$ ),  $m/z$  69 ( $M-CH_3-C_5H_8^+$ ),  $m/z$  109 ( $M-C_3H_7^+$ ) y  $m/z$  137 ( $M-CH_3^+$ ) [150,151].

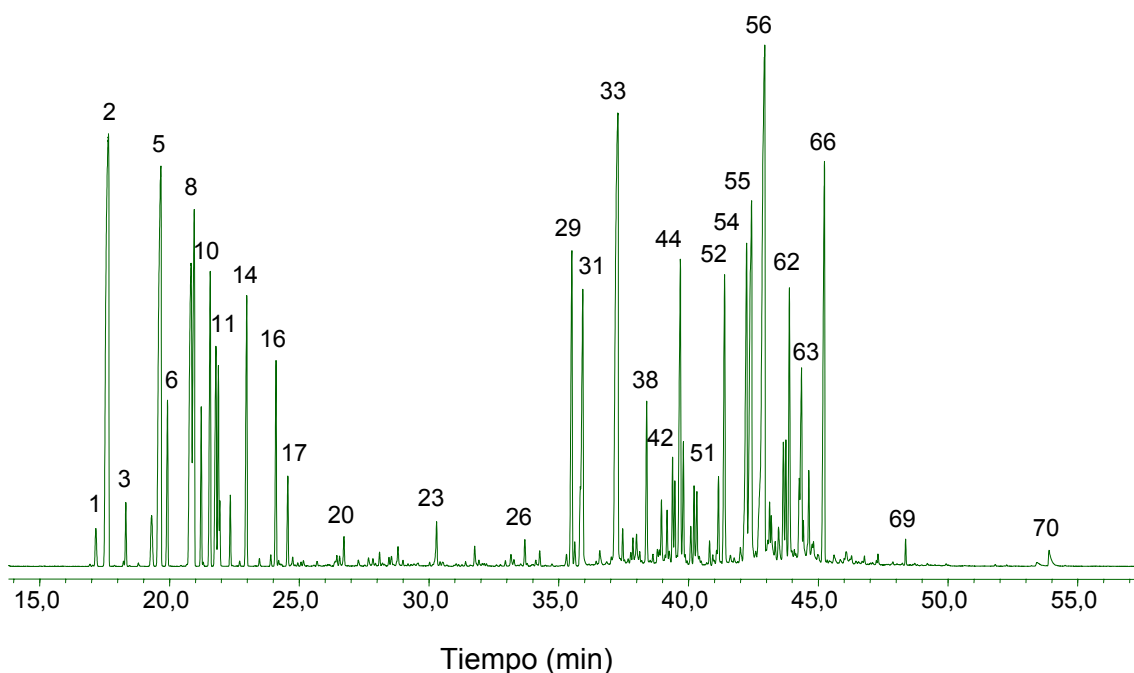


**Figura 95.** Rutas de fragmentación de la fenchona (MS, EI, 70 eV).

#### 4.2.9. *Conyza bonariensis*

En el AE de *Conyza bonariensis* obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 93 compuestos en cantidades >0,1%; de ellos, se identificaron positivamente, usando I<sub>K</sub> (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 67 compuestos (72%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, *Thshd* = 18 y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 96**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Conyza bonariensis*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 43**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Conyza bonariensis*.



**Figura 96.** Perfil cromatográfico típico del AE de *Conyza bonariensis*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a *trans*- $\beta$ -cariofileno (8,1%),  $\alpha$ -pineno (8,0%), 1,3,5-trimetoxi-2-*cis*-propenilbenceno (7,9%) y  $\beta$ -pineno (6,6%). El AE de *Conyza bonariensis* puede clasificarse como de tipo sesquiterpenoide (40,8%), según la **Tabla 43**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

**Tabla 43.** Composición química del AE de *Conyza bonariensis*, aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>k</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	α-Tuyeno	927	1026	0,3
2	α-Pineno	939	1022	8,0
3	Canfeno	955	1065	0,4
4	Sabineno	978	1122	0,6
5	β-Pineno	987	1109	6,6
6	β-Mirceno	993	1164	1,2
7	α-Felandreno	1014	1164	4,4
8	Ciclofencheno*	1017	----	3,6
9	α-Terpineno	1024	1181	1,0
10	p-Cimeno	1032	1275	2,4
11	Limoneno	1037	1200	2,0
12	β-Felandreno	1039	1211	1,6
	Eucaliptol (1,8-Cineol)	1039	1214	
13	trans-β-Ocimeno	1050	1254	0,4
14	γ-Terpineno	1065	1248	2,2
15	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> , N.I.	1087	1290	0,1
16	α-Terpinoleno	1092	1286	1,4
17	Linalool	1103	1553	0,6
18	Nopinona	1151	1589	0,1
	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1151	----	
	trans-Pinocarveol	1151	1166	
19	trans-Verbenol	1156	1689	0,1
20	Alcanfor	1160	1518	0,2
21	p-Cimen-8-ol	1196	1846	0,1
22	cis-Pinocarveol*	1215	----	0,1
23	Acetato de linalilo*	1251	----	0,4
	Carvona	1251	1746	
24	Acetato de bornilo	1295	1589	0,2
	2-Undecanona	1295	1603	
25	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1329	----	0,1
26	Bicicloelemeno	1346	1482	0,2
	δ-Elemeno	1346	1642	
27	α-Cubebeno	1358	1460	0,1
28	Ciclosativeno	1385	1553	0,1
29	α-Copaeno	1390	1499	2,9
30	δ-Elemeno	1393	1642	0,2
31	β-Bourboneno	1399	1528	3,3
	β-Elemeno	1399	1597	

Continuación **Tabla 43.**

32	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> , N.I. Cipereno*	1422 1422	1535 ----	0,1 
33	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1441	1608	8,1
34	β-Copaeno	1447	1691	0,3
35	Aristoleno* Aromadendreno	1456 1456	---- 1710	0,1 
36	<i>trans</i> -β-Farneseno	1458	1669	0,1
37	Metil eugenil éter*	1462	----	0,2
38	α-Humuleno	1474	1680	1,2
39	γ-Gurjuneno	1486	2222	0,1
40	<i>ar</i> -Curcumeno	1490	1780	0,6
41	Germacreno D	1497	1719	0,4
42	α-Zingibereno	1503	1727	0,7
43	β-Selineno	1506	1731	0,6
44	Biciclogermacreno	1513	1748	3,1
45	β-Bisaboleno	1517	1734	0,9
46	cis-Dihidroagarofurano	1527	1734	0,3
47	δ-Amorfeno	1531	1767	0,5
48	β-Sesquifelandreno	1535	1777	0,6
49	Elemicina	1551	2237	0,2
50	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I. α-Calacoreno	1557 1557	---- 1916	0,1 
51	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I. Elemol	1560 1561	---- 2093	0,7 
52	<i>trans</i> -Nerolidol	1570	2045	2,6
53	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub> , N.I. C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub> , N.I.	1592 1592	---- ----	0,2 
54	Isoelemicino Espatuleno	1599 1599	2271 2143	3,7 
55	Óxido de cariofileno	1606	2006	5,3
56	1,3,5-Trimetoxi-2- <i>cis</i> -propenilbenceno <i>cis</i> -Asarona	1625 1625	2367 2350	7,9 2,1
57	<i>Dill</i> apiol Epóxido de humuleno C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1632 1632 1632	2381 2064 ----	1,1 
58	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1640	----	0,2
59	γ-Eudesmol	1645	2188	0,4
60	Hinesol C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub> , N.I.	1652 1652	2208 ----	1,0 
61	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1656	----	0,9
62	Exalatacina (isómero de <i>dill</i> apiol) Agarospírol	1691 1691	2439 2196	2,3 

Continuación **Tabla 43.**

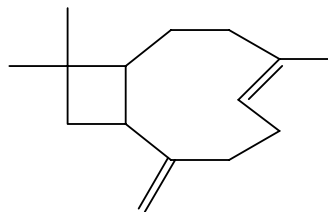
63	Valerianol	1678	2236	2,8
	<i>trans</i> -Asarona	1678	2480	
	$\beta$ -Eudesmol	1678	2254	
	Selin-11-en-4- $\alpha$ -ol	1678	2271	
64	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1689	----	0,8
65	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1696	----	0,4
66	1,3,5-Trimetoxi-2- <i>trans</i> -propenilbenceno	1713	2367	4,0
67	2,4-Dimetoxi-3-metil-propiofenona*	1750	----	0,1
	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1750	----	
68	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1802	----	0,1
	2,4,6-Trimetoxibenzaldehído*	1802	----	
69	Hexahidrofarnesilacetona*	1848	----	0,1
70	Fitol*	2114	----	0,3
Familia de compuestos		Cantidad relativa (%)		
Hidrocarburos monoterpénicos		34,7		
Monoterpenos oxigenados		2,9		
Hidrocarburos sesquiterpénicos		24,3		
Sesquiterpenos oxigenados		16,5		
Fenilpropanoides		20,5		
Otros compuestos oxigenados		1,1		
a	Número de pico en la <b>Figura 96</b>	N.I. No identificado		
b	Índices de Kovàts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente		

El AE de *Conyza bonariensis* colombiano es un nuevo quimiotipo, no descrito previamente en la literatura; se destaca por el alto contenido de *trans*- $\beta$ -cariofileno; mientras que los quimiotipos de esta planta, cultivados en Brasil, poseen *trans*- $\beta$ -farneseno o limoneno como compuestos mayoritarios [122,123]. En Camerún, se reportó como componente mayoritario del AE de las hojas de *Conyza bonariensis* a (E)-dec-2-en-4,6-diinoato de metilo y a *trans*- $\beta$ -farneseno como el metabolito principal del AE de las flores [81]. En los AE de *Conyza bonariensis*, encontrados en Grecia y España predomina el *Lachnophyllum* éster [121,124].

*trans*- $\beta$ -Cariofileno (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>) es un hidrocarburo sesquiterpénico (**Figura 97**), que se encuentra principalmente en los aceites de clavo y pimienta negra. También está presente en los AE de la cáscara de lima, canela, anís, jengibre,

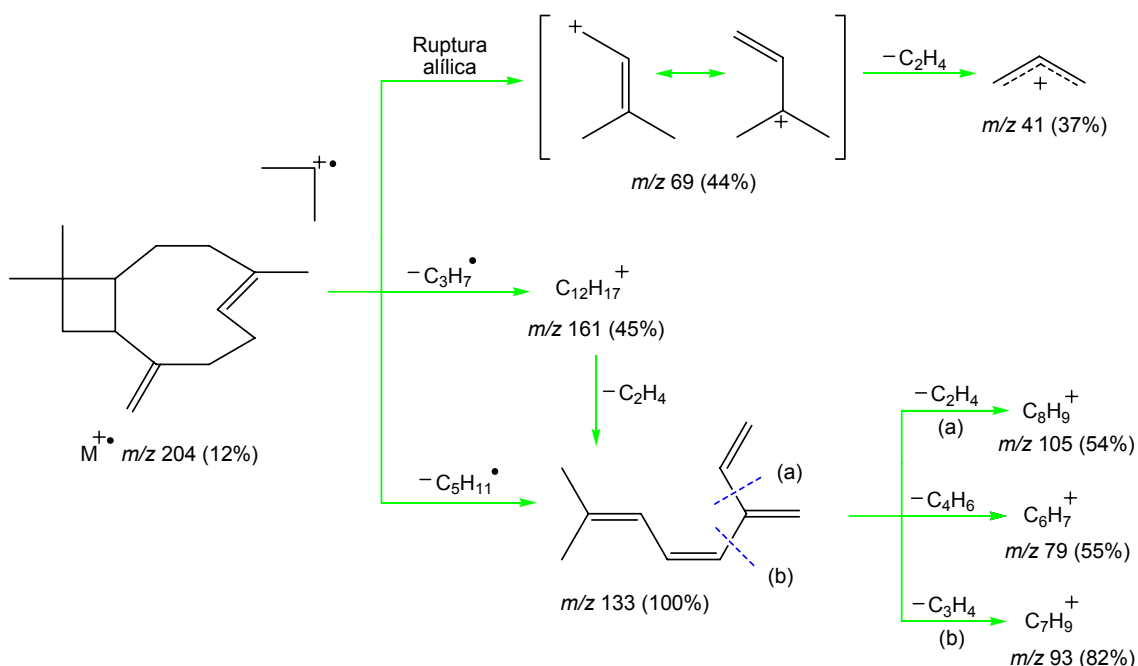
menta, laurel y en las frutas de guayaba, entre otros. Es un líquido incoloro, de olor a madera, no es tóxico, pero es ligeramente irritante [10,149].

P.M.	204,34 g/mol
p.eb.	254-257 °C
$d^{16}$	0,909-0910 g/mL
$n_D^{20}$	1,5027



**Figura 97.** *trans*- $\beta$ -Cariofileno y sus propiedades físicas.

El MS del *trans*- $\beta$ -cariofileno se ilustra en el **Anexo 1**, y se caracteriza por una fragmentación abundante y un ion molecular,  $M^+$  en  $m/z$  204 de intensidad media (12%). En la Figura **Figura 98**, aparece la formación del ion, pico de base, por dos posibles rutas, a saber: a partir del ion molecular, debido a la pérdida del radical  $C_5H_{11}^\bullet$  y a la eliminación de eteno del ion en  $m/z$  161 ( $M-C_3H_7$ ) $^+$ . El ion molecular del *trans*- $\beta$ -cariofileno experimenta una ruptura alílica, que produce los iones en  $m/z$  69 y  $m/z$  41. A partir del ion, pico de base, se originan los fragmentos en  $m/z$  79,  $m/z$  93 y  $m/z$  105, ocasionados por la eliminación de diferentes moléculas neutras [150,151].



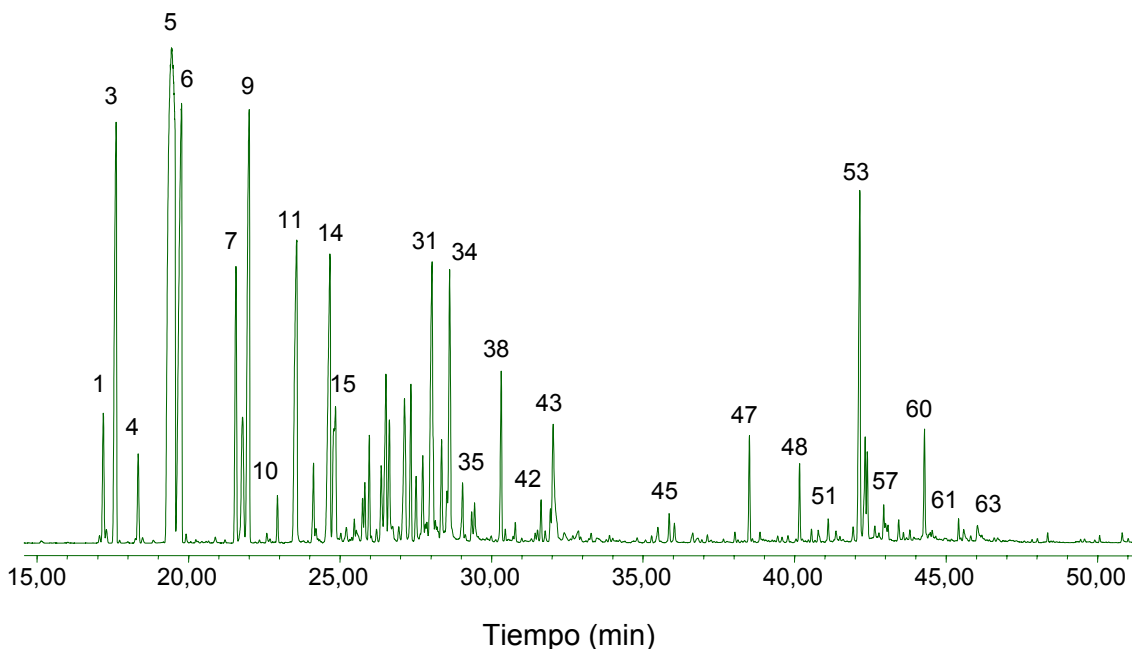
**Figura 98.** Rutas de fragmentación del *trans*- $\beta$ -cariofileno (MS, EI, 70 eV).

#### 4.1.10. *Hedyosmum racemosum*

En el AE de *Hedyosmum racemosum* obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 73 compuestos en cantidades >0,1%; de ellos, se identificaron positivamente, usando I<sub>K</sub> (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 52 compuestos (71%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración, *Thshd* = 18 y área de rechazo del pico en la base = 0,1).

En la **Figura 99**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Hedyosmum racemosum*, obtenidos por MWHD. En la **Tabla 44**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Hedyosmum racemosum*.

Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a sabineno (21,2%), β-pineno (8,5%), eucaliptol (6,3%) y α-pineno (5,7%). El AE de *Hedyosmum racemosum* puede clasificarse como de tipo monoterpenopide (86,5%), según la **Tabla 44**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.



**Figura 99.** Perfil cromatográfico típico del AE *Hedyosmum racemosum*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

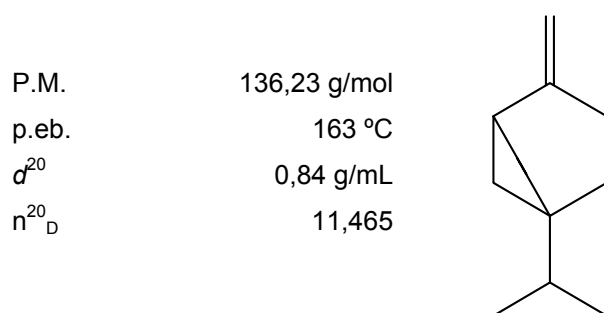
**Tabla 44.** Composición química del AE de *Hedyosmum racemosum*, aislado por MWHD.

No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>k</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	α-Tuyeno	925	1026	1,3
2	1,4-Dimetil-5-isopropil-ciclopenteno	926	993	0,1
3	α-Pineno	935	1022	5,7
4	Canfeno	953	1065	0,9
5	Sabineno	982	1124	21,2
6	β-Pineno	987	1109	8,5
7	p-Cimeno	1029	1272	2,9
8	Limoneno	1035	1200	1,9
9	Eucaliptol (1,8-Cineol)	1040	1213	6,3
10	γ-Terpineno	1062	1248	0,3
11	trans-4-Tuyanól	1077	1559	5,0
12	cis-Óxido de linalilo (furanóide)	1090	1447	0,7
13	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1092	1462	0,2
14	Linalool	1104	1553	4,5
15	cis-4-Tuyanól	1108	1470	2,5
16	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1117	1515	0,2
17	trans-β-Tuyona	1124	1445	0,4
18	cis-p-Ment-2-en-1-ol	1131	1572	0,4
19	α-Canfolenal	1133	1494	0,5
20	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1137	----	0,9
21	cis-Verbenol	1143	1548	0,1
	trans-Óxido de limoneno*	1143	----	
22	cis-Sabinol	1148	1818	0,8
	Nopinona	1148	1589	
23	trans-Pinocarveol	1151	1666	1,9
24	trans-Verbenol	1154	1577	1,5
25	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O, N.I.	1162	----	0,1
26	Sabina cetona	1167	1644	2,0
	Óxido de β-pineno*	1167	----	
27	Pinocarvona	1172	1579	1,4
28	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O, N.I.	1176	----	0,6
29	Borneol	1182	1712	0,9
30	cis-Pinocanfona*	1185	----	0,3
31	Terpinen-4-ol	1191	1611	4,2
	α-Tuyenal	1189	1636	
32	p-Cimen-8-ol	1193	1846	0,3
33	p-Menta-1,5-dien-7-ol	1198	1812	1,0
34	Mirtenol	1205	1804	3,6
	Mirtenal	1205	1639	
	α-Terpineol	1205	1705	

Continuación **Tabla 44.**

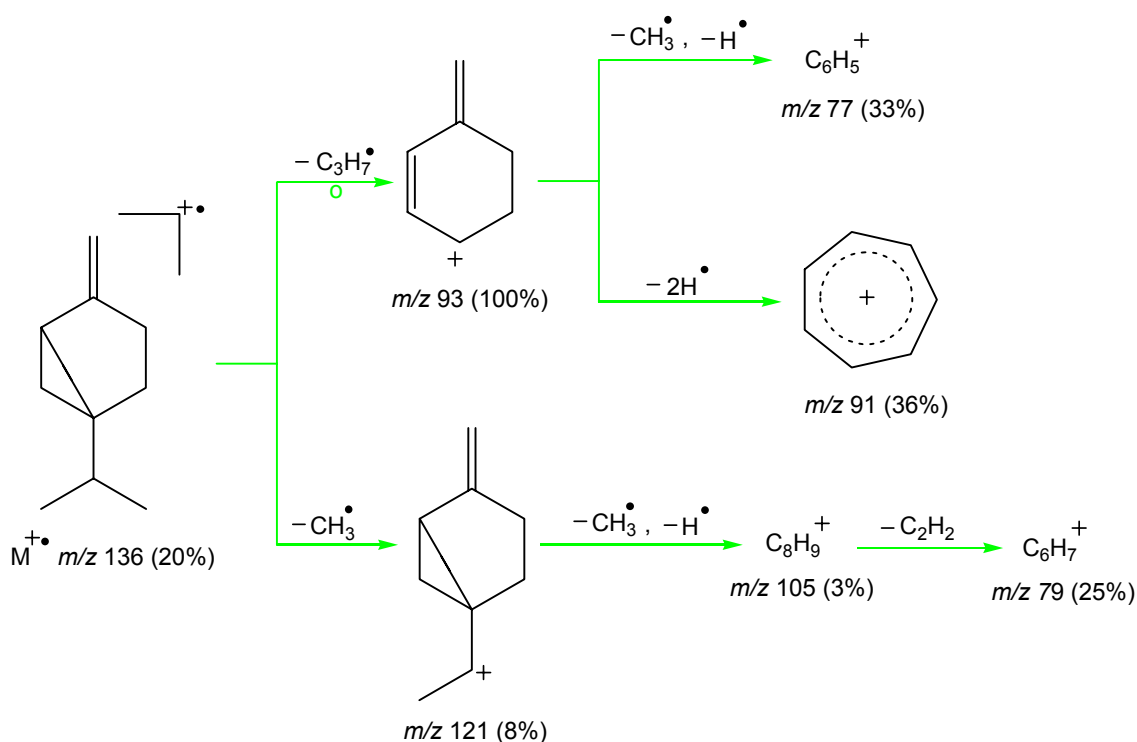
35	<i>trans</i> -Piperitol	1217	1756	0,6
	Verbenona	1217	1720	
36	<i>trans</i> -Carveol	1225	1845	0,2
37	Citronelol	1227	1773	0,4
38	Cumin aldehído	1251	1790	1,5
39	4-Isopropil-2-metil-2-ciclohexen-2-ona*	1255	---	0,1
40	Piperitona	1264	1743	0,3
	N.I.	1264	---	
41	Perilaldehído	1284	2019	0,1
42	Felandral	1287	1732	0,3
43	$\alpha$ -Terpinen-7-al	1298	1857	2,2
	<i>p</i> -Cimen-7-ol*	1298	---	
44	$\alpha$ -Copaeno	1386	1499	0,2
	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> , N.I.	1386	---	
45	$\beta$ -Elemeno	1397	1596	0,2
46	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> , N.I.	1402	---	0,2
47	<i>allo</i> -Aromadendreno	1475	1656	0,8
48	Miristicina	1527	2281	0,6
49	$\beta$ -Bazzaneno*	1540	---	0,1
50	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1548	---	0,1
51	$\beta$ -Elemol	1559	2093	0,2
52	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1587	---	0,1
53	Espatulenol	1594	2143	3,9
54	Óxido de cariofileno	1600	2006	1,1
55	Globulol	1603	2051	0,7
56	Viridiflorol	1612	2096	0,2
57	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1623	---	0,5
58	Epóxido de humuleno	1628	2064	0,1
59	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1642	---	0,1
60	$\beta$ -Eudesmol	1674	2253	0,9
61	Pentadecanal*	1718	---	0,2
62	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1726	---	0,2
63	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1744	---	0,3
<b>Familia de compuestos</b>		<b>Cantidad relativa (%)</b>		
Hidrocarburos monoterpénicos				43,0
Monoterpenos oxigenados				43,5
Hidrocarburos sesquiterpénicos				1,4
Sesquiterpenos oxigenados				8,5
Fenilpropanoides				0,6
Otros compuestos oxigenados				3,0
a	Número de pico en la <b>Figura 99</b>	N.I. No identificado		
b	Índices de Kovàts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente		

La composición química del AE de *Hedyosmum racemosum* se reporta por primera vez, ya que no existen reportes sobre este aceite en las bases de datos *Elsevier (Scopus)* y *Web of Science*, consultadas para el período de observación entre 1970-2007 y 1975-2007, respectivamente.



**Figura 100.** Sabineno y sus propiedades físicas.

Sabineno ( $C_{10}H_{16}$ ) es un monoterpene bicíclico (**Figura 100**), es el principal constituyente del AE de *Juniperus sabina*, también se encuentra en bajas concentraciones en otros AE, no presenta evidencia de toxicidad [10,150].

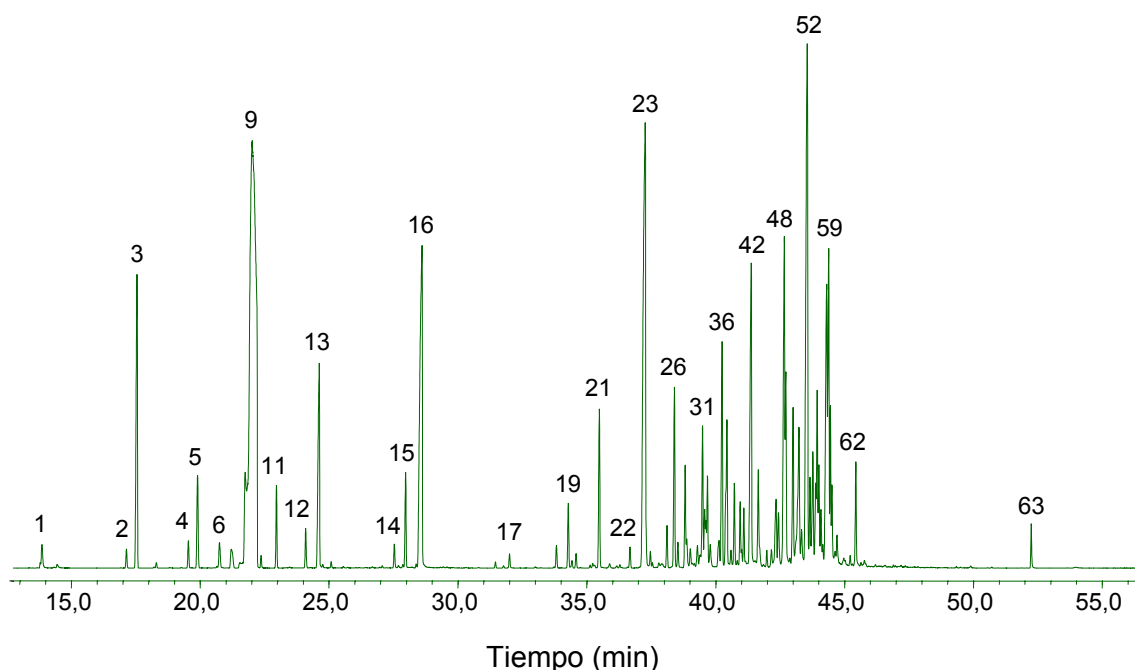


**Figura 101.** Rutas de fragmentación del sabineno (MS, EI, 70 eV).

El sabineno presenta un MS (**Anexo 1**), típico de los monoterpenos, en el cual se observan picos muy débiles en la región de masas pequeñas ( $< m/z$  79), que indica una estabilidad inherente del sistema cíclico al impacto de electrones. El ion molecular,  $M^{+\bullet}$ ,  $m/z$  136 (20%) presenta una intensidad media. La formación del ion, pico de base, en  $m/z$  93, se debe la pérdida del radical isopropilo del ion molecular  $(M-C_3H_7)^+$  (**Figura 101**) [9,150,151].

#### 4.1.11. *Calycolpus moritzianus*

En el AE de *Calycolpus moritzianus* obtenido por MWHD se detectaron, por GC-MS, 76 compuestos en cantidades  $>0,1\%$ ; de ellos, se identificaron positivamente, usando  $I_K$  (columnas polar y apolar) y MS (EI, 70 eV) 57 compuestos (75%), bajo los parámetros de integración aplicados (umbral de integración,  $Thshd = 18$  y área de rechazo del pico en la base = 0,1).



**Figura 102.** Perfil cromatográfico típico del AE *Calycolpus moritzianus*, aislado por MWHD. Columna DB-5 (60 m), *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV).

En la **Figura 102**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios volátiles de *Calycolpus moritzianus*, obtenidos por MWHD. En la

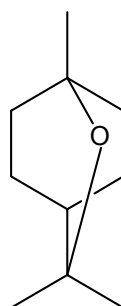
**Tabla 45**, se registran la identificación y la cantidad relativa (%) de los compuestos presentes en el AE de *Calycolpus moritzianus*.

Los compuestos mayoritarios en el AE corresponden a eucaliptol (20,4%), *trans*- $\beta$ -cariofileno (8,3%),  $\gamma$ -eudesmol (7,6%) y  $\alpha$ -terpineol (6,1%). El AE de *Calycolpus moritzianus* puede clasificarse como de tipo sesquiterpenoide (60,8%), según la **Tabla 45**, en la cual se registra la composición del aceite de acuerdo con las familias de compuestos presentes.

La composición química del AE de *Calycolpus moritzianus*, estudiado en este Proyecto, coincide con la del quimiotipo con alto contenido de eucaliptol (1,8-cineol); mientras que en el otro quimiotipo predomina como componente mayoritario el terpinen-4-ol. Los dos quimiotipos descritos previamente en la literatura son colombianos [82,88].

Eucaliptol (C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O), monoterpeno oxigenado (**Figura 103**), también conocido como 1,8-cineol, es un líquido incoloro, almibarado, con olor a alcanfor. Se utiliza en las preparaciones farmacéuticas, sirve como expectorante en casos de bronquitis crónica, como anestésico, se utiliza en aerosoles, lociones, y en muchas clases de preparaciones cosméticas, etc. Se encuentra principalmente en el AE de eucalipto, romero, laurel, cardamomo, lavanda, hierbabuena, jengibre [148,149,152].

P.M.	154,24 g/mol
p.eb.	176 °C
$d^{20}$	0,921-924 g/mL
$n_D^{20}$	1,455-1,460



**Figura 103.** Eucaliptol y sus propiedades físicas.

**Tabla 45.** Composición química del AE de *Calycolpus moritzianus*, aislado por MWHD.

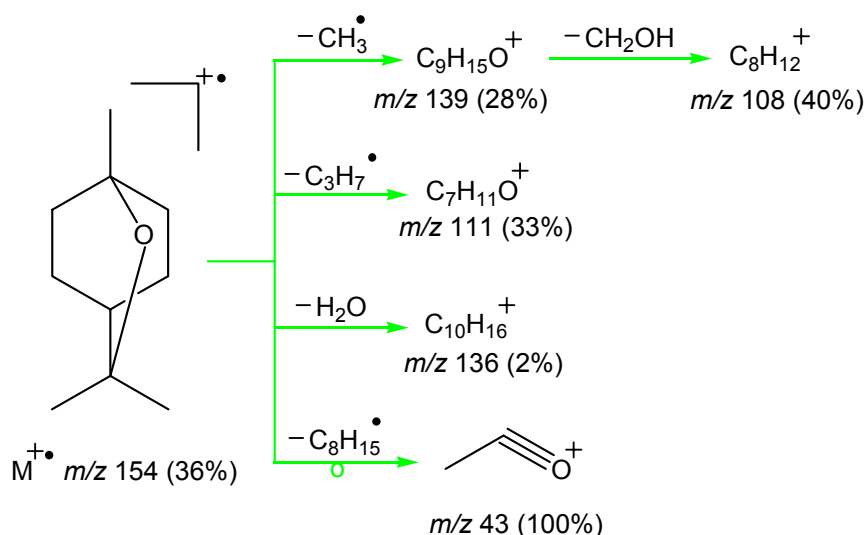
No. Pico <sup>a</sup>	Compuestos	I <sub>K</sub> <sup>b</sup>		Cantidad relativa (%)
		DB-5	DB-WAX	
1	<i>trans</i> -3-Hexen-1-ol	846	13890	0,3
	2- <i>trans</i> -Hexanal	846	1220	
2	α-Tuyeno	924	1026	0,2
3	α-Pineno	934	1022	3,1
4	β-Pineno	981	1108	0,2
5	β-Mirceno	990	1165	0,9
6	α-Felandreno	1010	1165	0,3
7	α-Terpineno	1021	1181	0,3
8	<i>p</i> -Cimeno	1034	1274	1,6
	Limoneno	1034	1200	
9	Eucaliptol (1,8-Cineol)	1040	1213	20,4
10	<i>trans</i> -β-Ocimeno	1048	1253	0,1
11	γ-Terpineno	1062	1250	0,6
12	α-Terpinoleno	1089	1286	0,3
13	Linalool	1102	1553	2,4
14	δ-Terpineol	1177	1679	0,2
15	Terpinen-4-ol	1188	1611	0,8
16	α-Terpineol	1204	1705	6,1
17	Safrol	1297	1890	0,1
18	Acetato de <i>endo</i> -2-hidroxicineilo*	1344	---	0,2
19	α-Cubebeno	1356	1460	0,5
20	Acetato de <i>exo</i> -2-hidroxicineilo*	1364	---	0,1
21	α-Copaeno	1387	1499	1,4
22	α-Gurjuneno	1421	1540	0,2
23	<i>trans</i> -β-Cariofileno	1438	1608	8,3
24	β-Copaeno	1444	1600	0,1
25	<i>trans</i> -Muurolo-3,5-dieno	1463	1642	0,3
26	α-Humuleno	1472	1680	1,6
27	9- <i>epi</i> -β-Cariofileno	1476	1657	0,2
28	<i>trans</i> -Cadina-1(6),4-dieno	1486	1615	1,1
	γ-Gurjuneno	1486	1680	
29	γ-Muurolo	1490	1686	0,3
30	δ-Selineno	1498	1701	0,2
31	β-Selineno	1504	1731	1,4
32	<i>trans</i> -Muurolo-4(14),5-dieno *	1509	---	0,8
	α-Muuruleno	1509	1736	
33	α-Selineno	1511	1735	0,8
34	δ-Amorfeno	1514	1767	0,2
35	<i>cis</i> -Dihiroagarofurano	1526	1734	0,3
	γ-Cadineno	1526	1770	

Continuación **Tabla 45.**

36	δ-Cadineno	1530	1785	2,1
37	<i>trans</i> -Calameno	1534	1844	1,7
	Zonareno*	1534	----	
38	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> , N.I.	1542	----	0,2
39	<i>trans</i> -Cadina-1(2),4-dieno	1546	1972	0,7
40	γ-Selineno*	1555	----	0,6
	α-Calacoreno	1555	1916	
41	Selina-3,7(11)-dieno	1558	1791	0,5
42	<i>trans</i> -Nerolidol	1568	2045	3,8
43	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O, N.I.	1577	----	1,0
44	Ledol	1588	1946	0,1
45	Cariofilenilalcohol	1594	2033	0,2
46	Glenol	1600	2006	0,8
	Óxido de cariofileno	1600	2006	
47	Globulol	1604	2051	0,6
48	Guaiol	1615	2105	5,2
	Viridiflorol	1615	2096	
49	Viridiflorol (Estereoisómero)*	1625	----	1,5
50	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1632	----	2,1
	10- <i>epi</i> -γ-Eudesmol	1632	2129	
	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O, N.I.	1632	----	
51	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1638	----	0,4
52	γ-Eudesmol	1646	2188	7,6
53	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1650	----	0,7
54	α-Eudesmol	1654	2244	1,2
	β-Eudesmol	1654	2254	
55	τ-Cadinol*	1260	----	2,1
	Cubenol	1260	1685	
56	α-Muurolol	1663	2217	0,9
57	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O, N.I.	1666	----	0,6
58	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1674	----	3,5
59	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1677	----	2,9
60	<i>neo</i> -Intermedeol	1680	2277	1,7
61	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1689	----	0,3
62	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O, N.I.	1720	----	0,8
63	3,7,11,15-Tetrametilhexadeca-1,6,10,14-tetraen-3-ol*	2029	----	0,3
<b>Familia de compuestos</b>		<b>Cantidad relativa (%)</b>		
Hidrocarburos monoterpénicos		7,7		
Monoterpenos oxigenados		29,8		
Hidrocarburos sesquiterpénicos		23,4		
Sesquiterpenos oxigenados		37,4		

Continuación **Tabla 45.**

Fenilpropanoides	0,1
Otros compuestos oxigenados	1,6
a Número de pico en la <b>Figura 102</b>	N.I. No identificado
b Índices de Kovàts determinados experimentalmente	* Identificado tentativamente



**Figura 104.** Rutas de fragmentación del eucaliptol (1,8-cineol). MS (EI, 70 eV).

En el **Anexo 1** se presenta el MS del eucaliptol y en la **Figura 104** se ilustran las rutas de fragmentación de este compuesto. El pico en  $m/z$  154 con una intensidad baja corresponde al ion molecular,  $M^+$ ,  $m/z$  154 (36%) del eucaliptol. También se observa la presencia de algunos iones característicos, comunes, para la mayoría de los monoterpenoles e.g.  $m/z$  139 ( $M-CH_3$ ) $^+$  y  $m/z$  136 ( $M-H_2O$ ) $^+$ , entre otros [150,151].

En resumen, en los 11 AE obtenidos por MWHD se detectaron, por GM-MS, 339 compuestos en cantidades  $>0,1\%$ ; de ellos, se identificaron positivamente, usando  $I_K$  (columnas polar y apolar) y MS (EI,70 eV) 219 compuestos (65%) (**Tabla 46**). Se encontró que la composición química de los AE fue muy variada, aunque la mayoría de ellos contiene algunos metabolitos secundarios volátiles comunes, que difieren en las cantidades relativas en las que se encuentran presentes en el AE, e.g. tuyenol,  $\alpha$ - y  $\beta$ -pinenos, sabineno, canfeno, mirceno,  $\alpha$ - y  $\beta$ -felandrenos, *p*-cimeno, limoneno, eucaliptol, *trans*- $\beta$ -cariofileno

**Tabla 46.** Relación de la composición química de los 11 AE.

Familia	Género	Especie	Quimiotipo	Compuestos		
				Detectados (>0,1%)	Identificados positivamente, (%)	Mayoritarios
Verbenaceae	Lippia	<i>L. origanoides</i>	p-Cimeno	95	73 (77)	p-Cimeno trans-β-Cariofileno α-Felandreno Limoneno
		<i>L. origanoides</i>	Carvacrol	38	34 (89)	Carvacrol p-Cimeno γ-Terpineno Timol
		<i>L. alba</i>	Citral	56	39 (70)	Geranial Neral trans-β-Cariofileno Geraniol
		<i>L. micromera</i>	Timol	43	39 (91)	Timol Metil timil éter p-Cimeno γ-Terpineno
Piperaceae	Piper	<i>P. auritum</i>	Safrol	23	20 (90)	Safrol Miristicina
		<i>P. bredemeyeri</i>	β-Pineno	58	49 (84)	β-Pineno α-Pineno trans-β-Cariofileno
		<i>P. eriopodon</i>	Dill apiol	79	71 (90)	Dill apiol trans-β-Cariofileno β-Selineno
Labiatae	Hyptis	<i>H. mutabilis</i>	Fenchona	58	46 (79)	Fenchona Eucaliptol trans-β-Cariofileno Biclogermacreno
Asteraceae	Conyza	<i>C. bonariensis</i>	trans-β-Cariofileno	93	67 (72)	trans-β-Cariofileno α-Pineno 1,3,5-Trimetoxi-2-cis-propenilbenceno β-Pineno
Chlorantaceae	Hedyosmum	<i>H. racemosum</i>	Sabineno	73	52 (71)	Sabineno β-Pineno Eucaliptol α-Pineno
Myrtaceae	Calycolpus	<i>C. moritzianus</i>	1,8-Cineol	76	57 (75)	Eucaliptol trans-β-Cariofileno γ-Eudesmol α-Terpineol

y óxido de cariofileno, entre otros. También se encontró que las familias de compuestos más dominantes en los AE de las especies vegetales bajo estudio fueron monoterpenoides y fenilpropanoides (**Tabla 47**).

Se confirmó la existencia de algunos quimiotipos de especies vegetales que ya habían sido reportados en la literatura, e.g. *Lippia organoides*, *Lippia alba*, *Piper auritum* y *Calycolpus moritzianus* [2,9,27,82-88,94-99,101-110,126,128, 129,153,154]. Adicionalmente, se evidenciaron (detectaron) nuevos quimiotipos de algunos AE, e.g. *Hyptis mutabilis*, *Lippia micromera* y *Conyza bonariensis*. Asimismo, se determinó la composición química de los AE de 3 plantas aromáticas (*Piper bredemeyeri*, *Piper eriopodon* y *Hedyosmum racemosum*) sobre los cuales no existían reportes previos.

**Tabla 47.** Composición de los AE según las familias de compuestos.

Aceite esencial	Familia de compuestos, %					
	HM	MO	HS	SO	FP	OCO
<i>Lippia organoides</i> , quimiotipo <i>p</i> -Cimeno	44,5	17,4	20,3	14,2	3,3	0,3
<i>Lippia organoides</i> , quimiotipo Carvacrol	39,8	3,7	3,4	0,6	51,5	1,0
<i>Lippia alba</i> , quimiotipo Citral	5,1	63,4	16,7	3,8	1,2	9,8
<i>Lippia micromera</i> , quimiotipo Timol	40,2	7,8	3,5	0,7	47,7	0,1
<i>Piper auritum</i>	1,4	0,0	0,8	0,2	97,4	0,2
<i>Piper bredemeyeri</i>	64,4	2,7	23,3	6,7	0,6	2,3
<i>Piper eriopodon</i>	8,5	5,7	25,9	12,9	45,3	1,5
<i>Hyptis mutabilis</i>	14,5	42,9	36,0	5,2	0,8	0,6
<i>Conyza bonariensis</i>	34,7	2,9	24,3	16,5	20,5	1,1
<i>Hedyosmum racemosum</i>	43,0	43,5	1,4	8,5	0,6	3,0
<i>Calycolpus moritzianus</i>	7,7	29,8	23,4	37,4	0,1	1,6

HM: Hidrocarburos monoterpénicos, MO: Monoterpenos oxigenados; HS: Hidrocarburos sesquiterpénicos; SO: Sesquiterpenos oxigenados; FP: Fenilpropanoides; OCO: Otros compuestos oxigenados.

### 4.3. ACTIVIDAD AO DE LOS AE

Existe una amplia variedad de métodos *in vitro* para determinar la capacidad AO de mezclas, extractos y sustancias puras; entre ellos, se encuentran los métodos que miden la habilidad para capturar radicales. Esta clase de métodos se caracteriza por no tener un sustrato oxidable; son técnicas relativamente sencillas y permiten procesar una gran cantidad de muestras en el tiempo relativamente corto.

Estos métodos se basan principalmente en la reacción entre un compuesto cromógeno radical y un posible AO (sustancia pura o una mezcla, e.g. AE). Después de la reacción, la concentración residual del compuesto cromógeno se determina por colorimetría o espectrofotometría. Los compuestos cromógenos más usados son el radical difenil-1-picrilhidracilo (DPPH<sup>•</sup>) y el catión-radical del ácido 2,2'-azino-*bis*-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>); que reaccionan directa- y rápidamente con los compuestos AO [63,64,155].

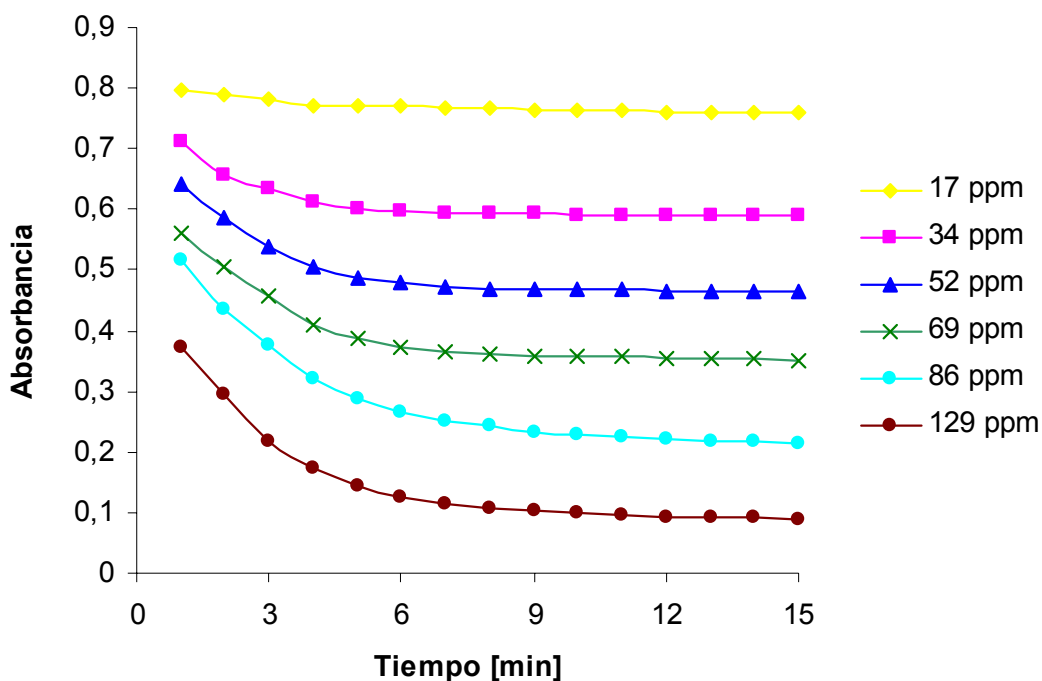
#### 4.3.1. Ensayo de decoloración del radical DPPH<sup>•</sup>

El método de decoloración del radical DPPH<sup>•</sup> fue introducido en 1958 por Marsden Blois [64]. Este método tiene como ventaja el uso de un radical estable y disponible comercialmente. DPPH<sup>•</sup> se emplea generalmente en el estudio de la actividad AO de alimentos, e.g. aceite de oliva, frutas, jugos y vinos. La prueba de decoloración del radical DPPH<sup>•</sup> es fácil de realizar, es un método altamente reproducible y comparable con otros [64,155].

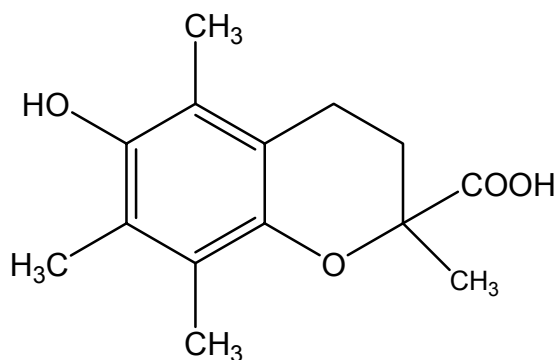
Cuando una solución de radical DPPH<sup>•</sup> se mezcla con una sustancia (o la mezcla de sustancias) que puede(n) donar átomo(s) de H, se da lugar a la formación de la molécula reducida DPPH<sub>2</sub> (**Figura 105**). Se observa la pérdida de la coloración violeta del radical y una disminución de la absorbancia proporcional a la concentración y a la actividad AO de la sustancia [64,155].



En la **Figura 107** se observa que la vitamina E, compuesto que actúa a través del mecanismo de captura de radicales, alcanzó el estado estacionario en un tiempo relativamente corto, 15 min.



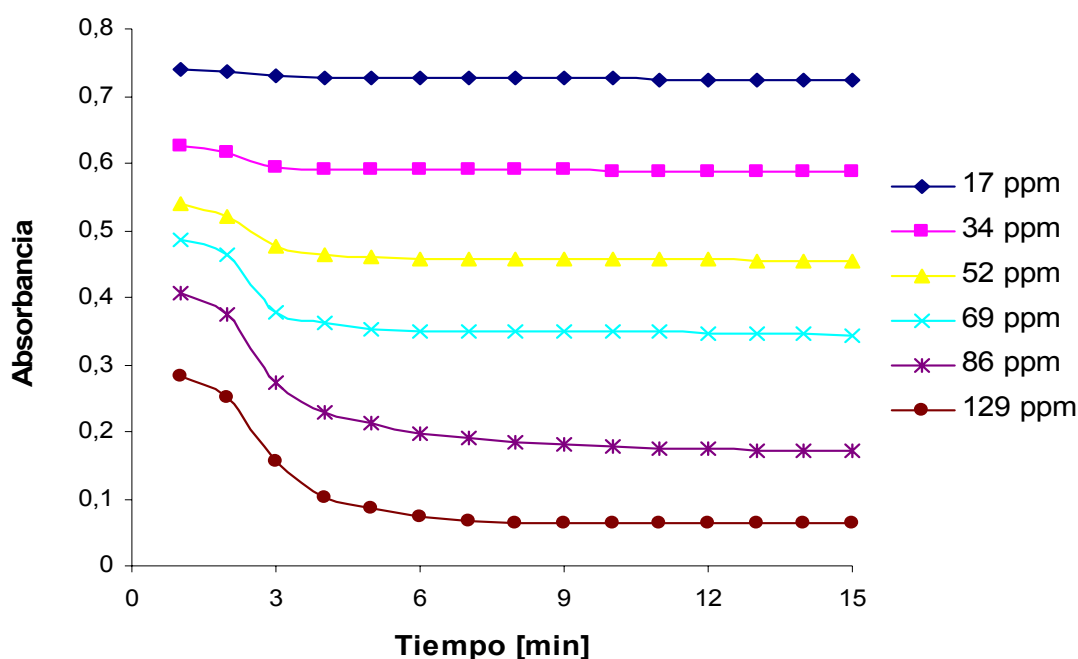
**Figura 107.** Variación de la absorbancia del radical DPPH<sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración de la vitamina E.



**Figura 108.** Trolox<sup>®</sup> (97%, Aldrich Chemical Co. Inc.).

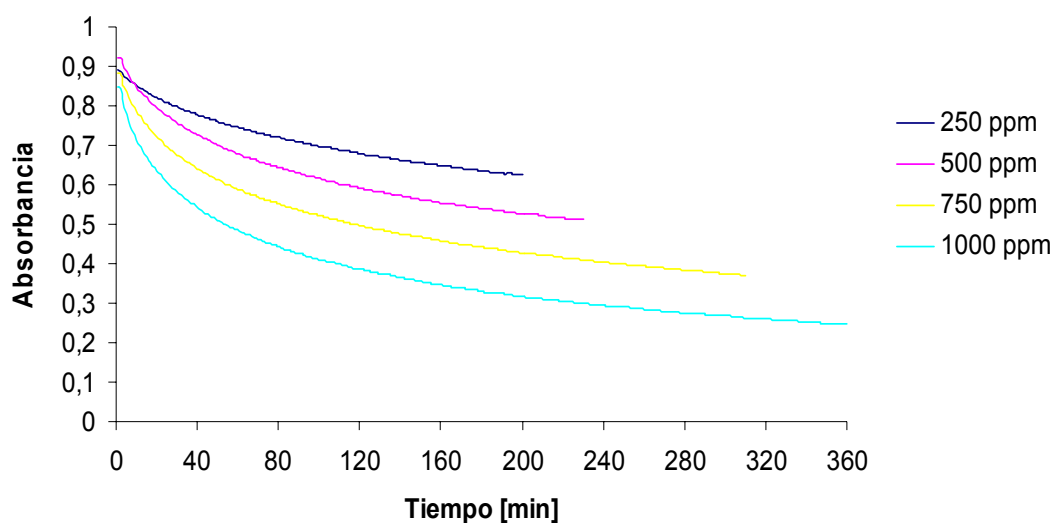
El Trolox<sup>®</sup> (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), es un AO sintético (C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>), análogo hidrosoluble de la vitamina E, posee una estructura base similar a la que presentan los tocoferoles, tiene una posición inequívoca como referencia en el análisis de la actividad AO, debido a su eficacia en los sistemas lipofílicos e hidrofílicos, también es un AO ampliamente usado en la industria (**Figura 108**) [156].

En la **Figura 109**, se observa que el Trolox<sup>®</sup>, al igual que la vitamina E, alcanzó el estado estacionario en un tiempo relativamente corto, 15 min.

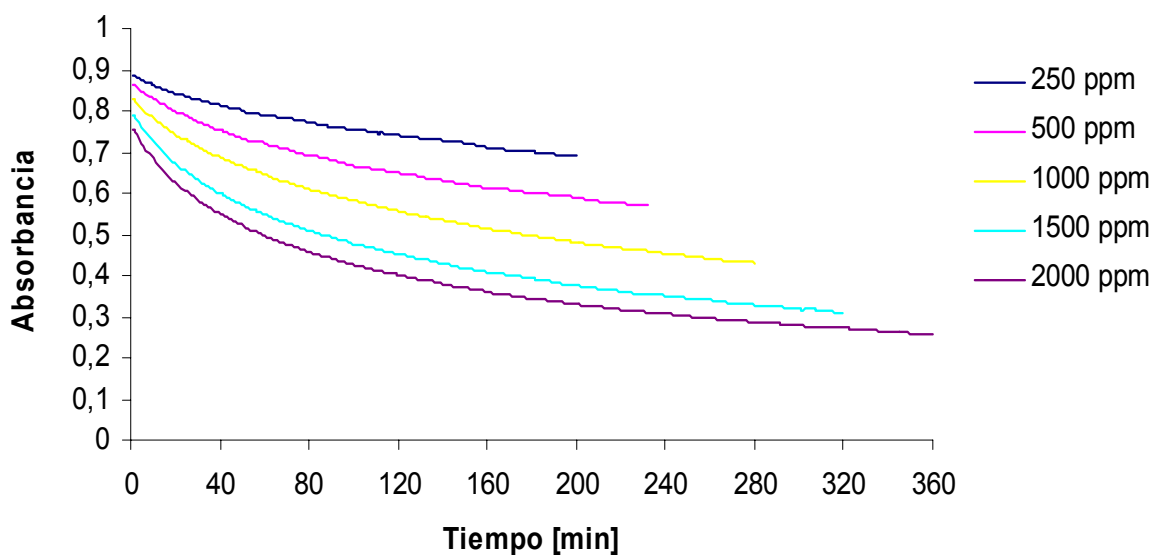


**Figura 109.** Variación de la absorbancia del radical DPPH<sup>•</sup> con el tiempo en función de la concentración de Trolox<sup>®</sup>.

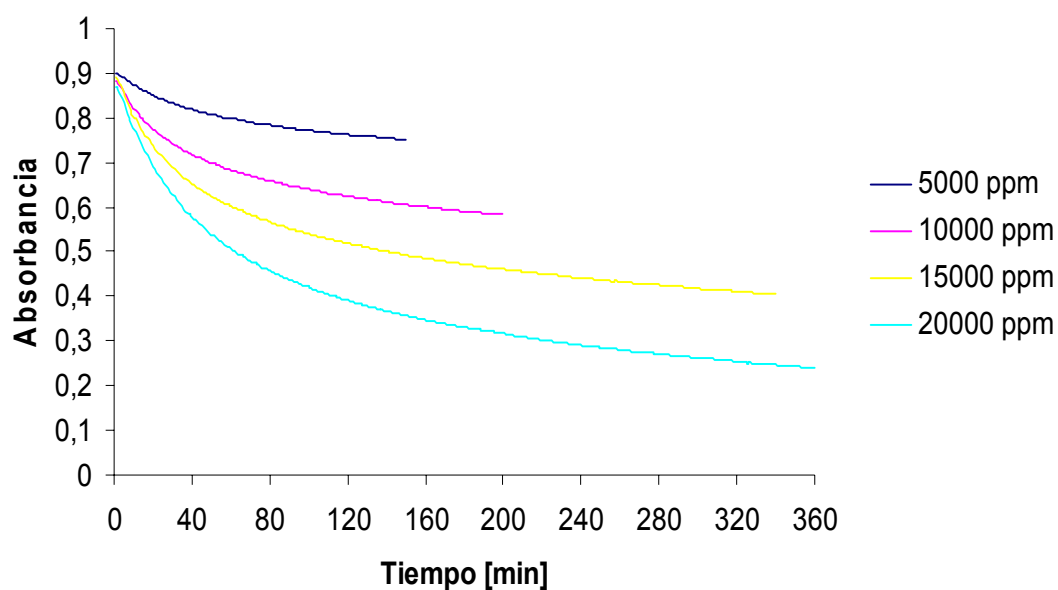
Para el ensayo de decoloración del radical DPPH<sup>•</sup> se evaluaron solo 4 AE, debido a la cantidad muy pequeña de otros aceites. La variación de la absorbancia de DPPH<sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración de los AE analizados, se ilustra en las **Figuras 110-113**.



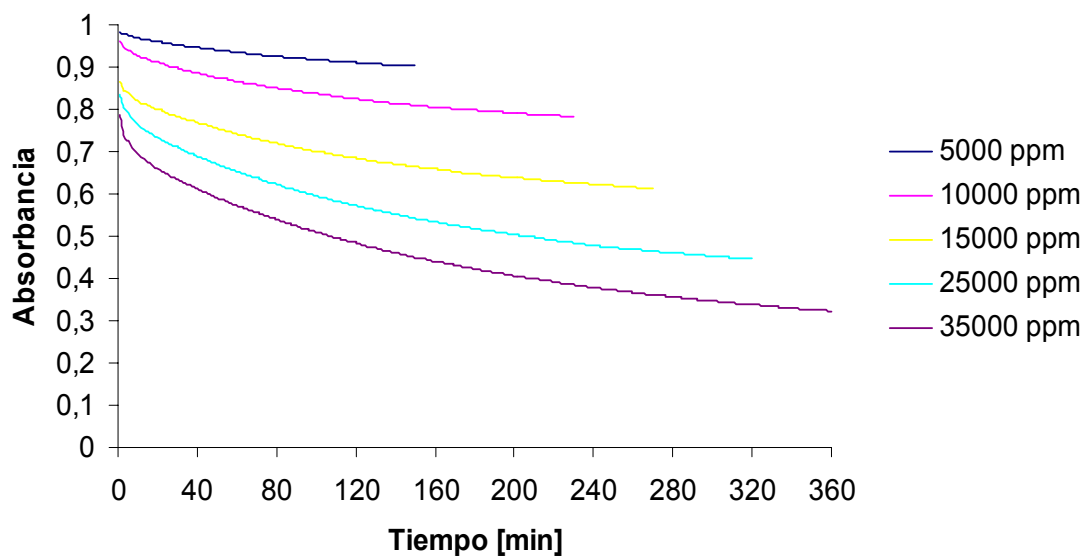
**Figura 110.** Variación de la absorbancia del radical DPPH<sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración del AE de *Lippia origanoides*, quimiotipo Carvacrol.



**Figura 111.** Variación de la absorbancia del radical DPPH<sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración del AE de *Lippia micromera*.



**Figura 112.** Variación de la absorbancia del radical DPPH<sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración del AE de *Hyptis mutabilis*.



**Figura 113.** Variación de la absorbancia del radical DPPH<sup>•</sup> con el tiempo, en función de la concentración del AE de *Piper auritum*.

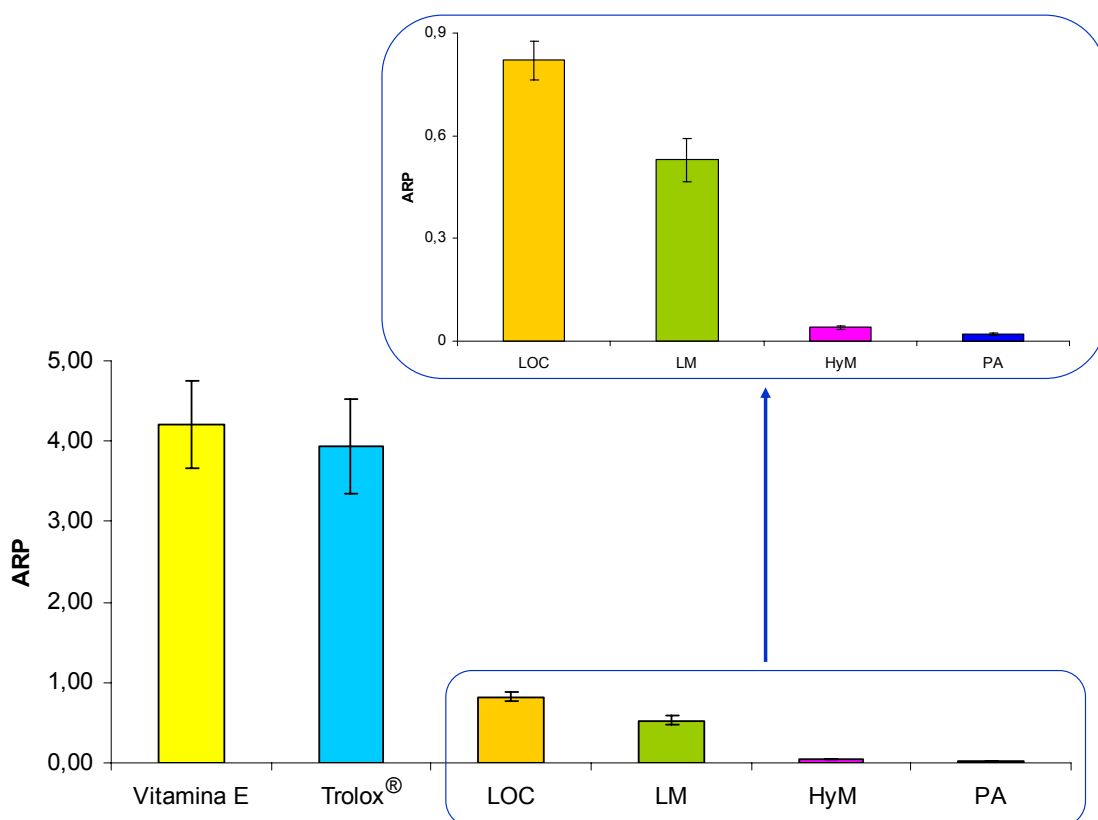
Los valores de EC<sub>50</sub> obtenidos para las sustancias de referencia (vitamina E y Trolox<sup>®</sup>) y los cuatro AE evaluados se presentan en la **Tabla 48**. Adicionalmente, se muestran los valores de ARP (1/EC<sub>50</sub>, poder antirradical), los cuales están relacionados de forma inversa con el EC<sub>50</sub> y, a su vez, de forma directa con la capacidad secuestradora de radicales, *i.e.* valores altos de ARP indican una capacidad de atrapamiento de radicales elevada, valores altos de EC<sub>50</sub> indican capacidad antirradicalaria baja y *viceversa*. En la **Figura 114**, se comparan los valores de ARP de los AE, vitamina E y Trolox<sup>®</sup>.

Con base en lo reportado en la **Tabla 48** y la **Figura 114**, se encontró que, al comparar las sustancias de referencia, la vitamina E es ligeramente más efectiva que el Trolox<sup>®</sup>, pero ninguno de los AE analizados presenta una actividad AO mayor que la vitamina E o el Trolox<sup>®</sup>. Sin embargo, los AE con alto contenido de fenoles (*Lippia micromera* y *Lippia origanoides* quimiotipo carvacrol) mostraron una mayor actividad AO comparada con la actividad AO de los AE de *Piper auritum* e *Hyptis mutabilis*.

**Tabla 48.** Capacidad de atrapamiento de radicales DPPH<sup>•</sup> de los AE y las sustancias de referencia.

Sustancia/Aceites esenciales	EC <sub>50</sub> * (mg de muestra/mg de DPPH inicial)	ARP* (1/EC <sub>50</sub> )
Vitamina E	0,24±0,01	4,2±0,22
Trolox <sup>®</sup>	0,26±0,01	3,9±0,24
<i>Lippia origanoides</i> (Quimiotipo Carvacrol )	1,23±0,03	0,82±0,02
<i>Lippia micromera</i>	1,88±0,09	0,53±0,03
<i>Hyptis mutabilis</i>	28±1,8	0,040±0,002
<i>Piper auritum</i>	43±1,9	0,020±0,001

\* Promedio de las tres mediciones ± s



**Figura 114.** Comparación de los valores de ARP de la vitamina E, Trolox® y los AE de *Lippia organoides*, quimiotipo Carvarol (LOC); *Piper auritum* (PA); *Hyptis mutabilis* (HyM) y *Lippia micromera* (LM).

La velocidad de reacción es relativamente alta en el caso de la vitamina E y del Trolox®, ya que los estados estacionarios se alcanzaron muy rápidamente para ambos compuestos (15 min), pero es lenta para los AE, pues el estado estacionario de éstos se alcanzó solo ca. 360 min (6 h) después de iniciada la reacción.

Estas diferencias de las velocidades de reacción se deben posiblemente, a que la vitamina E presenta un mecanismo de acción diferente al de los AE, pues tiene la capacidad de reducir dos moléculas del radical DPPH•. Aunque la vitamina E solo posee un grupo hidroxilo, entre dos radicales de tocoferol resultantes puede ocurrir una dimerización: el nuevo compuesto tendría la capacidad de reducir la segunda molécula del radical DPPH•. Asimismo, teniendo en cuenta que la EC<sub>50</sub>, corresponde a la relación másica necesaria

entre el AO y el radical para reducir a la mitad los radicales iniciales de DPPH<sup>•</sup>, se podría concluir que la cantidad de AO necesaria para reducir los radicales totales iniciales, se puede expresar como dos veces el valor de la EC<sub>50</sub>. Por lo tanto, si la EC<sub>50</sub> de la vitamina E es 0,24 mg de AO/mg de DPPH<sup>•</sup> iniciales, entonces, 0,48 mg de vitamina E serán necesarios para reducir 0,96 mg del radical DPPH<sup>•</sup>, *i.e.* 1 mol de DPPH<sup>•</sup> reaccionará completamente con dos moles de vitamina E [62,65,157].

Asimismo, el Trolox<sup>®</sup> presenta una estequiometría similar a la de la vitamina E. Los valores obtenidos en este trabajo de EC<sub>50</sub> para la vitamina E y Trolox<sup>®</sup> concuerdan con los reportados en la literatura [28,56,62,157].

Para el caso de los AE, la estequiometría de reacción depende de la habilidad que tiene cada posible AO para reducir el radical DPPH<sup>•</sup>, *i.e.* depende primordialmente de su capacidad para donar hidrógeno(s). En estudios previos se encontró que los compuestos fenólicos, amínicos o mercaptanos presentan una buena capacidad para reducir el DPPH<sup>•</sup>, y esta capacidad en el caso de los fenoles, depende de la cantidad de grupos hidroxilo (donadores de H) presentes en el AO [28,61,62,158-160].

El AE con mayor capacidad antiradicalaria (ARP) fue *Lippia origanoides* quimiotipo Carvacrol, seguido de *Lippia micromera*, *Hyptis mutabilis* y, finalmente, *Piper auritum*.

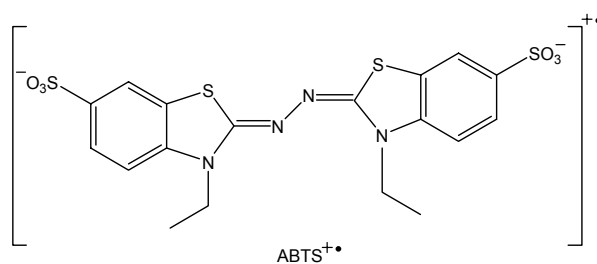
Los resultados encontrados fueron similares para *Lippia origanoides*, quimiotipo Carvacrol y *Lippia micromera*, posiblemente, debido al alto contenido de fenoles (timol y/o carvacrol), que presenta cada especie (45,7 y 29,1%, respectivamente). No obstante, se observó una mayor capacidad AO para el AE de *Lippia origanoides*, quimiotipo Carvacrol, porque ésta es la especie, cuyo AE es rico en fenoles y posee la capacidad más alta para donar H (s). Sin embargo, esta actividad no se puede atribuir solamente a la presencia de componentes fenólicos, ya que, algunos alcoholes, cetonas, aldehídos,

hidrocarburos y éteres monoterpénicos también pueden contribuir con la captura de radicales en algunos AE [161].

Los AE de *Hyptis mutabilis* y *Piper auritum*, además de presentar una velocidad de reacción lenta, no poseen una capacidad antirradicalaria importante comparada con las sustancias de referencia, aunque *Hyptis mutabilis* presentó mayor efectividad AO que el AE de *Piper auritum*, debido al contenido alto de compuestos fenólicos y monoterpenoides (eugenol y fenchona), mientras que en el AE de *Piper auritum* el componente mayoritario es un éter fenólico (safrol, 91,3%), con poca capacidad de donar H(s).

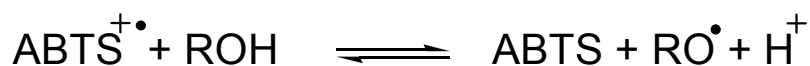
#### 4.3.2. Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS<sup>•+</sup>

El método del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> se utiliza ampliamente para determinar la capacidad AO en fluidos biológicos, de bebidas y alimentos, compuestos puros o extractos de plantas de naturaleza hidrófila o lipofílica [63,157,158]. El compuesto cromógeno ABTS presenta color azul/verde con máximo de absorción a 342 nm, es muy soluble en agua y químicamente estable. El catión-radical ABTS<sup>•+</sup> (**Figura 115**) puede ser generado por medio de enzimas (peroxidasa, mioglobina) o químicamente, por la remoción de un e<sup>-</sup> con K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>. Este último método fue desarrollado por RE *et al.* [67], y se destaca por su estabilidad, reproducibilidad y por ser una alternativa mucho más viable económicamente en comparación con el método enzimático. El catión-radical generado presenta un nuevo espectro, con máximos de absorción a 414, 645, 734 y 815 nm [63,157,158,162,163].



**Figura 115.** Cation-radical ABTS<sup>•+</sup>.

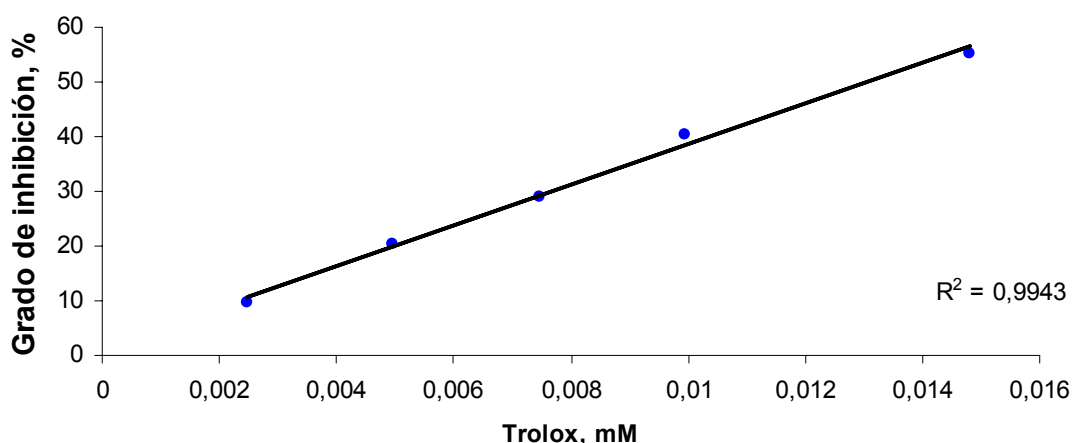
Cuando una solución de catión-radical  $ABTS^{+\bullet}$  se mezcla con una sustancia AO, la especie radicalaria es reducida y neutralizada por la ganancia de un  $e^-$  (**Figura 116**). Se observa una disminución de la absorbancia, debido a la reducción del catión-radical [61,67,157].



**Figura 116.** Reacción del catión-radical  $ABTS^{+\bullet}$  con una sustancia AO (ROH: sustancia donadora de H) [164].

El Trolox<sup>®</sup> se usó como estándar y la vitamina E como sustancia control. La capacidad AO de los AE y la sustancia control se determinó como TAA, expresada como mmol de Trolox<sup>®</sup> por kg de sustancia.

La **Figura 117** muestra la capacidad AO del Trolox<sup>®</sup>, medida en el ensayo con el catión-radical  $ABTS^{+\bullet}$ : se observa la relación lineal entre la concentración de Trolox<sup>®</sup> y el % de porcentaje de inhibición, lo que se ve reflejado en la disminución lineal de la absorbancia del catión-radical  $ABTS^{+\bullet}$ , indicando la capacidad del Trolox<sup>®</sup> para atrapar radicales.



**Figura 117.** Porcentaje de inhibición del catión-radical  $ABTS^{+\bullet}$ , en función de la cantidad (mM) de Trolox<sup>®</sup>.

El Trolox<sup>®</sup>, al igual que la vitamina E, en este ensayo, actúa a través del mecanismo de captura de radical y exhibe la misma estequiometría que presenta con el DPPH<sup>•</sup>, *i.e.* 1 mol del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> reacciona completamente con dos moles de vitamina E o con dos moles de Trolox<sup>®</sup>. Los valores obtenidos de TAA para la vitamina E y Trolox<sup>®</sup> concuerdan con los reportados en la literatura [28,56,67,157].

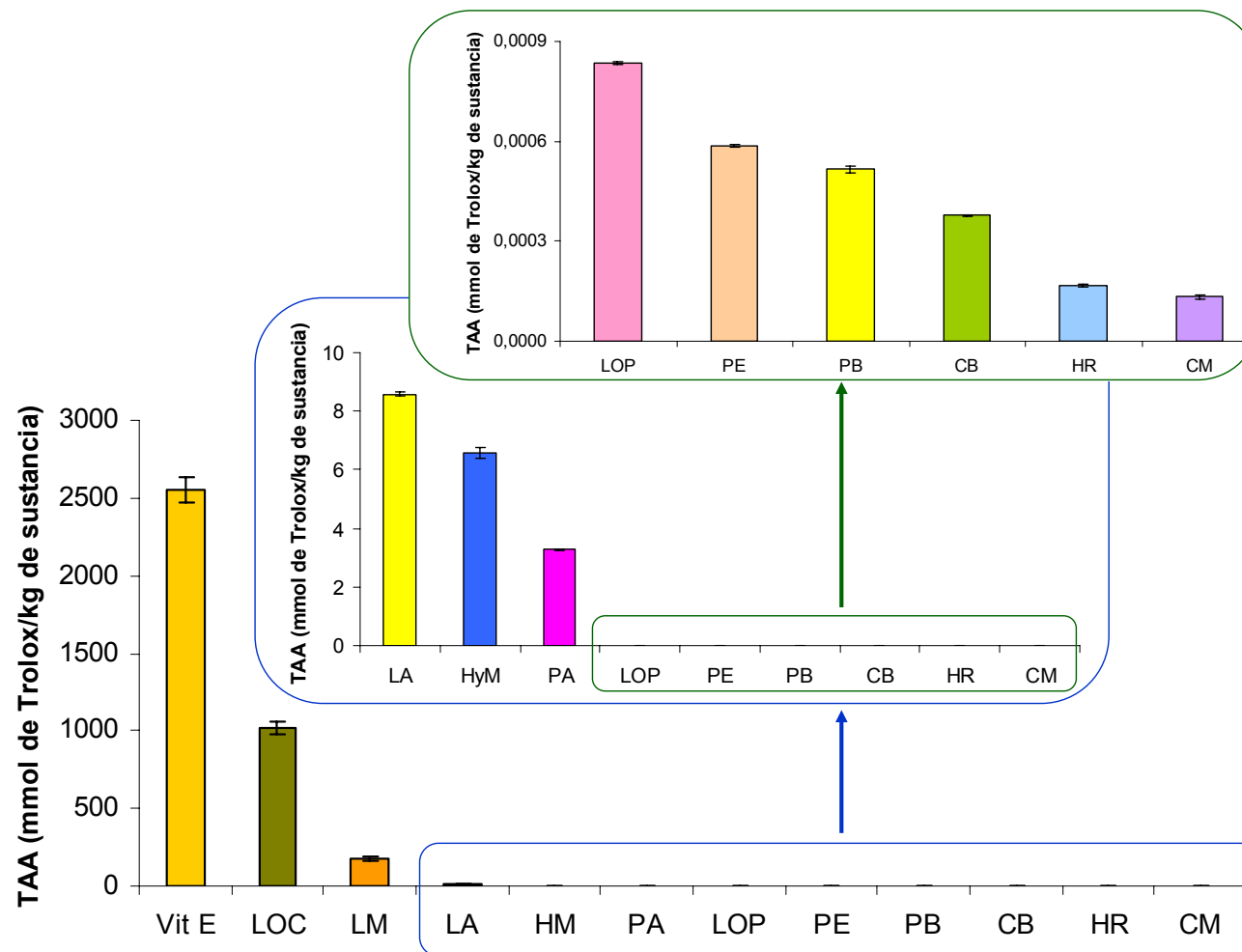
En la **Tabla 49** y la **Figura 118** se comparan los valores de TAA obtenidos para la vitamina E y los AE evaluados.

**Tabla 49.** Capacidad de atrapamiento del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> de los AE y la vitamina E.

Sustancia	TAA (mmol de Trolox <sup>®</sup> /kg de sustancia)*
Vitamina E	2550±33
<i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo Carvacrol)	1020±15
<i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo <i>p</i> -Cimeno)	0,000837±0,000002
<i>Lippia micromera</i>	176±5,8
<i>Lippia alba</i> (quimiotipo Citral)	8,58±0,03
<i>Hyptis mutabilis</i>	6,57±0,08
<i>Piper auritum</i>	3,260±0,0008
<i>Piper eriopodon</i>	0,000585±0,000002
<i>Piper bredemeyeri</i>	0,000516±0,000004
<i>Conyza bonariensis</i>	0,0003780±0,0000006
<i>Hedyosmum racemosum</i>	0,000168±0,000002
<i>Calycolpus moritzianus</i>	0,000132±0,000002

\* Promedio de las tres mediciones ± s

Con base en lo reportado en la **Tabla 49** y la **Figura 118** se encontró, que ninguno de los AE analizados presenta una actividad AO mayor que la vitamina E. Sin embargo, los AE con alto contenido de fenoles, *Lippia origanoides*, quimiotipo Carvacrol (51,5%) y *Lippia micromera* (47,7%), presentaron una actividad AO más alta comparada con el resto de los AE estudiados.



**Figura 118.** Comparación de los valores de TAA de la vitamina E y de los AE bajo estudio.

*Lippia organoides*, quimiotipo Carvacrol (LOC); *Lippia organoides*, quimiotipo p-Cimeno (LOP); *Lippia alba*, quimiotipo Citral (LA); *Piper auritum* (PA); *Hyptis mutabilis* (HyM); *Lippia micromera* (LM); *Hedyosmum racemosum* (HR); *Conyza bonariensis* (CB); *Piper eriopodon* (PE); *Piper bredemeyeri* (PB); *Calycolpus moritzianus* (CM).

Al igual que en el método de decoloración del radical DPPH<sup>\*</sup>, la capacidad AO y la estequiometría de reacción dependen de la habilidad de los componentes de los AE para donar hidrógeno(s) [67,157,161].

Los AE con mayor capacidad AO fueron *Lippia origanoides*, quimiotipo Carvacrol, seguido de *Lippia micromera*, *Lippia alba*, *Hyptis mutabilis* y *Piper auritum*, aunque la capacidad AO de los tres últimos, es relativamente baja en comparación con los dos primeros AE. Los resultados observados para el resto de los AE (*Lippia origanoides*, quimiotipo *p*-Cimeno; *Piper eriopodon*; *Piper bredemeyeri*; *Conyza bonariensis*; *Hedyosmum racemosum* y *Calycolpus moritzianus*) indican que éstos no son mezclas AO eficientes.

#### **4.4. ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DE LOS AE**

Muchos hongos se encuentran en la naturaleza como saprofitos de vida libre. Entre ellos, hay unos pocos que ocasionalmente actúan como patógenos ocasionales y a menudo oportunistas. Afortunadamente, la mayoría de los hongos son inocuos para los humanos. Solamente unas 50 especies causan enfermedades en humanos y la incidencia de infecciones muy serias es relativamente baja, aunque ciertas infecciones fúngicas superficiales son bastante comunes [165].

El crecimiento de los hongos sobre o en el cuerpo se llama micosis. Las micosis pueden variar en severidad desde infecciones superficiales, hasta enfermedades que comprometen la vida. El fluconazol e itraconazol, son los azoles de preferencia en el tratamiento de micosis agudas [80,165]. En el estudio, donde se utilizaron los AE analizados, se usó itraconazol como compuesto de referencia.

Las especies de *Aspergillus* son hongos ubicuos, pueden ser encontrados principalmente en un gran número de alimentos y productos debido a su buen

desarrollo bajo condiciones de temperatura alta y baja humedad. Los *Aspergillus sp.* producen micotoxinas y pueden causar múltiples problemas patológicos como alergias.

Las especies de *Candida* están presentes frecuentemente en la flora normal de la boca, garganta, intestino grueso, vagina y piel. Las micosis causadas por estos patógenos se conocen como candidiasis. Los microorganismos de *Candida sp.* y *Aspergillus sp.* pueden causar cuadros infecciosos mortales, afectando principalmente a pacientes inmunocomprometidos [80,165].

Los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) contra *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus fumigatus*, fueron obtenidos por el Grupo de Investigación en Infección y Cáncer de la Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia), por los doctores Juan Gabriel Bueno, Jehidys Montiel, Ana Cecilia Mesa y otros colaboradores, empleando las técnicas de microdilución en caldo AFST-EUCAST para levaduras fermentadoras de glucosa y la M38-A CLSI para hongos filamentosos y se reportan en la **Tabla 50**.

Entre los 11 AE estudiados se encontró que solo 4 de ellos presentaron actividad contra *C. parapsilosis*, 6 contra *C. krusei*, 3 contra *A. flavus* y 6 contra *A. fumigatus*, como se describe a continuación; no obstante, la efectividad de los AE fue más baja que la de la sustancia de referencia (itraconazol).

Los AE más activos pertenecen a la familia Verbenaceae. *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol) resultó ser el AE más efectivo (con la MIC más baja, 85,25 µg/mL) contra *C. parapsilosis*, seguido de *Lippia origanoides* (quimiotipo *p*-Cimeno), *Lippia micromera* y, finalmente, *Lippia alba* (quimiotipo Citral). Así mismo, *Lippia alba* (quimiotipo Citral) presentó la MIC más baja (138,67 µg/mL) contra *C. krusei*, demostrando ser el AE más efectivo contra este microorganismo, seguido de *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol) y *Lippia micromera*.

**Tabla 50.** Concentración mínima inhibitoria (MIC) del los AE contra *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus fumigatus*.

Sustancia	MIC (µg/mL)			
	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo Carvacrol)	85,25	143,00	142,00	36,00
<i>Lippia origanoides</i> (quimiotipo <i>p</i> -Cimeno)	239,44	478,68	>500	36,00
<i>Lippia alba</i> (quimiotipo Citral)	278,44	138,67	175,40	34,75
<i>Piper auritum</i>	>500	>500	>500	>500
<i>Hyptis mutabilis</i>	>500	>500	>500	396,9
<i>Lippia micromera</i>	250	250	250	157,5
<i>Hedyosmum racemosum</i>	>500	396,9	>500	>500
<i>Conyza bonariensis</i>	>500	>500	>500	>500
<i>Piper eripodon</i>	>500	>500	>500	250
<i>Piper bredemeyeri</i>	>500	396,9	>500	>500
<i>Calycolpus moritzianus</i>	>500	>500	>500	>500
Itraconazol	0,107	0,125	0,25	0,125

*Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol) fue el AE más activo (con la MIC más baja, 142,00 µg/mL) contra *A. flavus*, seguido de *Lippia alba* (quimiotipo Citral) y *Lippia micromera*. De forma similar, *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol) y *Lippia origanoides* (quimiotipo *p*-Cimeno) presentaron las MIC más bajas (36,00 µg/mL) contra *A. fumigatus*, comportándose como los AE más activos contra este microorganismo, seguidos de *Lippia alba* (quimiotipo Citral) y *Lippia micromera*.

En el caso de *Lippia origanoides* (quimiotipo Carvacrol) y *Lippia micromera*, su efectividad antifúngica probablemente corresponde al alto contenido de los fenoles, carvacrol y timol (compuestos mayoritarios), respectivamente, puesto que los fenoles exhiben propiedades microbicidas o son inhibidores del crecimiento microbiano [39,79,80,87,161]. Para el caso de la *Lippia alba* (quimiotipo Citral) la efectividad antimicótica se atribuye posiblemente al alto

contenido de citral (geranial + neral). Esta mezcla isomérica, al igual que los fenoles, se caracteriza por tener un efecto inhibitorio del crecimiento microbiano a bajas concentraciones [79,80,87,108,166,167].

El AE de *Lippia origanoides* (quimiotipo *p*-Cimeno) presentó actividad antimicótica contra *C. parapsilosis*, *A. flavus* y *A. fumigatus*. Sin embargo, el compuesto mayoritario de este quimiotipo (*p*-cimeno) no es un agente antifúngico efectivo, pero cuando está combinado con carvacrol y/o timol presenta, posiblemente, sinergismo, tal vez, ésta sea la razón de la actividad relativamente alta presentada. Aunque otros AE exhibieron MIC entre 250 y 500 µg/mL, sus actividades antifúngicas eran poco comparables con la de la sustancia de referencia. Además, el contenido de hidrocarburos es alto en la mayoría de estos AE, convirtiéndolos en inhibidores débiles de crecimiento de estos microorganismos [80,87,166,168].

#### **4.5. CITOTOXICIDAD DE LOS AE**

El uso de los AE como agentes fungicidas, insecticidas y AO, entre otros, requiere considerar pruebas adicionales para evaluar sus posibles efectos tóxicos potenciales en otros organismos presentes en suelo, cuerpo o sobre la superficie de las plantas, *i.e.* insecticidas beneficiosos o inofensivos. La prueba biológica del camarón de salmuera es un método útil en los estudios toxicológicos [80,169].

En 1982, Meyer *et al.* desarrollaron un bioensayo para la determinación de citotoxicidad utilizando la *Artemia sp.* [170]. El método se caracterizó por su rapidez, confiabilidad y bajo costo para su ejecución. Se utiliza como vía inicial de tamizaje citotóxico de extractos y AE para discriminar aquellas muestras de elevada toxicidad, debido a que presenta buena correlación con la toxicidad *in vitro* [170].

La disponibilidad de huevos, la facilidad de incubarlos, el crecimiento rápido de los nauplios y la facilidad relativa de mantener a una población bajo condiciones del laboratorio, hacen de la *Artemia sp.* un animal simple y eficaz en pruebas biológicas y estudios toxicológicos. La etapa más común usada está entre las 24-48 h después de la incubación. El método estadístico estándar para analizar la relación entre una respuesta cuantitativa (vivos/muertos) y un estímulo (concentración del AE) es el análisis *Probit* [80,169].

Los resultados de la  $CL_{50}$  de los AE frente a *Artemia franciscana* fueron obtenidos por el Grupo de Química Ambiental y Computacional de la Universidad de Cartagena (Cartagena, Colombia), dirigido por el Dr. Jesús Olivero y se reportan en la **Tabla 51**.

Los AE con una  $CL_{50}$  entre 0 y 10,00  $\mu\text{g/mL}$  después de 24 h de exposición, se clasificaron como AE de alta toxicidad; en este grupo se ubicaron 6 de los 11 AE bajo estudio. La toxicidad más alta frente a *Artemia franciscana* la exhibió el AE de *Conyza bonariensis* (3,98  $\mu\text{g/mL}$ ), seguido de *Piper eriopodon* (4,43  $\mu\text{g/mL}$ ), *Piper bredemeyeri* (4,96  $\mu\text{g/mL}$ ), *Hyptis mutabilis* (5,32  $\mu\text{g/mL}$ ), *Calycolpus moritzianus* (7,55  $\mu\text{g/mL}$ ) y, finalmente, *Piper auritum* (8,48  $\mu\text{g/mL}$ ).

Así mismo, los AE con una  $CL_{50}$  entre 10,01 y 20,00  $\mu\text{g/mL}$  después de 24 h de exposición, se clasificaron como AE de toxicidad media; en este grupo se situaron 4 de los 11 AE bajo estudio. La toxicidad media frente a *Artemia franciscana* la presentaron los AE de *Hedyosmum racemosum* (10,04  $\mu\text{g/mL}$ ), *Lippia organoides* (quimiotipo Carvacrol, 10,56  $\mu\text{g/mL}$ ), *Lippia micromera* (10,57  $\mu\text{g/mL}$ ) y, finalmente, *Lippia organoides* (quimiotipo *p*-Cimeno, 14,41  $\mu\text{g/mL}$ ).

Por último, *Lippia alba* (quimiotipo Citral) presentó una  $CL_{50}$  de 21,05  $\mu\text{g/mL}$  después de 24 h de exposición, por lo tanto, se clasificó como un

AE de baja toxicidad, mientras que el AE de *Conyza bonariensis* fue el más tóxico, entre los AE estudiados.

**Tabla 51.** Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>) de los AE frente a *Artemia franciscana*.

Aceite esencial	Tiempo de exposición, h	CL <sub>50</sub> , µg/mL	LC*	Toxicidad
<i>Lippia origanoides</i> (Quimiotipo Carvacrol)	24	10,54	11,10-10,00	Media
	48	5,22	6,05-4,49	
<i>Lippia origanoides</i> (Quimiotipo <i>p</i> -Cimeno)	24	14,41	15,61-13,30	Media
	48	5,08	5,82-4,44	
<i>Lippia alba</i> (Quimiotipo Citral)	24	21,05	22,58-19,63	Baja
	48	15,21	16,63-13,90	
<i>Piper auritum</i>	24	8,48	7,75-9,28	Alta
	48	3,84	3,18-4,64	
<i>Hyptis mutabilis</i>	24	5,32	4,29-6,59	Alta
	48	1,07	0,93-1,24	
<i>Lippia micromera</i>	24	10,57	10,02-11,15	Media
	48	6,37	5,53-7,34	
<i>Hedyosmum racemosum</i>	24	10,04	9,09 – 11,09	Media
	48	6,70	5,83 – 7,70	
<i>Conyza bonariensis</i>	24	3,98	3,30 – 4,81	Alta
	48	1,79	1,49 – 2,16	
<i>Piper eriopodon</i>	24	4,43	3,91-5,02	Alta
	48	2,54	2,19-2,95	
<i>Piper bredemeyeri</i>	24	4,96	4,31-5,70	Alta
	48	2,92	2,40-3,55	
<i>Calycolpus moritzianus</i>	24	7,55	6,96 – 8,18	Alta
	48	2,94	2,27 – 3,81	

\* LC: Límite de confianza

La toxicidad de los hidrocarburos monoterpénicos para las células eucariotas es conocida por afectar la viabilidad y crecimiento celular, así mismo, en algunos trabajos se reportan las actividades citotóxica y mutagénica de los hidrocarburos, especialmente, de los sesquiterpenos [171-174]. También, se ha encontrado que los hidrocarburos monoterpénicos son más tóxicos que sus análogos oxigenados, de igual forma, los hidrocarburos sesquiterpénicos son más tóxicos que los sesquiterpenoides [87,171-174].

Los efectos citotóxicos de los AE están determinados por el grado de su lipofilicidad, pues, a mayor poder lipofílico de la mezcla, mayor será su solubilidad en la membrana celular, por consiguiente, su mayor toxicidad, si en el AE están presentes los hidrocarburos terpénicos. Los AE con alto contenido de hidrocarburos, causan hinchazón en la membrana citoplasmática, disolviéndola fácilmente, provocando su ruptura, y en consecuencia, la muerte celular [61,87,171-175].

#### **4.6. CONTRUCCIÓN DE MODELOS**

Los modelos matemáticos se construyen con el fin de ahorrar tiempo y minimizar los costos en la búsqueda y desarrollo de nuevos productos bioactivos. El modelo (relación o función) es una expresión matemática obtenida por métodos estadísticos, que permite predecir la actividad biológica (AO, citotóxica, antimicótico, etc.) de una especie vegetal sin evaluación experimental previa [176].

En este Proyecto, las actividades biológicas experimentales de los AE se relacionaron con su composición química mediante Regresión Lineal Múltiple (MLR), aplicando el procedimiento “*Forward Stepwise*”, en el programa *STATISTICA* 6.0. Las actividades biológicas (variables dependientes) están determinadas por la composición química de las plantas (variables independientes). La composición química está representada por el tipo y la cantidad relativa (%) de cada componente.

La ecuación, que describe el modelo, tiene la siguiente forma [176]:

$$Y = B_0 + X_1B_1 + X_2B_2 + \dots \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

Y : Actividad biológica evaluada;

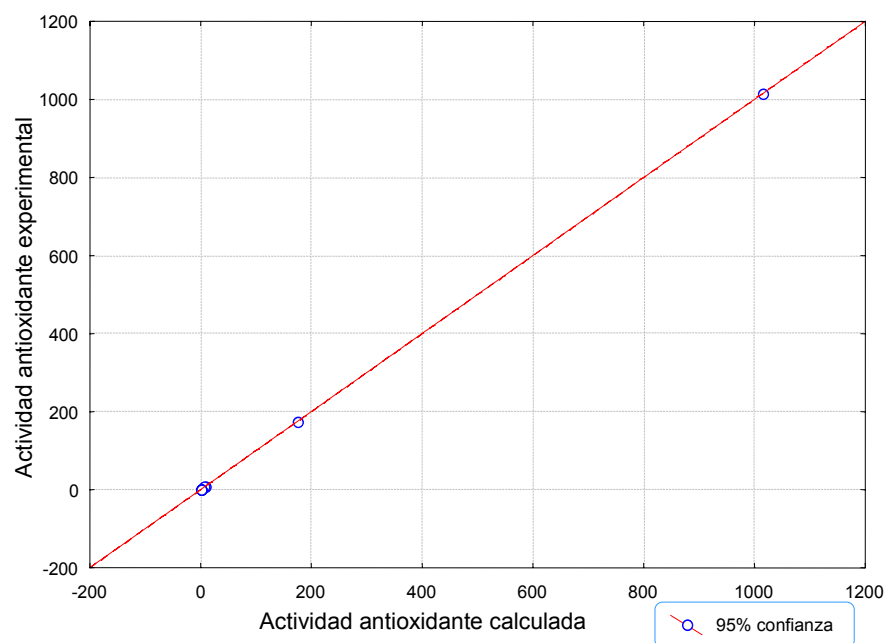
B<sub>0</sub> : Intercepto;

X<sub>n</sub> : Cantidad relativa del compuesto de interés (%), para n=1,2,3,...;

B<sub>n</sub> : Coeficiente de regresión, para n=1,2,3,...

La **Figura 119**, muestra la relación entre la capacidad AO observada y la capacidad AO calculada, con base en el modelo obtenido por el procedimiento MLR *Forward*. En la **Tabla 52** se presentan los resultados de la correlación entre las actividades calculadas y observadas con sus respectivos parámetros estadísticos. El modelo ajustado para la capacidad AO es:

$$\text{Actividad AO} = 2,6495 + 24,2391X_1 + 533,7787X_2 - 0,8875X_3 + 7,0289X_4 - 2,1204X_5 + 5,0382X_6 - 1,0359X_7 + 1,5207X_8 - 0,0453X_9$$



**Figura 119.** Actividad AO experimental Vs actividad AO calculada mediante MLR.

**Tabla 52.** Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad AO usando el método de decoloración del catión-radical ABTS<sup>•+</sup>.

Cantidad relativa, %	Compuesto	$\beta$	B
X <sub>1</sub>	Carvacrol	0,874007	24,2391
X <sub>2</sub>	2-Isopropil-4-metilfenol (isómero de timol)	0,197945	533,7787
X <sub>3</sub>	<i>p</i> -Cimeno	-0,018342	-0,8875
X <sub>4</sub>	$\alpha$ -Guaieno	0,005740	7,0289
X <sub>5</sub>	<i>trans</i> -Calameneno	-0,002599	-2,1204
X <sub>6</sub>	Eugenol	0,002160	5,0382
X <sub>7</sub>	$\delta$ -Amorfeno	-0,000955	-1,0359
X <sub>8</sub>	$\alpha$ -Muuroleno	0,000686	1,5207
X <sub>9</sub>	Mirtenal	-0,000044	-0,0453
<b>Intercepto</b>			<b>2,6495</b>

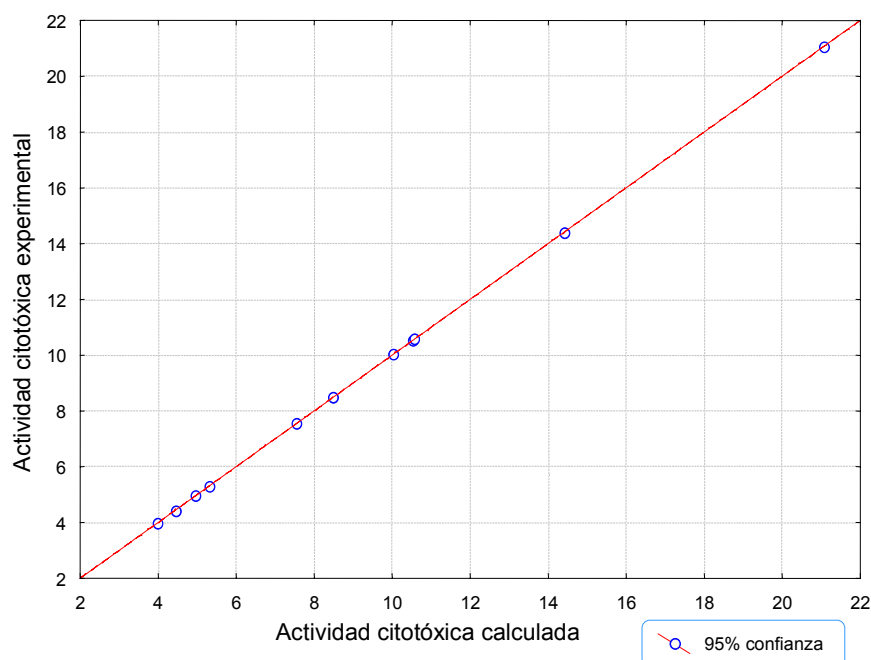
R=1,00; R<sup>2</sup>=1,00; R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub>=1,00; F<sub>calc</sub>=110\*10<sup>10</sup>; F<sub>tab</sub>=240,5; p<0,00000; Error estimado= 0,00031

Este modelo posee un R<sup>2</sup> y R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub> mayores que 0,9 y un F<sub>cal</sub> mayor que su F<sub>tab</sub>, lo que indica que el ajuste de los datos calculados y los datos experimentales es estadísticamente significativo.

Al comparar los resultados calculados implementando el modelo obtenido por MLR con los resultados experimentales, se encontraron resultados muy cercanos para los AE de las especies vegetales que presentaron actividad AO muy baja y una buena concordancia entre los resultados experimentales y calculados para los AE de las especies que presentaron una actividad AO significativa (baja-alta).

La **Figura 120**, muestra la relación entre la citotoxicidad observada y la citotoxicidad calculada, utilizando MLR *Forward*. En la **Tabla 53** se presentan los parámetros estadísticos para n=11, con un nivel de confianza del 95%. El modelo ajustado para la actividad citotóxica es:

$$\text{Actividad citotóxica} = 10,5708 + 25,4072X_1 - 2,5970X_2 - 2,6277X_3 - 4,3154X_4 - 2,6601X_5 - 11,2821X_6 - 0,2631X_7 - 0,0008X_8 + 0,0114X_9$$



**Figura 120.** Actividad citotóxica experimental Vs actividad citotóxica calculada mediante MLR.

**Tabla 53.** Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad citotóxica.

Cantidad relativa, %	Compuesto	$\beta$	B
X <sub>1</sub>	Piperitona	0,670358	25,4072
X <sub>2</sub>	Miristicina	-0,462670	-2,5970
X <sub>3</sub>	$\beta$ -Bourboneno	-0,486239	-2,6277
X <sub>4</sub>	$\beta$ -Eudesmol	-0,282369	-4,3154
X <sub>5</sub>	Metil eugenol	-0,124314	-2,6601
X <sub>6</sub>	Ciclosativeno	-0,086739	-11,2821
X <sub>7</sub>	Acetato de bornilo	-0,020991	-0,2631
X <sub>8</sub>	Carvacrol	-0,001820	-0,0008
X <sub>9</sub>	$\beta$ -Copaeno	0,000689	0,0114
<b>Intercepto</b>			<b>10,5708</b>

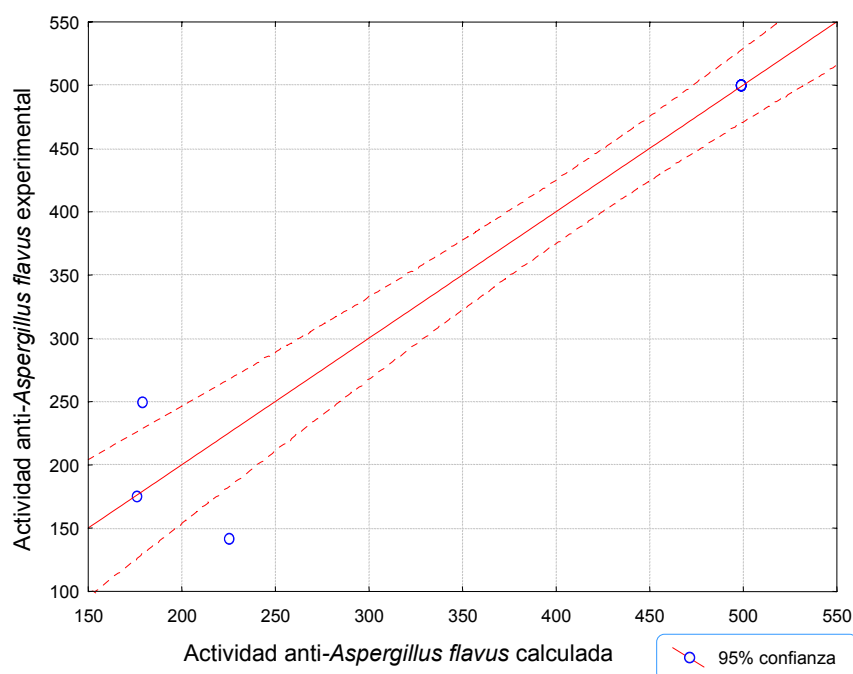
R=1,00; R<sup>2</sup>=1,00; R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub>=1,00; F<sub>calc</sub>=8593\*10<sup>5</sup>; F<sub>tab</sub>=240,5; p<,00003; Error estimado= 0,00018

Al comparar los resultados experimentales con los resultados calculados obtenidos mediante MLR, se encontró que el modelo es bastante acertado para describir la actividad citotóxica de los AE evaluados. Así mismo, este modelo posee un R<sup>2</sup> y R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub> mayores que 0,9 y un F<sub>cal</sub> mayor que su F<sub>tab</sub>, lo que

indica que el ajuste de los datos experimentales y calculados es estadísticamente significativo.

En la **Figura 121** se muestra la correlación de los resultados experimentales y calculados de la actividad anti-*Aspergillus flavus* y en la **Tabla 54** se muestran los parámetros y los valores estadísticos obtenidos mediante MLR. El modelo ajustado para la actividad anti-*Aspergillus flavus* es:

$$\text{Actividad anti-Aspergillus flavus} = 498,52 - 1064,92X_1 - 1084,28X_2$$



**Figura 121.** Actividad anti-*Aspergillus flavus* experimental Vs actividad anti-*Aspergillus flavus* calculada mediante MLR.

**Tabla 54.** Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad anti-*Aspergillus flavus*.

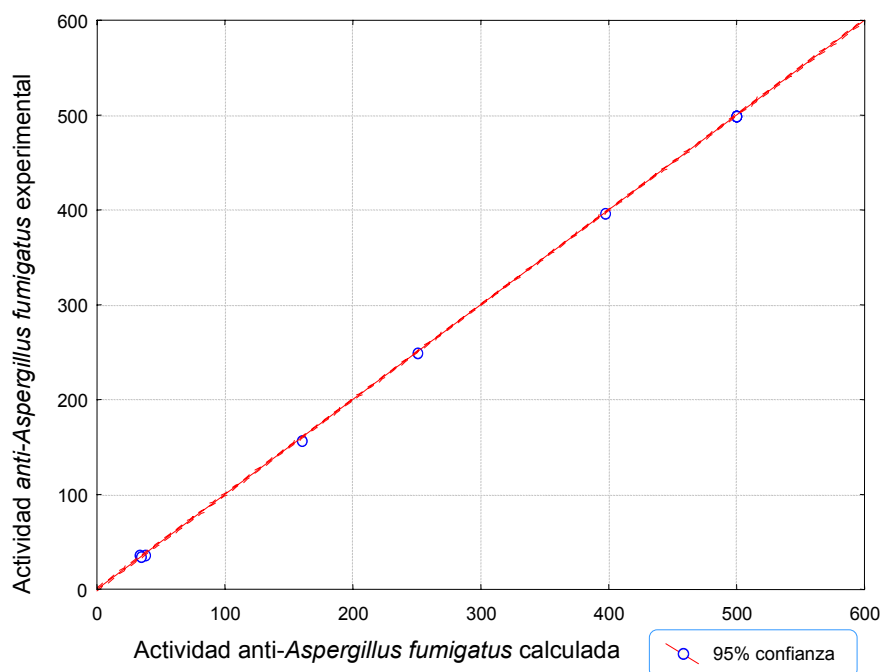
Cantidad relativa, %	Compuesto	$\beta$	B
$X_1$	2-Isopropil-4-metilfenol (isómero de Timol)	-0,817459	-1064,92
$X_2$	Epóxido de rosafurano	-0,661410	-1084,28
<b>Intercepto</b>			<b>498,52</b>

R= 0,97; R<sup>2</sup>= 0,94; R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub>= 0,93; F<sub>calc</sub>=68,84; F<sub>tab</sub>=4,46; p<,00001 Error estimado: 38,59.

Para este modelo se encontró que los resultados calculados coinciden, en su mayoría, con los experimentales, aunque, el modelo no se ajuste satisfactoriamente para las especies vegetales con alto contenido de compuestos fenólicos (*Lippia origanoides*, quimiotipo Carvacrol y *Lippia micromera*, quimiotipo Timol), se considera un modelo apropiado para los otros AE bajo estudio, ya que posee un  $R^2$  y  $R^2_{ajustado}$  mayores que 0,9 y un  $F_{cal}$  mayor que su  $F_{tab}$ , lo que indica el ajuste estadístico significativo de los datos experimentales y calculados.

La **Figura 122**, muestra la relación entre las actividades anti-*Aspergillus fumigatus* observada y la calculada, utilizando MLR *Forward*. En la **Tabla 55** se presentan los resultados del análisis con sus respectivos valores estadísticos. El modelo ajustado para la actividad anti-*Aspergillus fumigatus* es:

$$\text{Actividad anti-Aspergillus fumigatus} = 499,87 - 1395,39X_1 - 1132,59X_2 - 1249,55X_3 - 78,09X_4 + 200,64X_5$$



**Figura 122.** Actividad anti-*Aspergillus fumigatus* experimental Vs actividad anti-*Aspergillus fumigatus* calculada MLR.

**Tabla 55.** Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad anti-*Aspergillus fumigatus*.

Cantidad relativa, %	Compuesto	$\beta$	B
X <sub>1</sub>	1-Octen-3-ol	-0,679237	-1395,39
X <sub>2</sub>	2-Isopropil-4-metilfenol (isómero de Timol)	-0,609933	-1132,59
X <sub>3</sub>	10- <i>epi</i> -Cubebol	-0,752292	-1249,55
X <sub>4</sub>	Alcanfor	-0,233536	-78,09
X <sub>5</sub>	$\alpha$ -Guaieno	0,237952	200,64
<b>Intercepto</b>			499,87

R= 0,9999; R<sup>2</sup>= 0,99996; R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub>= 0,9999; F<sub>calc</sub>=25457; F<sub>tab</sub>=5,05; p<,00000; Error estimado: 1,86

Este modelo se ajusta para describir este tipo de actividad biológica en los AE bajo estudio. Posee un R<sup>2</sup> y R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub> mayores que 0,9 y un F<sub>cal</sub> mayor que su F<sub>tab</sub>, lo que indica que el ajuste de los datos calculados y los datos experimentales es estadísticamente adecuado.

La **Figura 123**, muestra la relación entre actividad anti-*Candida krusei* observada y la calculada, mediante MLR. En la **Tabla 56** se presentan los parámetros estadísticos para n=11, con un nivel de confianza del 95%. El modelo ajustado para la actividad anti-*Candida krusei* es:

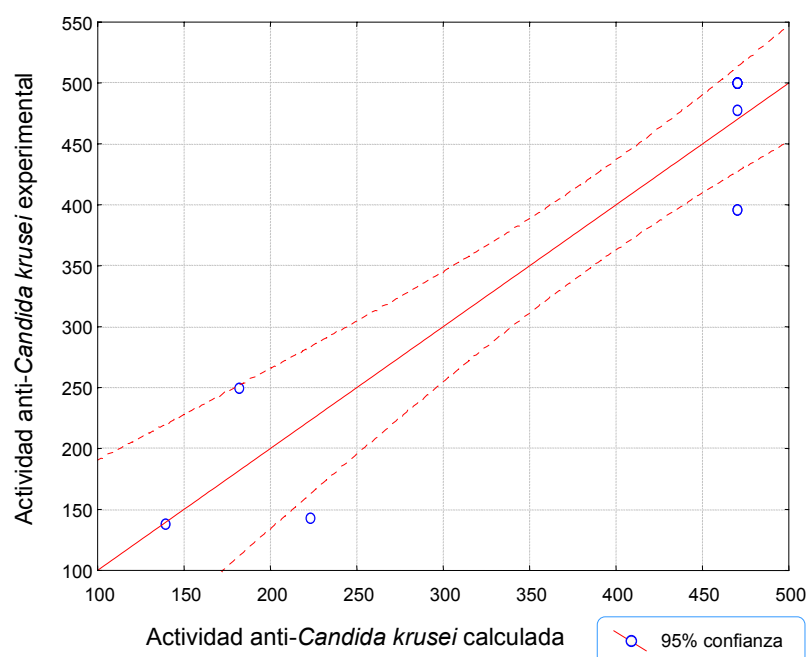
$$\text{Actividad anti-}Candida\ krusei = 470,13 - 961,94X_1 - 2511,05X_2$$

**Tabla 56.** Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad anti-*Candida krusei*.

Cantidad relativa, %	Compuesto	$\beta$	B
X <sub>1</sub>	2-Isopropil-4-metilfenol (isómero de timol)	-0,746622	-961,94
X <sub>2</sub>	<i>o</i> -Cimeno	-0,686029	-2511,05
<b>Intercepto</b>			470,13

R= 0,94; R<sup>2</sup>= 0,88; R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub>= 0,84; F<sub>calc</sub>=28,24; F<sub>tab</sub>=4,46; p<0,00024; Error estimado: 57,37

Aunque este modelo posee un F<sub>cal</sub> mayor que su F<sub>tab</sub>, no proporciona resultados suficientemente concordantes con los datos experimentales, lo que es congruente con el bajo valor de su R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub>=0,84.



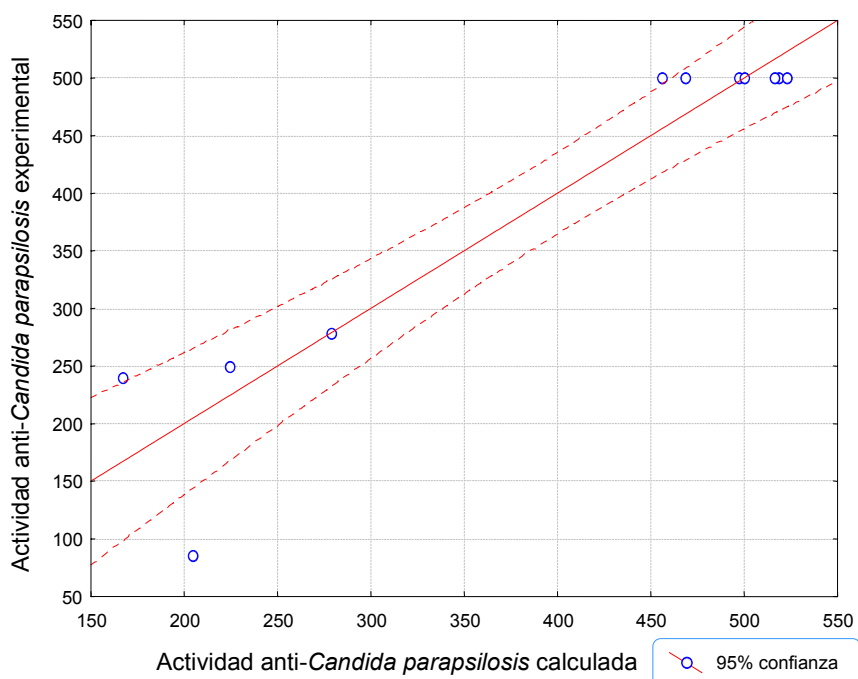
**Figura 123.** Actividad anti-*Candida krusei* experimental Vs actividad anti-*Candida krusei* calculada mediante MLR.

Se observó que los resultados presentados por este modelo únicamente se ajustan a la especie *Lippia alba* (quimiotipo Citral), pero este AE solo posee uno de los dos descriptores (*o*-cimeno) que considera el modelo, el cual no se encuentra presente en las otras especies vegetales.

En la **Figura 124** se muestra la correlación de los resultados experimentales y calculados de la actividad anti-*Candida parapsilosis* y en la **Tabla 57** se muestran parámetros estadísticos obtenidos mediante MLR. El modelo ajustado para la actividad anti-*Candida parapsilosis* es:

$$\text{Actividad anti-}Candida\ parapsilosis = 522,66 - 22,70X_1 - 1850,14X_2$$

Al comparar los datos experimentales de la actividad anti-*Candida parapsilosis* con los resultados calculados utilizando el modelo obtenido por MLR, se observó que el modelo no es apropiado para predecir esta actividad biológica, pues los datos experimentales y los calculados presentan una concordancia pobre.



**Figura 124.** Actividad anti-*Candida parapsilosis* experimental Vs actividad anti-*Candida parapsilosis* calculada mediante MLR.

**Tabla 57.** Coeficientes de regresión, obtenidos mediante MLR para el modelo de actividad anti-*Candida parapsilosis*.

Cantidad relativa, %	Compuesto	$\beta$	B
X <sub>1</sub>	p-Cimeno	-0,939251	-22,70
X <sub>2</sub>	o-Cimeno	-0,483515	-1850,14
<b>Intercepto</b>			522,66
R= 0,95; R <sup>2</sup> = 0,89; R <sup>2</sup> <sub>ajustado</sub> = 0,87; F <sub>calc</sub> =34,26; F <sub>tab</sub> =4,46; p<,00000			

En resumen, se encontró que los modelos matemáticos planteados son de aplicación limitada. Los modelos para las actividades AO y citotóxica aparentemente son los más acertados y poseen los mejores parámetros estadísticos ( $R^2_{ajustado} > 0,9$  y  $F_{cal} > F_{tab}$ ), pero solo se ajustan a los AE bajo estudio.

Los compuestos fenólicos, carvacrol y 2-isopropil-4-metilfenol son las variables que más se ajustan para obtener las actividades AO calculadas, y en este caso, son las variables que más aportan al modelo, posiblemente debido a su

facilidad para donar hidrogeno(s) facilitando la reducción de los radicales [28,61,62,158-160]. Mientras que, los demás compuestos seleccionados para formar los diferentes modelos no presentan individualmente los tipos de actividades biológicas predichas por los modelos. Posiblemente, aunque no posean individualmente dichas actividades, en conjunto con otros compuestos pueden actuar produciendo un efecto sinergista en la actividad de los AE. Para corroborar este efecto se recomienda realizar pruebas con los componentes individuales y en mezclas.

Es importante resaltar, que las relaciones matemáticas planteadas son modelos preliminares, que deben ser perfeccionados, para encontrar funciones matemáticas que describan satisfactoriamente estas actividades aplicadas a otros AE.

## 5. CONCLUSIONES

1. Los rendimientos de extracción de los AE estudiados por MWHD variaron de 0,1 a 3,57%, según la planta. El mayor rendimiento lo presentó *Lippia organoides*, quimiotipo Carvacrol (3,57%), seguido de *Piper auritum* (2,30%) y *Lippia micromera* (2,00%). Los rendimientos de extracción más bajos se observaron en el caso de *Piper bredemeyeri* (0,20%), *Piper eriopodon* (0,16%) y *Hedyosmum racemosum* (0,10%).
2. En los 11 AE de las plantas aromáticas bajo estudio se detectaron 339 metabolitos secundarios en cantidades > 0,1%, de los cuales, con base en los MS, I<sub>K</sub> y patrones, se identificaron positivamente 219 compuestos (65%).
3. Los AE obtenidos, según la familia de compuestos predominante, pertenecen al tipo de:  
**Fenilpropanoide:** *Lippia organoides* (quimiotipo Carvacrol), *Piper auritum* y *Piper eriopodon*.  
**Monoterpenoide:** *Lippia micromera*, *Lippia organoides* (quimiotipo *p*-Cimeno), *Lippia alba* (quimiotipo Citral), *Piper bredemeyeri*, *Hyptis mutabilis* y *Hedyosmum racemosum*.  
**Sesquiterpenoide:** *Conyza bonariensis* y *Calycolpus moritzianus*.
4. La distribución de los componentes de los AE por familias de sustancias, junto con los rendimientos y compuestos mayoritarios de los aceites fue muy variada (**Tabla I**).

**TABLA I.** Distribución de los componentes de los AE por familias de sustancias.

Familia	Género	Especie	Quimiotipo	Rendimiento del AE, %	Compuestos mayoritarios	Familia de compuestos, %					
						HM	MO	HS	SO	FP	OCO
Verbenaceae	Lippia	<i>L. origanoides</i>	p-Cimeno	0,97	<i>p</i> -Cimeno <i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno $\alpha$ -Felandreno Limoneno	44,5	17,4	20,3	14,2	3,3	0,3
		<i>L. origanoides</i>	Carvacrol	3,57	Carvacrol <i>p</i> -Cimeno $\gamma$ -Terpineno Timol	39,8	3,7	3,4	0,6	51,5	1,0
		<i>L. alba</i>	Citral	0,30	Geranial Neral <i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno Geraniol	5,1	63,4	16,7	3,8	1,2	9,8
		<i>L. micromera</i>	Timol	2,00	Timol Metil timil éter <i>p</i> -Cimeno $\gamma$ -Terpineno	40,2	7,8	3,5	0,7	47,7	0,1
Piperaceae	Piper	<i>P. auritum</i>	Safrol	2,30	Safrol Miristicina	1,4	0,0	0,8	0,2	97,4	0,2
		<i>P. bredemeyeri</i>	$\beta$ -Pineno	0,80	$\beta$ -Pineno $\alpha$ -Pineno <i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	64,4	2,7	23,3	6,7	0,6	2,3
		<i>P. eriopodon</i>	<i>Dill</i> apiol	0,20	<i>Dill</i> apiol <i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno $\beta$ -Selineno	8,5	5,7	25,9	12,9	45,3	1,5
Labiatae	Hyptis	<i>H. mutabilis</i>	Fenchona	0,32	Fenchona Eucaliptol <i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno Biclogermacreno	14,5	42,9	36,0	5,2	0,8	0,6
Asteraceae	<i>Conyza</i>	<i>C. bonariensis</i>	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	0,30	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno $\alpha$ -Pineno 1,3,5-Trimetoxi-2- <i>cis</i> -propenilbenceno $\beta$ -Pineno	34,7	2,9	24,3	16,5	20,5	1,1
Chlorantaceae	<i>Hedyosmum</i>	<i>H. racemosum</i>	Sabineno	0,10	Sabineno $\beta$ -Pineno Eucaliptol $\alpha$ -Pineno	43,0	43,5	1,4	8,5	0,6	3,0
Myrtaceae	<i>Calycolpus</i>	<i>C. moritzianus</i>	1,8-Cineol	0,16	Eucaliptol <i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno $\gamma$ -Eudesmol $\alpha$ -Terpineol	7,7	29,8	23,4	37,4	0,1	1,6

5. *Lippia origanoides*, quimiotipo Carvacrol, es el AE más promisorio, puesto que presentó el rendimiento de extracción más alto, es el AO natural más efectivo en ambos ensayo de decoloración de radicales, DPPH<sup>\*</sup> y ABTS<sup>\*\*</sup>, fue una de las esencias más activas inhibiendo el desarrollo de los hongos bajo estudio y presentó una toxicidad media frente a *Artemia franciscana* (**Tabla II**).
6. Los 9 compuestos que mostraron correlación con la actividad AO fueron carvacrol, 2-isopropil-4-metilfenol, *p*-cimeno,  $\alpha$ -guaieno, *trans*-calameno, eugenol,  $\delta$ -amorfeno,  $\alpha$ -muuruleno y mirtenal.
7. Los 9 compuestos que mostraron correlación con la actividad citotóxica fueron piperitona, miristicina,  $\beta$ -bourboneno,  $\beta$ -eudesmol, metil eugenol, ciclosativeno, acetato de bornilo, carvacrol y  $\beta$ -copaeno.
8. Los 4 compuestos que mostraron correlación con la actividad anti-*Aspergillus fumigatus* fueron 1-octen-3-ol, 2-isopropil-4-metilfenol, 10-*epi*-cubebol y alcanfor.
9. Los 2 compuestos que mostraron correlación con la actividad anti-*Aspergillus flavus* fueron 2-isopropil-4-metilfenol y epóxido de rosafurano.
10. Los 2 compuestos que mostraron correlación con la actividad anti-*Candida krusei* fueron 2-isopropil-4-metilfenol y *o*-cimeno.
11. Los 2 compuestos que mostraron correlación con la actividad anti-*Candida parapsilosis* fueron *p*-cimeno y *o*-cimeno.

**Tabla II.** Resultados de las actividades biológicas de los 11 AE bajo estudio.

Género	Especie	Quimiotipo	Tipo de aceite	Actividad biológica						
				Antioxidante		Antifúngica				Citotóxica
				(DPPH')	(ABTS <sup>+</sup> )	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
<i>Lippia</i>	<i>L. origanoides</i>	p-Cimeno	Monoterpenoide	----	Muy baja	Media	Baja	Nula	Alta	Media
	<i>L. origanoides</i>	Carvacrol	Fenilpropanoide	Media	Alta	Alta	Media	Media	Alta	Media
	<i>L. alba</i>	Citral	Monoterpenoide	----	Baja	Media	Media	Media	Alta	Baja
	<i>L. micromera</i>	Timol	Monoterpenoide	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media
<i>Piper</i>	<i>P. auritum</i>	Safrol	Fenilpropanoide	Baja	Baja	Nula	Nula	Nula	Nula	Alta
	<i>P. bredemeyeri</i>	β-Pineno	Monoterpenoide	----	Muy baja	Nula	Baja	Nula	Nula	Alta
	<i>P. eriopodon</i>	Dill apiol	Fenilpropanoide	----	Muy baja	Nula	Nula	Nula	Nula	Alta
<i>Hyptis</i>	<i>P. mutabilis</i>	Fechona	Monoterpenoide	Baja	Baja	Nula	Nula	Nula	Baja	Alta
<i>Conyza</i>	<i>C. bonariensis</i>	trans-β-Cariofileno	Sesquiterpenoide	----	Muy baja	Nula	Nula	Nula	Nula	Alta
<i>Hedyosmum</i>	<i>H. racemosum</i>	Sabineno	Monoterpenoide	----	Muy baja	Nula	Baja	Nula	Nula	Media
<i>Calycolpus</i>	<i>C. moritzianus</i>	1,8-Cineol	Sesquiterpenoide	----	Muy baja	Nula	Nula	Nula	Nula	Alta

## 6. RECOMENDACIONES

- Evaluar la actividad AO de los AE utilizando metodologías que impliquen el uso de un sustrato oxidable, e.g. lípido (peroxidación), u otras diferentes a la de atrapamiento radicalario.
- Realizar otros ensayos biológicos para los AE que presentaron los resultados más promisorios (*Lippia organoides*, quimiotipo Carvacrol, *Lippia alba*, quimiotipo Citral y *Lippia micromera*, quimiotipo Timol), con el fin de evaluar otras posibles actividades biológicas, e.g. antibacterial, anti-*Trypanosoma cruzi* y anti-Lesmania, anti-Tuberculosis, entre otras.

## BIBLIOGRAFÍA

1. <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma06/aromaterapia.htm> Página *Web* consultada el 28 de marzo de 2006.
2. BANDONI, A. (Ed.), Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. **2000**, CYTED, 1ª ed., La Plata, 410 p.
3. <http://cenivam.uis.edu.co/informacion/historia.html>. Página *Web* consultada el 15 de febrero de 2006.
4. STASHENKO, E. E., MARTÍNEZ, J. R., Obtención y caracterización espectroscópica de aceites esenciales colombianos. Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **1992**, pp. 14-49.
5. INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE RECURSOS BIOLÓGICOS ALEXANDER von HUMBOLDT. Biocomercio sostenible: Estudio del mercado nacional de aceites esenciales. Bogotá, Colombia, **2003**. pp. 1-85.
6. LAHLOU, M., Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils, *Phytother. Res.*, **2004**, 18, pp. 435-436.
7. <http://www.rds.org.co/biodiversidad2/>. Página *Web* consultada el 15 de febrero de 2006.
8. <http://cenivam.uis.edu.co/educativo/preguntas.html>. Página *Web* consultada el 20 de abril de 2007.

9. STASHENKO, E. E.; COMBARIZA, Y.; y PUERTAS, M. A., Aceites Esenciales: Técnicas de extracción y análisis, Laboratorio de Fitoquímica y Cromatografía, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **1998**, 99 p.
10. TISSERAND, R.; and BALACS, T., Essential oil safety, **1999**, Churchill Livingstone, 1ª ed., London, 279 p.
11. GUENTHER, E., The essential oils, History-origin in plants production-analysis, **1975**, Van Nostrand. New York, Vol. 1. pp. 17-23.
12. DOMÍNGUEZ, X. A., Métodos de investigación fitoquímica., **1998**, LIMUSA, México, pp. 229-239.
13. GROSS, E.G., Introducción al estudio de los productos naturales, **1985**, O.E.A., Washington, D.C., pp. 36-37.
14. CRISTANCHO, R. M., y GUERRERO, C. I. A., Evaluación de la actividad antifúngica y antibacteriana de aceites esenciales de plantas superiores colombianas, Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, **1997**, pp. 1-9.
15. <http://fbio.uh.cu./webfv/articulos/metabolismo%20secundario.doc>. Página *Web* consultada el 15 de febrero de 2006.
16. WILKINS, M. B., The physiology of plant and development, **1998**, University of California-Small Farm Center. 2ª ed., Davis, pp. 15-39.
17. AZCÓN, B. J., TALÓN, M., Fundamentos de fisiología vegetal, **2001**, McGraw-Hill. 1ª Ed., Madrid, pp. 261-283, 495-497.

18. LIS-BALCHIN, M., DEANS, S. G., and EAGLESHAM, E., Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils, *Flavour Fragr. J.*, **1998**, 13, pp. 98-104.
19. DUDAREVA, N., PICHERSKY, E., and GERSHENZON, J., Biochemistry of plant volatiles, *Plant Physiol.*, **2004**, 135, pp. 1893-1902.
20. TOLONEN, A., Analysis of secondary metabolites in plant and cell culture tissue of *Hypericum perforatum* L. and *Rhodiola rosea* L., **2003**, Oulu University Press, Oulu, pp. 1-67.
21. TAIZ, L. ZEIGER, E., Plant Physiology, 3<sup>a</sup> ed., Sinauer Associates, Inc., Sunderland, **2002**, p.p.283-307.
22. GÓMEZ, N.E.; WITTE, L.; A simple method to extract essential oils from tissue samples by using microwave radiation, *J. Chem. Ecol.*, **2001**, 27 (11), pp. 2351-2359.
23. PARÉ, J. R. J.; BEANGER, J. M. R., Microwave-asisted process (MAPTM): A new tool for the analytical laboratory, *TrAC*, **1993**, 13, p.p. 176-184.
24. PARÉ, J. R. J., Microwave extraction of volatile oil and apparatus therefore, US Patent EP 0485668 A1, **1992**.
25. FERHAT, M. A.; MEKLATI, B. Y.; SMADJA, J.; CHEMAT, F., An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel, *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1112, pp. 121–126.
26. CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR J. W. y PLUMEL, M. M., Microwave oven extraction of an essential oil, *Flavour Fragr. J.*, **1989**, 4, pp. 43-44.

27. 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, pp. 93–103.
28. JARAMILLO, C. B. E., Estudio de la actividad antioxidante *in vitro* de aceites esenciales de plantas tropicales y compuestos sintéticos nitrogenados. Tesis de Doctorado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **2004**. pp. 55-57,63-64, 93-110,147-170.
29. LUQUE, M. D.; JIMÉNEZ, M. M. and FERNÁNDEZ, V., Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants, *TrAC*, **1999**, 18 (11) pp. 708-716.
30. McNAIR, H. M.; MILLER, J. M., Basic gas chromatography: techniques in analytical chemistry, **1997**, John Wiley & Sons, 1ª Ed., New York, pp. 208.
31. JENNINGS, W.; MITTLEFEHLDT, E., and STREMPLE, P., Analytical gas chromatography, **1997**, Academic Press, 2ª Ed., San Diego, 259 p.
32. BRAITHWAITE, A. and SMITH, F. J., Chromatographic methods, **1999**, Kluwer Academic Publishers, 5ª Ed., Dordrecht, 571 p.
33. ROUESSAC, F. and ROUESSAC, A., Análisis químico, Métodos y técnicas instrumentales modernas, **2003**, McGraw-Hill, 5ª Ed., Madrid, 441 p.
34. HARVEY, D., Modern analytical chemistry, **2000**, McGraw-Hill, 2ª Ed., Boston, 817 p.

35. ROBARDS, K.; HADDAD, P. R., and JACKSON, P. E., Principles and practice of modern chromatographic methods, **1994**, Academic Press, 2<sup>a</sup> Ed., London, 495 p.
36. GROB, R. L. (Ed.), Modern practice of gas chromatography, **1995**, John Wiley & Sons, 3<sup>a</sup> Ed., New York, 866 p.
37. POOLE, C. F., and POOLE S. K., Chromatography today, **1991**, Elsevier, 2<sup>a</sup> Ed., Ámsterdam, 1026 p.
38. GROB, K., Chromatographic methods, split and splitless injection in capillary gas chromatography, **1993**, Huthig Buch Verlag, 3<sup>a</sup> Ed., Berlin, 547 p.
39. JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; (Eds), Processing, analysis and application of essential oils, **2005**, Har Krishan Bhalla & Sons, 1<sup>a</sup> Ed., Dehradun, India, 322 p.
40. MORA, M. A. L., Composición química del aceite de *Cymbopogon citratus* en función del método de extracción, época de cosecha y tiempo de secado de la planta, Tesis de Maestría, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **1997**, pp. 5-36.
41. INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE RECURSOS BIOLÓGICOS ALEXANDER von HUMBOLDT. Análisis del mercado internacional de aceites esenciales y aceites vegetales. Bogotá, Colombia, **2002**, pp. 1-45.
42. Calidad en la producción y elaboración de plantas medicinales. Boletín de plantas medicinales y aromáticas, Gobierno de Chile, Fundación para la Innovación Agraria, **2003**, Santiago de Chile, ISSN 0718-0357, pp. 1-8.
43. <http://www.agroalternativo.com.ar/cursos/AromaticasSept05IMPRIMIR.doc>.  
Página *Web* consultada el 23 de mayo de 2007.

44. PALACIOS, E, E., Economía y plantas medicinales, Facultad de Ciencias Económicas, Universidad de San Marcos, CSI, **2003**, 52, pp. 28-31.
45. <http://www.cbi.nl/show.php?file=marketinforesults.htm&action> CBI MARKET SURVEY 2005, NATURAL INGREDIENTS FOR PHARMACEUTICALS. Página *Web* consultada 20 de diciembre de 2006.
46. <http://www.cbi.nl/show.php?file=marketinforesults.htm&action> CBI MARKET SURVEY 2005, NATURAL INGREDIENTS FOR COSMETICS. Página *Web* consultada 20 de diciembre de 2006.
47. <http://www.cbi.nl/show.php?file=marketinforesults.htm&action> CBI MARKET SURVEY 2004, FOOD INGREDIENTS FOR INDUSTRIAL USE. Página *Web* consultada 20 de diciembre de 2006.
48. Análisis de la tendencia del mercado internacional de aceites esenciales. Informe mensual de la Fundación Exportar. Secretaría de Comercio y Relaciones Económicas Internacionales, Argentina, **2002**, pp. 1-24.
49. Essential oils. State of Victoria, Department of Primary Industries. Melbourne, **2002**, ISSN 1329-8062, pp.1-3.
50. CRYSTAL, R.; y RAMON, J., GHS System glutation: Eje de la defensa antioxidante, **1992**, *Excorta Medica*, Amsterdam, pp. 9-48.
51. GUTTERIDGE, J.C.M.; and HALLIWELL, B., Antioxidants in nutrition, health, and disease, **1994**, Oxford University Press, New York, pp. 40-74; 90-93.
52. CONTRERAS, N., Evaluación de actividad antioxidante *in vitro* de algunos aceites esenciales en el proceso de peroxidación lipídica inducida por la

- radiación ultravioleta. Tesis de Maestría, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **2002**, pp. 9-15.
53. SANCHEZ, C. M.; and LARRAURI, J.A., Main methods used in lipid oxidation determination, *Food Sci. Tech. Int.*, **1998**, 4 (6), pp. 391-399.
54. AHMAD, S., Oxidative stress and antioxidant defenses in biology, **1995**, Chapman & Hall, 1ª Ed., New York, pp.4-10.
55. MADHAVI, D.L.; DESHPANDE, S.S., and SALUNKHE, D.K.; (Ed.), Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives. **1996**, Marcel Decker, Inc., New York, pp. 41-53; 70-80; 99-103.
56. PUERTAS, M. M. A., Desarrollo de un método analítico para la determinación de compuestos carbonílicos volátiles y la evaluación de la posible actividad antioxidante *in vitro* de algunos productos naturales y sintéticos. Tesis de Doctorado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **2002**. pp. 24-29, 58-61.
57. POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N., and GORDON, M.; (Ed.), Antioxidants in food practical applications, **2001**, Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 42-51; 72-73.
58. PAREJO, I., VILADOMAT, F., BASTIDA, J., Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean herbs and aromatic plants. *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50, pp. 6882-6890.
59. TAFURT, G. G., Evaluación de la actividad antioxidante de tres aceites esenciales en emulsiones tipo margarina degradadas por radiación ultravioleta, Tesis de Maestría, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **2003**. p. 1-28.

60. HERAS B.; SLOWING K.; BENEDÍ J.; CARRETERO, E.; ORTEGA, T.; TOLEDO, C.; BERMEJO, P.; IGLESIAS, I.; ABAD, M. J.; GÓMEZ-SERRANILLOS, P.; LISO, P. A.; VILLAR, A., and CHIRIBOGA, X., Antiinflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador, *J. Ethnopharm.*, **1998**, 61, pp. 161–166.
61. SCHLESIER, K.; HARWAT, M.; BOHM, V. and BITSCH, R., Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods, *Free Rad. Res.*, **2002**, 36 (2), pp. 177-187.
62. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., and BERSET, C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm-Wiss-U-Technol.*, **1995**, 28, pp. 25-30.
63. ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P. D.; PASTSALIDES, E.; McDONALD, S., and ROBARDS, K., Methods for testing antioxidant activity, *Analyst*, **2002**, 127, pp. 183-198.
64. MOLYNEUX, P., The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin. J. Sci. Technol.*, **2004**, 26 (2), pp. 211-219.
65. BONDER, V., BRAND-WILLIAMS, W., and BERSET, C., Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH·, *Lebensm-Wiss.U-Technol.*, **1997**, 30, pp. 609-615.
66. KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J., and FETT, R., Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em polpa de frutas, *Ciênc. Technol. Aliment.*, **2005**, 25 (4), pp. 726-732.

67. RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A. YANG, M., and RICE-EVANS, C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay., *Free Rad. Biol. Med.*, **1999**, 26, pp. 1231-1237.
68. RATES, S. M. Plants as source of drugs. *Toxicon.*, **2001**, 39 (5), pp. 603-613.
69. [http://www.javeriana.edu.co/academiapgendodonia/i\\_a\\_revision04.html](http://www.javeriana.edu.co/academiapgendodonia/i_a_revision04.html).  
Página *Web* consultada el 20 de noviembre de 2006.
70. MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, D. E.; NICHOLS, J. L., and McLAUGHLIN, J. L., Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents, *Plant Med.*, **1982**, 45, pp. 31-34.
71. CARBALLO, J. L.; HERNÁNDEZ, Z. L.; PÉREZ, P., and GARCÍA, M. D., A comparison between two brine shrimp assays to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural products, *BMC Biotechnol.*, **2002**, 2 (17), pp.1-5.
72. NUNES, B. S.; CARVALHO, F. D.; GUILHERMINO, L. M., and STAPPEN, G. V., Review: use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing, *Environ. Pollut.*, **2006**, 20, pp. 1-10.
73. PADMAJA, R., ARUN, P. C., PRASHANTH, D., DEEPAK, M.; AMIT, A., and ANJANA, M., Brine shrimp lethality bioassay of select Indian medicinal plantas. *Fitoterapia*, **2002**, 73, pp. 508-510.
74. SVENSSON, B. M., MATHIASSEN, L., *Artemia salina* as test organism for assessment of acute toxicity of leachate water from landfills. *Environ. Monit. Assess.*, **2005**, 102 (1-3), pp. 309-321.
75. LAGARTO, A.; SILVA, R.; GUERRA, I., Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD<sub>50</sub> value) in

- mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts, *Phytomed.*, **2001**, 8 (5), pp. 395–400.
76. AJAIYEGBA, E. O.; ABIODUN, O. O.; FALADE, M. O.; OGBOLE, N. O.; ASHIDI, J. S.; HAPPI, C. T., and AKINDOYE, D. O., *In vitro* cytotoxicity studies of 20 plants used in Nigerian antimalarial ethnomedicine, *Phytomed.*, **2006**, 13, pp. 295-298.
77. [http://hidra.udg.edu/invasiber/fitxa\\_detalls.php?taxonomic=5&id\\_fitxa=87](http://hidra.udg.edu/invasiber/fitxa_detalls.php?taxonomic=5&id_fitxa=87).  
Página Web consultada el 20 de noviembre de 2006.
78. MESA, A. C., BUENO, J., GALVIS, G., Productos naturales con actividad antimicótica. *Rev. Esp. Quimioter.*, **2004**, 17 (4), pp. 325-331.
79. HARRIS R., Progress with superficial mycoses using essential oils. *Int. J. Aromather.* **2002**, 12 (2), pp. 83-91.
80. RAI, M.; MARES, D.; (Eds). Plant-derived antimycotics: current trends and future prospects. Haworth Press, New York, **2003**, pp. 1-34, 284-285.
81. KUIATE J.R.; TSONA A.A.; FOKO J., Chemical composition and *in vitro* antifungal properties of essential oils from leaves and flowers of *Erigeron floribundus* (H.B. et K.) Sch. Bip. from Cameroon, *JEOR*, **2005**, 17, pp. 261-264.
82. YÁÑEZ, X.; PINZÓN, M.L.; SOLANO, F., and SÁNCHEZ, L. R., Chemical composition of the essential oil of *Psidium caudatum* McVaugh, *Molecules*, **2002**, 7, pp. 712-716.
83. VALE, T.; MATOS, F.; LIMA, T.; VIANA, G. S. B., Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes, *J. Ethnopharm.*, **1999**, 167, pp. 127–133.

84. BRAGA, M.; EHLERT, P.; MING, L.; Supercritical fluid extraction from *Lippia alba*: global yields, kinetic data, and extract chemical composition, *J. Supercrit. Fluids*, **2005**, 34, pp. 149–156.
85. OLIVEIRA, D.R.; LEITAO, G.; BIZZO, H.; LOPES, D.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; LEITAO, S. G., Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia organoides* H.B.K, *Food Chem.*, **2007**, 101(1), pp. 236-240.
86. DOS SANTOS, F.; ARIMATÉIA, J.; LOPES, D.; CITO, G. L.; OLIVEIRA, E. H.; LIMA. S. G., and REIS, F. A. M., Composition and biological activity of essential oils from *Lippia organoides* H.B.K., *JEOR*, **2004**, 16 (5), pp. 504-506.
87. PAULI, A.; Antimicrobial properties of essential oil constituents; *Inter. J. Aromather.*; **2001**; 11(3) pp.126-133.
88. BERNAL, H. Y. and CORREA, J. E., Especies vegetales promisorias de los países del Convenio “Andrés Bello”, SECAB, Bogotá, **1991**, 12, pp. 173-177, 385-386.
89. PINO, J. A.; ROSADO, A.; and MENÉNDEZ, R., Leaf oil of *Lippia micromera* Schauer in D.C. from Cuba, *JEOR*, **1998**, 10 (2), pp. 189-190.
90. TUCKER, A. O.; MARCIARELLO, M. J.; ESPAILLAT, J. R.; and FRENCH, E. C., Essential oil of *Lippia micromera* Schauer in D.C., *JEOR*, **1993**, 5 (6), pp. 683-685.
91. PASCUAL, M.E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; SÁNCHEZ, D.; and VILLAR, A., *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review, *J. Ethnopharm.*, **2001**, 76, pp. 201–214.

92. <http://:mobot.mobot.org/W3T/Search/vas.html>. Página Web consultada el 30 de marzo de 2007.
93. GARCÍA BARRIGA, H., Flora medicinal colombiana: botánica médica, **1992**, Tercer Mundo, 2ª Ed., Bogotá, 1-3, 1603 p.
94. MORAIS, A. A.; MOURAO, J. C.; GOTTLIEB, O. R., Óleos essenciais da Amazonia contendo timol, *Acta Amazonica*, **1972**, 2 (1), pp. 45–46.
95. GALLINO, M. A. Una Verbenacea essenziera ricca in timolo: *Lippia origanoides* H.B.K, *Essen. Deriv. Agrum.*, **1987**, 57 (4), pp. 628–629.
96. TERBLANCHE, F.; and KOMELIUS, G., Essential oil constituents of the Genus *Lippia* (Verbenaceae) -A literature review, *JEOR*, **1996**, 8 (5), pp. 471-485.
97. HENNEBELLEA, T.; SAHPAZA, S.; DERMONTB, C.; JOSEPHC, H., and BAILLEUL, F., The essential oil of *Lippia alba*: analysis of samples from French overseas departments and review of previous works, *Chem. Biodiver.*, **2006**, 3, pp. 1116-1125.
98. PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, M. E., and VILLAR, A., Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae), *II Farmaco*, **2001**, 56, pp. 501–504.
99. VALE, T. G.; FURTADO, E.C.; SANTOS, K.G.; VIANA, G.S.B., Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, *Phytomed.*, **2002**, 9, p.p. 709-714.
100. OLIVEIRA, D.R.; LEITÃO, G.G.; SANTOS, S.S.; BIZZO, H.R.; LOPES, D.; ALVIANO, C.S.; ALVIANO, D.S.; LEITÃO, S.G., Ethnopharmacological

- study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil, *J. Ethnopharm.*; **2006**; 108 (1), pp. 103-108.
101. FISCHER, U.; LOPEZ, R.; POLL, E.; VETTER, S.; NOVAK, J., and FRANZ, C. M., Two chemotypes within *Lippia alba* populations in Guatemala, *Flavour Fragr. J.*, **2004**, 19, pp. 333-335.
102. VIANA, G. S. B.; DO VALE, T. G.; RAO, V. S. N., and MATOS, F. J. A., Analgesic and antiinflammatory effects of two chemotypes of *Lippia alba*: a comparative study, *Pharm. Biol.*, **1998**, 36 (5), pp. 347-351.
103. CRAVEIRO, A.A.; ALEXCAR, J.W.; MATOS, F., Essential oils from Brazilian *Verbenaceae*. Genus *Lippia*, *J. Nat. Prod.*, **1981**, 44 (5), pp. 598-601.
104. RICCIARDI, G.A.L.; VEGLIA, J.F.; RICCIARDI, A.I.A.; BANDONI, A.L.; Fitoquímica de Verbenáceas (*Lippias* y *Aloysias*) del Nordeste Argentino, *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, Universidad Nacional de Nordeste, **2000**, pp.1-4.
105. ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. H. L., and MAIA, J. A. G., Essential Oils of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br Growing Wild in the Brazilian Amazon, *Flavour Fragr. J.*, **1998**, 13, pp. 47-48.
106. TEXEIRA, M. C.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; GARCÍA, V. L., and DELARMELENA, C., Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants *J. Ethnopharm.*, **2005**, 97 pp. 305–311.
107. RAMOS, A.; VISOZO, A.; PILOTO, J.; GARCÍA, A., RODRÍGUEZ, C. A., and RIVERO, R., Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants, *J. Ethnopharm.*, **2003**, 87, pp. 241–246.

108. STASHENKO, E. E.; JARAMILLO, B. E., and MARTÍNEZ, J. R., Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante *in vitro* de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae, *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, **2003**, 27 (105), pp. 579-598.
109. ABAD, M. J.; BERMEJO, P.; VILLAR, A.; SANCHEZ, S., and CARRASCO, L., Antiviral activity of medicinal plant extracts, *Phytother. Res.*, **1997**, 11, pp. 198-202.
110. ANDRIGHETTI-FROHNER, C. R.; SINCERO, T. C. M.; DA SILVA, A. C.; SAVI, L. A.; GAIDO, C. M.; BETTEGA, J. M. R.; MANCINI, M.; DE ALAMEIDA, M. T. R.; BARBOSA, R. A.; FARIAS, M. R.; BARARDI, C.R.M., and SIMÔES, C. M. O., Antiviral evaluation of plants from Brazilian Atlantic Tropical Forest, *Fitoterapia*, **2005**, 76, pp. 374-378.
111. PEREDA-MIRANDA, R., and GASCÓN-FIGUEROA, M., Chemistry of *Hyptis mutabilis*: new pentacyclic triterpenoids, *J. Nat. Prod.*, **1988**, 51 (5), pp. 996-998.
112. BARBOSA, P. P. P., and RAMOS, C. P., Studies on the antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis Mutabilis* Briq. in rats, *Phytother. Res.*, **1992**, 6, pp. 114-115.
113. BAILAC, P.; DUSCHATZKY, C.; and PONZI, M., Essential oil of *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. *JEOR*, **1995**, 7, pp. 81-82.
114. AGUIAR; E.; ZOGHBI, M.; SILVA, M. and SILVA, M., Chemical variation in the essential oils of *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. *JEOR*, **2003**; 15 (2), pp. 130-132.

115. BAILAC, P.; DUSCHATZKY, C.; PONZI, M.; and FIRPO, N., Essential oil of *Hyptis mutabilis* (rich.) briq. Grow in San Luis, Argentina, *JEOR*, **1999**, 11 (2), pp. 217-219.
116. OLIVA, M. M.; DEMO, M. S.; LOPEZ, A. G.; LOPEZ, M. L.; and ZYGADLO, J. A., Antimicrobial activity and composition of *Hyptis mutabilis* essential oil, *J. Herbs Spices Med. Plants*, **2006**, 11 (4), pp. 57-63.
117. LUZ, A. I.R.; ZOGHBI, M. G. B.; RAMOS, J. G. S.; MAIA, J. G. S., and DA SILVA, M. L., Essential oils of some Amazonia Labiatae: Genus *Hyptis*, *J. Nat. Prod.*, **1984**, 47 (4), pp. 745-747.
118. ASONGALEM E.A.; FOYET H.S.; NGOGANG J.; FOLEFOC, G. N.; DIMO, T., and KAMTCHOUING, P., Analgesic and antiinflammatory activities of *Erigeron floribundus*, *J. Ethnopharm.*, **2004**, 91, pp. 301–308.
119. GUPTA, P. M., 270 Plantas medicinales iberoamericanas, **1995**, CYTED, 1ª Ed., Bogotá, 617p.
120. FUSCO, M. D. R.; DE RUIZ, R. E. L., and RUIZ, S. O., Flavonoids and sesquiterpenic lactones from *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist *Asteraceae*, *Acta Farm. Bonaerense*, **1999**, 18 (4), pp. 295-297.
121. TZAKOU, O.; VAGIAS, C.; GANI, A., and YANNITSAROS, A., Volatile constituents of essential oils isolated at different growth stages from three *Conyza* species growing in Greece, *Flavour Fragr. J.*, **2005**, 20, pp. 425-428.
122. MAIA, J. G. S.; DA SILVA, M. H. L.; ZOGHBI, M. D. G. B., and ANDRADE, E. H. A., Composition of the essential oils of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist, *JEOR*, **2002**, 14 (5), pp. 325-326.

123. BARBOSA, L. C. A.; VANDERLÚCIA, F. P.; AZEVEDO, A. S.; SILVA, E. A. M., and NASCIMENTO, E. A., Essential oil composition from some plant parts of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist, *Flavour Fragr. J.*, **2005**, 20, pp. 39-41.
124. SANZ, J. F., and MARCO, J. A., Ein neues butenolid aus *Conyza bonariensis*, *Liebigs Ann. Chem.*, **1991**, pp. 399-400.
125. RAMOS, A.; DE LA TORRE, R.A.; ALONSO, N., Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity in *Aspergillus nidulans*, *J. Ethnopharm.*, **1996**, 52, pp. 123-127.
126. VOGLER, B.; NOLETTO, J. A.; HABER, W. A. and SETZER, W. N., Chemical constituents of the essential oils of three *Piper* species from Monteverde, Costa Rica, *JEOBP*, **2006**, 9 (3), pp. 230-238.
127. GUPTA, M. P.; MONGE, A.; KARIKAS, G. A.; LOPEZ DE CERAIN, A.; SOLIS, P. N.; LEON, E.; TRUJILLO, M.; SUAREZ, O.; WILSON, F.; MONTENEGRO, G.; NOREIGA, Y.; SANTANA, A. I.; CORREA, M., and SANCHEZ, C., Screening of Panamanian medicinal plants for brine shrimp toxicity, crown gall tumor inhibition, cytotoxicity and DNA intercalation, *Int. J. Pharmacogn.*, **1996**, 34 (1), pp. 19-27.
128. NAIR, M. G.; SOMMERVILLE, J.; BIJRKE, B. A., Phenyl propenoids from roots of *Piper auritum*, *Phytochem.* **1989**, 28 (2), pp. 654-655.
129. GUPTA, M. P.; ARIAS, T. D.; WILLIAMS, N. H.; BOS, R.; and TATTJE, D. H. E., Safrole, the main component of the oil from *Piper auritum* of Panama, *JEOR*, **1995**, 48 (1), pp. 330.
130. OTERO, R.; NÚÑEZ, V.; BARONA, J., Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia, Part III: Neutralization of the

- haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom, *J. Ethnopharm.*, **2000**, 73, pp. 233–241.
131. RAHALISON, L.; HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K.; MONOD, M.; FRENK, E.; GUPTA, M. P.; SANTANA, A. I.; CORREA, A. M. D. and GONZALEZ, A. G., Screening for antifungal activity of Panamanian plants, *Int. J. Pharmacogn.*, **1993**, 31 (1), pp. 68-76.
132. NAVARRO, M. C.; MONTILLA, M. P.; CABO, M. M.; GALISTEO, M.; CÁCERES, A.; MORALES, C.; and BERGER, I., Antibacterial, antiprotozoal and antioxidant activity of five plants used in Izabal for infectious diseases, *Phytother. Res.*, **2003**, 17 (4), pp. 325-329.
133. BERNAL, H. Y. and CORREA, J. E., Especies vegetales promisorias de los países del convenio “Andrés Bello”, SECAB, Bogotá, **1991**, 4, pp. 456-460.
134. KULISIC. T.; RADONIC. A.; KATALINIC, V., MILOS, M., Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, *Food Chem.*, **2004**, 85, pp. 633-640.
135. CAILLET, S.; YU, h.; LESARD, S.; LAMOUREUX, G.; AJDUKOVIC, K.; LACROIX, M., Fenton reaction applied for screening natural antioxidants, *Food Chem.*, **2007**, 100, pp. 542-552.
136. <http://oeri.uprrp.edu>. Página *Web* consultada el 30 de mayo de 2007.
137. ARAÚJO, J. A., and ARENCIBIA, R., Informetría, bibliometría y cienciometría: aspectos teóricos prácticos. *ACIMED*, **2002**, 10 (4), pp. 5-6.
138. ESCORSA, P.; and MASPONS, R., De la vigilancia tecnológica a la inteligencia competitiva, Capítulo 4: La cienciometría y sus aplicaciones, **2001**, Pearson Educación, Madrid, 1ª Ed. pp. 1-18.

139. <http://www.med.uchile.cl/noticias/2006/agosto/cienciometria.html>. Página Web consultada el 30 de mayo de 2007.
140. PÉREZ, M. A., Usos y abusos de la cienciometría, *Cinvestav*, **2006**, pp. 29-33.
141. <http://www.scopus.com/scopus/home.url>. Página Web consultada el 10 de abril de 2007.
142. <http://portal.isiknowledge.com/portal.cgi?DestApp=WOS&Func=Frame>. Página Web consultada el 13 de abril de 2007.
143. Goldfire Innovador, Copyright © 2002 – 2007, Invention Machine Corporation, disponible a través de Programa Nacional de Prospectiva y Vigilancia Tecnológica de Colciencias. Fecha de consulta: 26 de agosto de 2007.
144. KOVÁTS, E., Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index systems, *Adv. Chromatogr.*, **1965**, 1, pp. 229-247.
145. ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadropole mass spectroscopy, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, **2004**, 456 p.
146. DAVIES, N.M., Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *J. Chromatogr.*, **1990**, 503, pp.1-24.
147. JOULAIN, D., and KONING, W. A., The atlas of spectral of sesquiterpene hydrocarbons, E. B. Verlag, Hamburg, **1998**, 658 p.

148. BAUER, K.; GARBE, D., and SURBURG, H.; Common fragrance and flavor materials: preparation and uses, **2001**, Wiley-VCH, 4<sup>a</sup> Ed., Weinheim, 305 p.
149. BURDOCK, G. A., Fenaroli's handbook of flavor ingredients, **2005**, CRC Press, 5<sup>a</sup> Ed., Boca Raton, 1943 p.
150. McLAFFERTY, F. W. and TURECEK, F., Interpretation of mass spectra, **1993**, University Science Books, 4<sup>a</sup> Ed., Mill Valley, 371 p.
151. CREWS, P.; RODRÍGUEZ, J. and JASPARS, M., Organic structure analysis, **1998**, Oxford University Press, 3<sup>a</sup> Ed., New York, 342 p.
152. GUENTHER, E., The essential oils, the constituents of essential oils, **1975**, Van Nostrand. New York, Vol 2. 852 p.
153. CELIS, M. C. N., Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia organoides* y *Phyla (Lippia) dulcis*, especies de la familia *Verbenaceae*, Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **2007**, 153 p.
154. MONSALVE, S. L. A., Comparación de la composición química de los aceites esenciales de las plantas de *Lippia alba* (Mill) N.E Brown, provenientes de diferentes regiones de Colombia, Tesis de Pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **2007**, 141 p.
155. VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ, M. S.; MOYÁ, M. L.; TRONCOSO, A. M. and GARCÍA, M. C., Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH<sup>•</sup> free radical, *Talanta*, **2007**, 71, pp. 230–235.

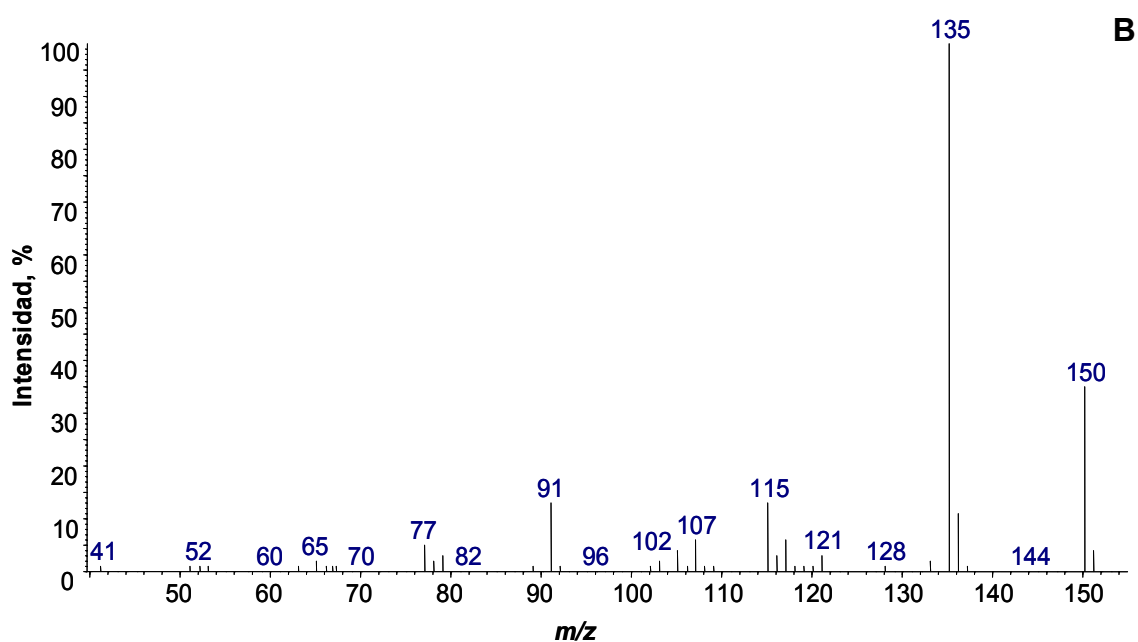
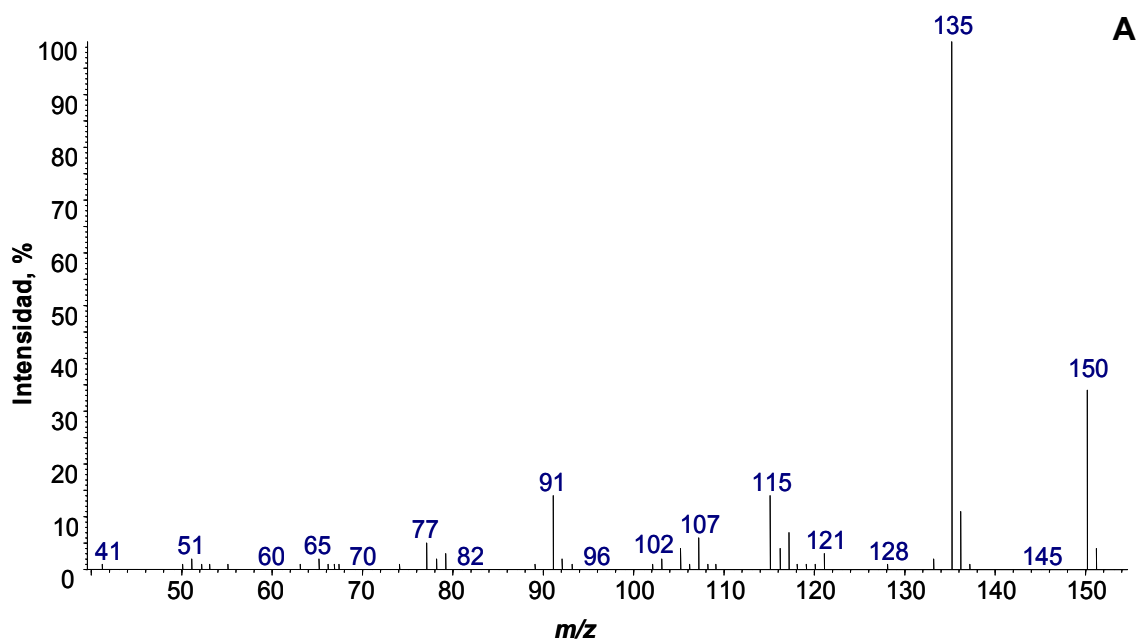
156. NENADIS, N.; LAZARIDOU, O. and TSIMIDOU, M. Z., Use of reference compounds in antioxidant activity assessment, *J. Agric. Food Chem.*, **2007**, 55, pp. 5452-5460.
157. SÁNCHEZ-MORENO, C., Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, *Food Sci. Tech. Int.*, **2002**; 8 (3), pp. 121–137.
158. KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; GARCÍA, M. C.; TRONCOSO, A. M. and FETT, R., Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **2004**, 24 (4), pp. 691-693.
159. HOGG, J.S.; LOHMANN, D.H. and RUSSELL, K.E., The kinetics of reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with phenols, *Can. J. Chem.*, **1961**, 39, p.p. 1588-1594.
160. HAZELL, J. E.; and RUSSELL, E., The reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with secondary amines, *Can. J. Chem.*, **1958**, 36, p.p. 1729-1734.
161. EDRIS, A. E., Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review, *Phytother. Res.*, **2007**, 21 (4), pp. 308-323.
162. VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ, M. S.; MOYÁ, M. L.; TRONCOSO, A. M. and GARCÍA, M. C., The antioxidant activity of wines determined by the ABTS<sup>•+</sup> method: influence of sample dilution and time, *Talanta*, **2004**, 64, pp. 501–509.
163. HENRIQUEZ, C.; ALIAGA, C., and LISSI, E., Formation and decay of the ABTS derived radical cation: a comparison of different preparation procedures, *Int. J. Chem. Kin.*, **2002**, 34 (12), pp. 659-665.

164. CAMPOS, A. M. and LISSI, E. A., Kinetics of the reaction between 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), (ABTS). Derived radical cations and phenols. *Int. J. Chem. Kin.*, **1997**, 29 (3), pp. 219-224.
165. MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J., and PARKER, J., Brock: biología de los microorganismos, **2004**, Pearson Prentice-Hall, 10ª Ed., Madrid, pp. 921-922.
166. BURT, S., Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food- a review, *Int. J. Food Microbiol.*, **2004**, 94, p.p. 223-253.
167. JIROVETZ, L., Chemical composition, antimicrobial activities and odor descriptions of some essential oils with characteristic floral-rosy scent, *Recent Res. Devel. Agron. Horticul.*, **2006**, 2, p.p 1-12.
168. KNOBLOCH, K.; PAULI, A.; IBERL, B.; WEIGAND, H., and WEIS, N., Antibacterial and antifungal properties of essential oil components, *JEOR*, **1989**, 1, pp. 119-128.
169. SVOBODA K. P., and HAMPSON, J. B., Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities, Plant Biology Department, Ayr, **1999**, pp. 1-17.
170. MARTÍNEZ, I.; QUINTERO, G.; MÁRQUEZ, L.; GONZÁLEZ, J. A.; ÁLVAREZ, A. and ZARRAGOITÍA, A., Determinación de la citotoxicidad de extractos de *Erythroxylum confusum* Britt. mediante el método de la *Artemia salina*, *Acta Farm. Bonaerense*, **2006**, 25 (3), pp. 429-431.
171. KORDALI, S.; KESDEK, M. and CAKIR, A., Toxicity of monoterpenes against larvae and adults of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae), *Industr. Crops Products*, **2007**, 26 (3), pp. 278-297.

172. SHASANY, A. K.; KHANUJA, S. P.; DHAWAN, S. and KUMAR, S., Positive correlation between menthol content and *in vitro* menthol tolerance in *Mentha arvensis* L. cultivars, *J. Biosci.*, **2000**, 25 (3), pp. 263-266.
173. GERSHENZON, J.; MCCONKEY, M. E. AND CROTEAU, R. B., Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint, *Plant Physiol.*, **2000**, 122, pp. 205–213.
174. BROWN, J.T.; HEGALY, P.K. and CHARLWOOD, B.V., The toxicity of monoterpenes to plant cell cultures, *Plant Sci.*, **1987**, 48 (33), p.p. 195-201.
175. IASON, G., The role of plant secondary metabolites in mammalian herbivory: ecological perspectives, *Proc. Nutr. Soc.*, **2005**, 64, pp. 123–131.
176. MILLER, J. N. and MILLER, J. M., Estadística y quimiometría para química analítica, **2002**, Pearson Prentice-Hall, 4ª Ed., Madrid, pp. 237-239.

## **ANEXO 1**

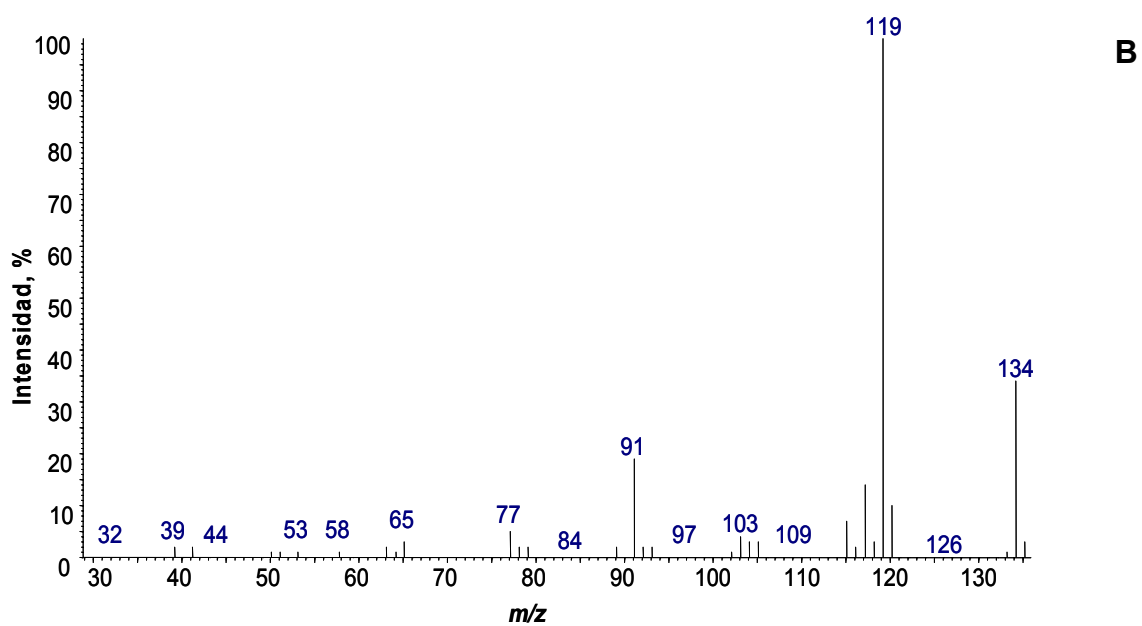
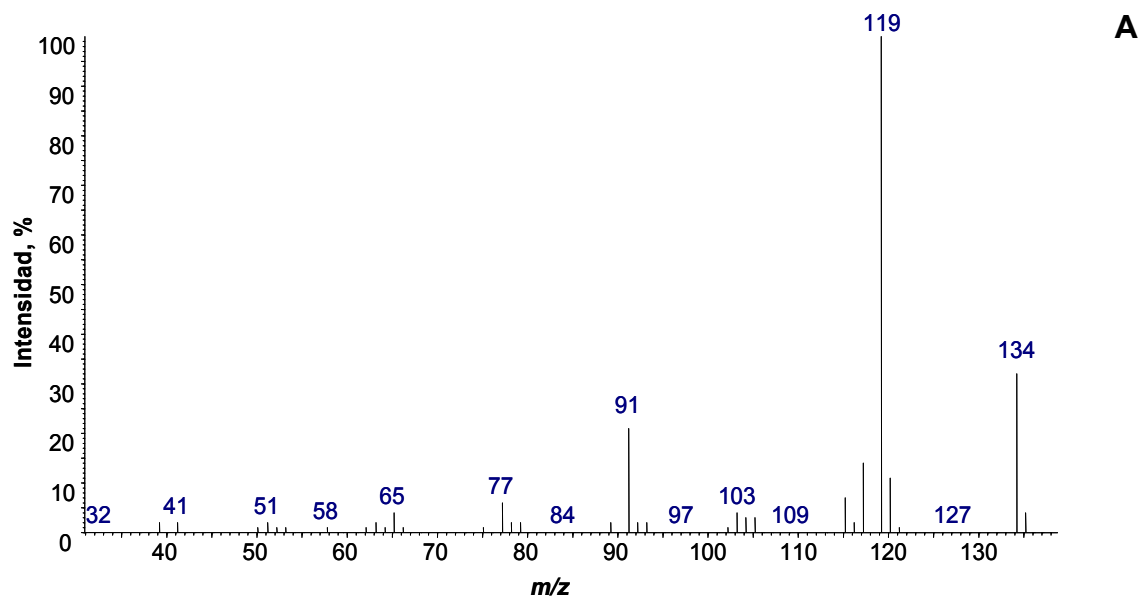
MS,  $t_R$  e  $I_K$  de los compuestos mayoritarios obtenidos por GC-MS



**Anexo 1 – Figura 1.** MS del timol. **A.** MS del timol presente en el AE de *Lippia micromera*. **B.** Patrón certificado de timol (*Sigma-Aldrich*, 99.5%).

**Anexo 1 – Tabla 1.**  $I_K$  y  $t_R$  del timol.

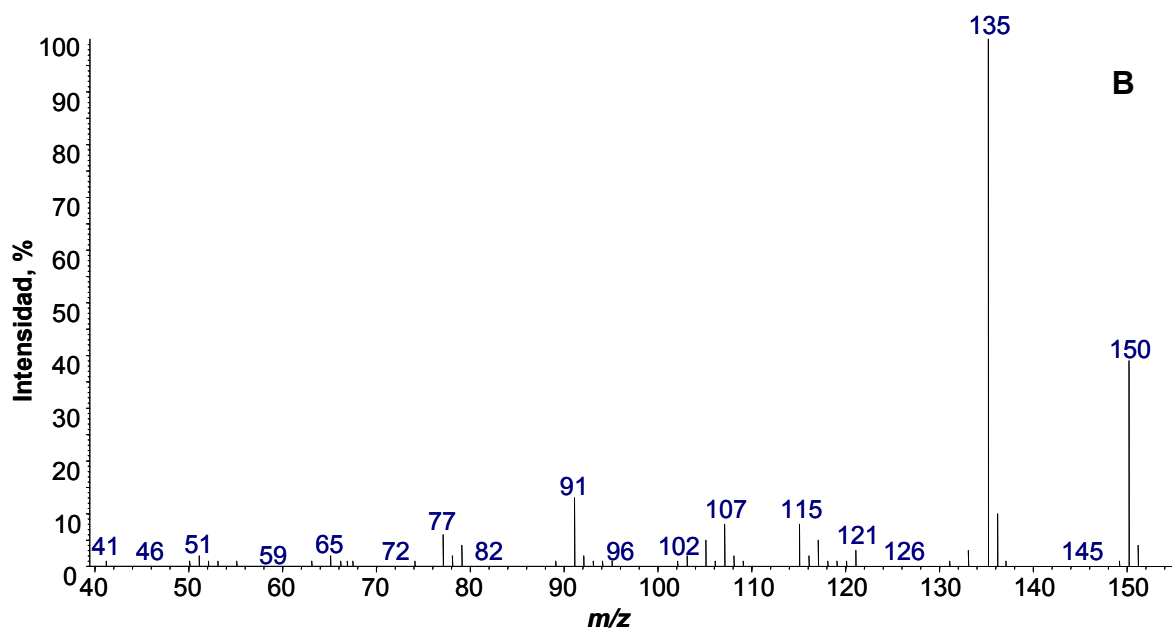
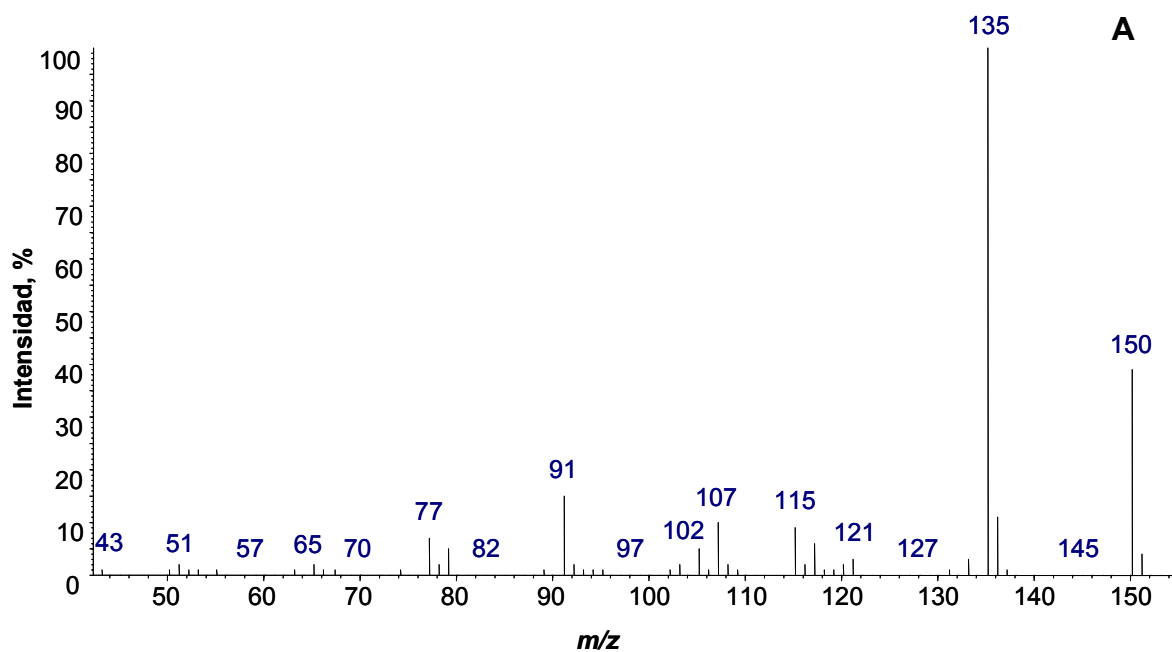
	Literatura [145]	Aceite esencial	Patrón certificado
$I_K$ ( $t^\circ$ programada)	1290	1293	1292
$t_R$ (DB-5, 60 m)		31,86	31,83



**Anexo 1 – Figura 2.** MS del *p*-cimeno. **A.** MS del *p*-cimeno presente en el AE de *Lippia origanoides*, quimiotipo *p*-Cimeno. **B.** Patrón certificado de *p*-cimeno (*Sigma-Aldrich*, 99%).

**Anexo 1 – Tabla 2.**  $I_K$  y  $t_R$  del *p*-cimeno.

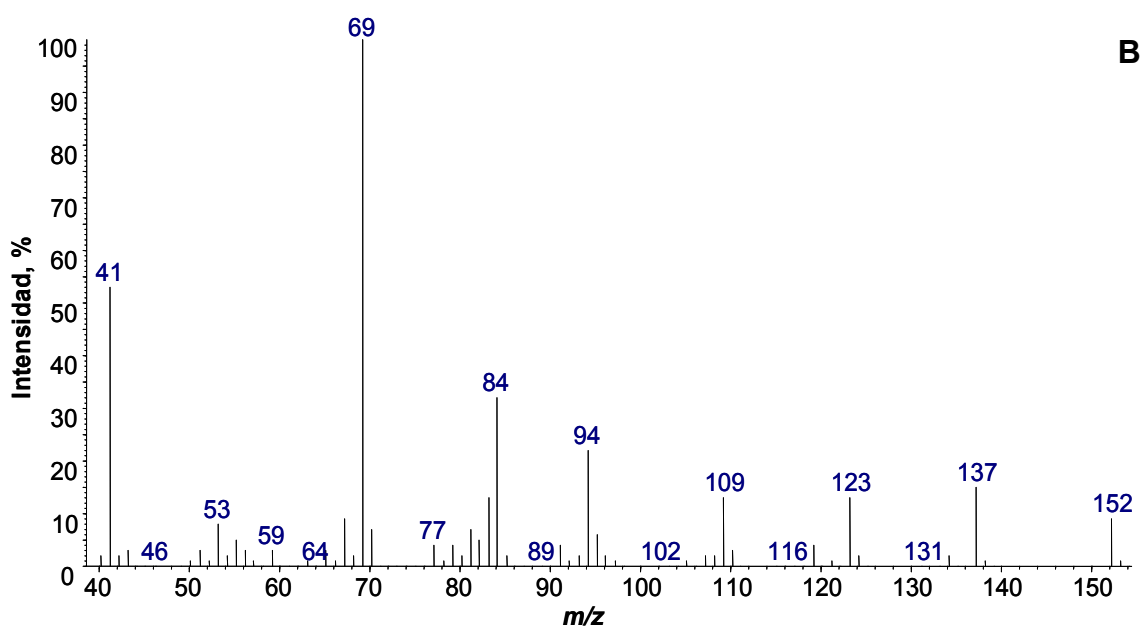
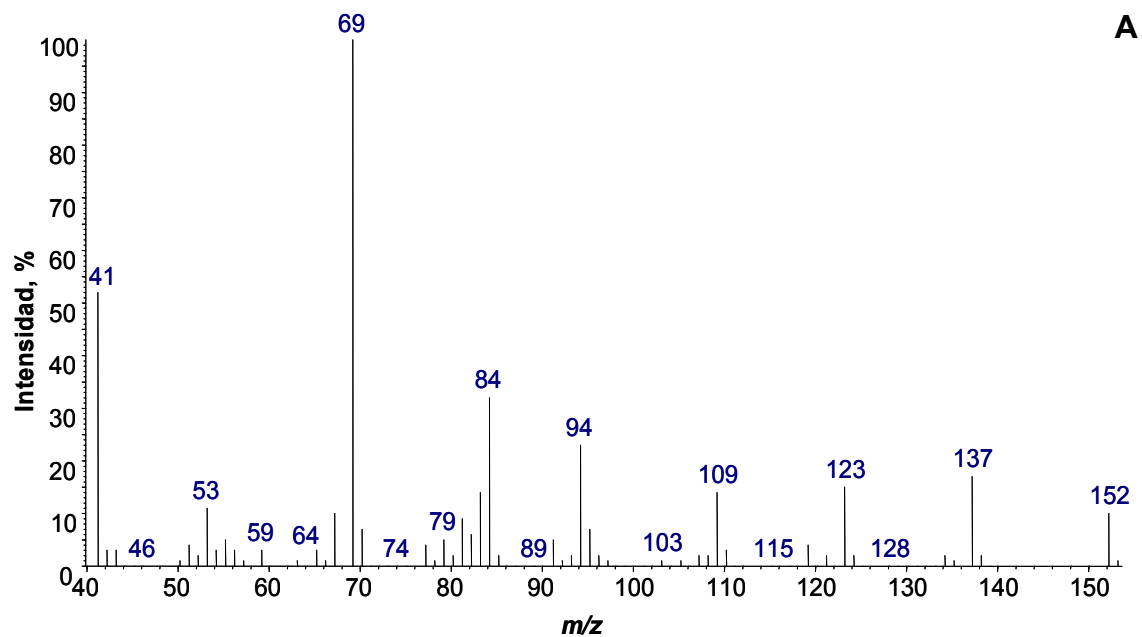
	Literatura [145]	Aceite esencial	Patrón certificado
$I_K$ ( $t^\circ$ programada)	1025	1029	1028
$t_R$ (DB-5, 60 m)		21,53	21,50



**Anexo 1 – Figura 3.** MS del carvacrol. **A.** MS del carvacrol presente en el AE de *Lippia origanoides*, quimiotipo Carvacrol. **B.** Patrón certificado de carvacrol (*Sigma-Aldrich*, 98%).

**Anexo 1 – Tabla 3.**  $I_K$  y  $t_R$  del carvacrol.

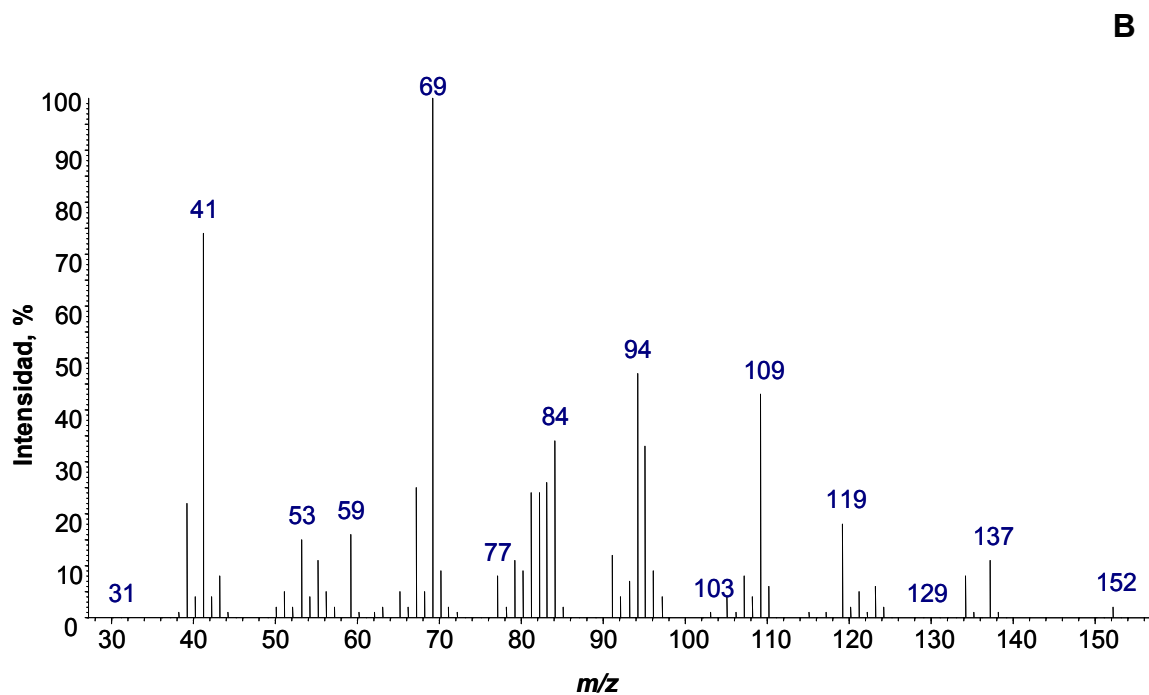
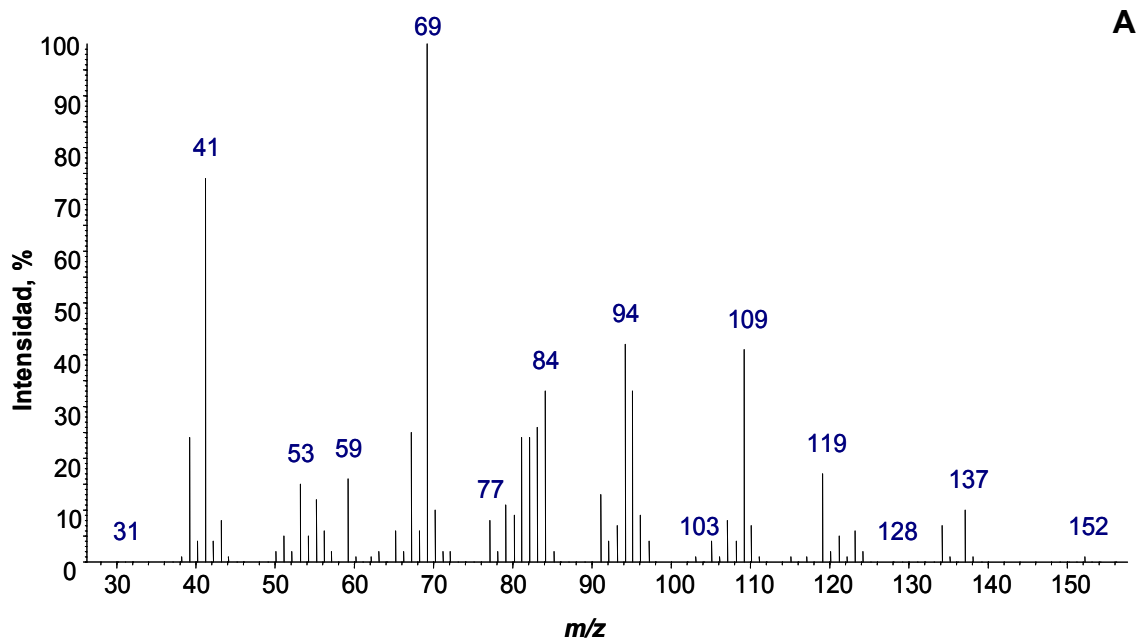
	Literatura [145]	Aceite esencial	Patrón certificado
$I_K$ ( $t^\circ$ programada)	1299	1304	1303
$t_R$ (DB-5, 60 m)		32,19	32,16



**Anexo 1 – Figura 4.** MS del geranial. **A.** MS del geranial presente en el AE de *Lippia alba*, quimiotipo Citral. **B.** Patrón certificado de geranial (*Sigma-Aldrich*, 95%).

**Anexo 1 – Tabla 4.**  $t_K$  y  $t_R$  del geranial.

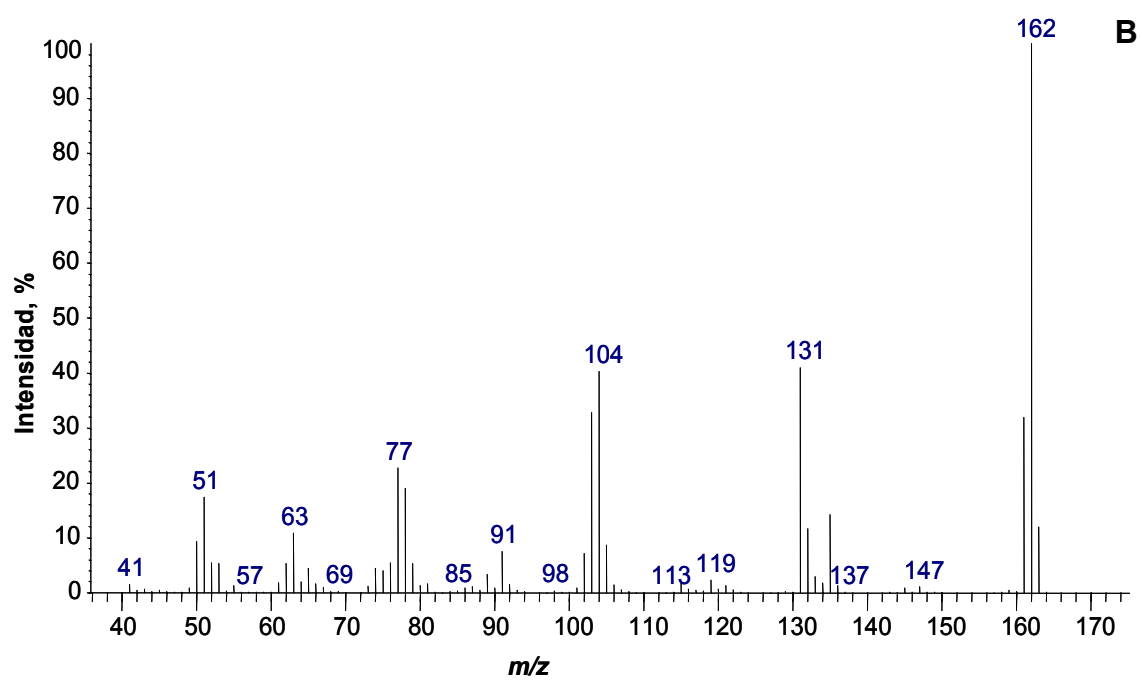
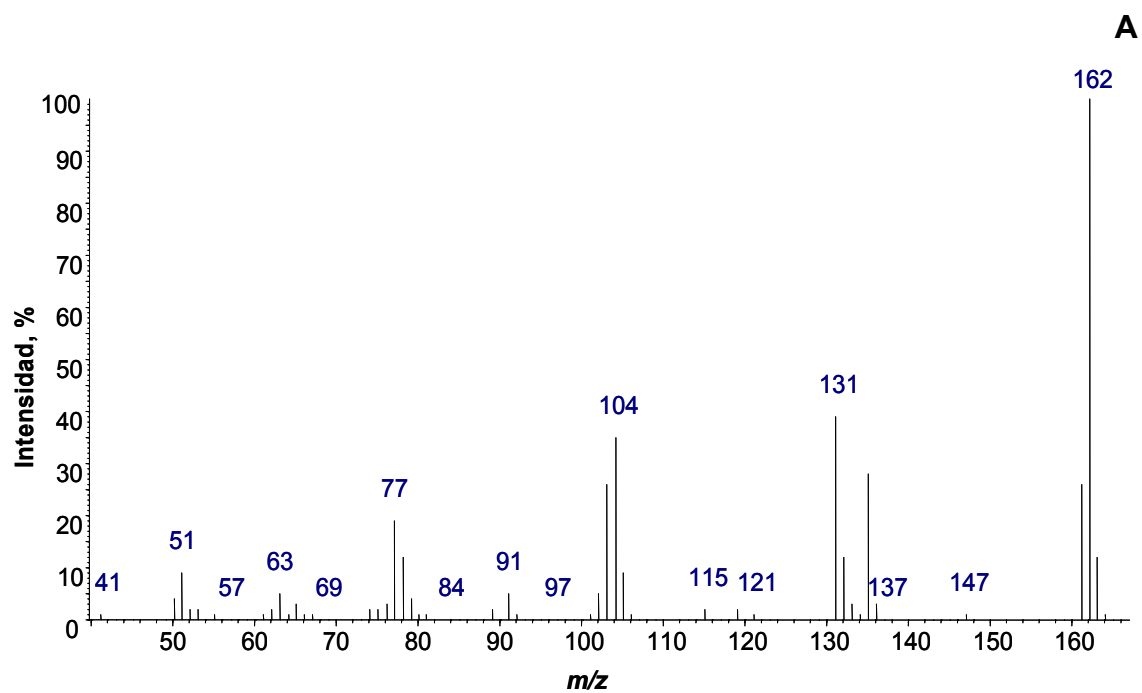
	Literatura [145]	Aceite esencial	Patrón certificado
$t_K$ ( $t^\circ$ programada)	1267	1275	1274
$t_R$ (DB-5, 60 m)		31,09	31,07



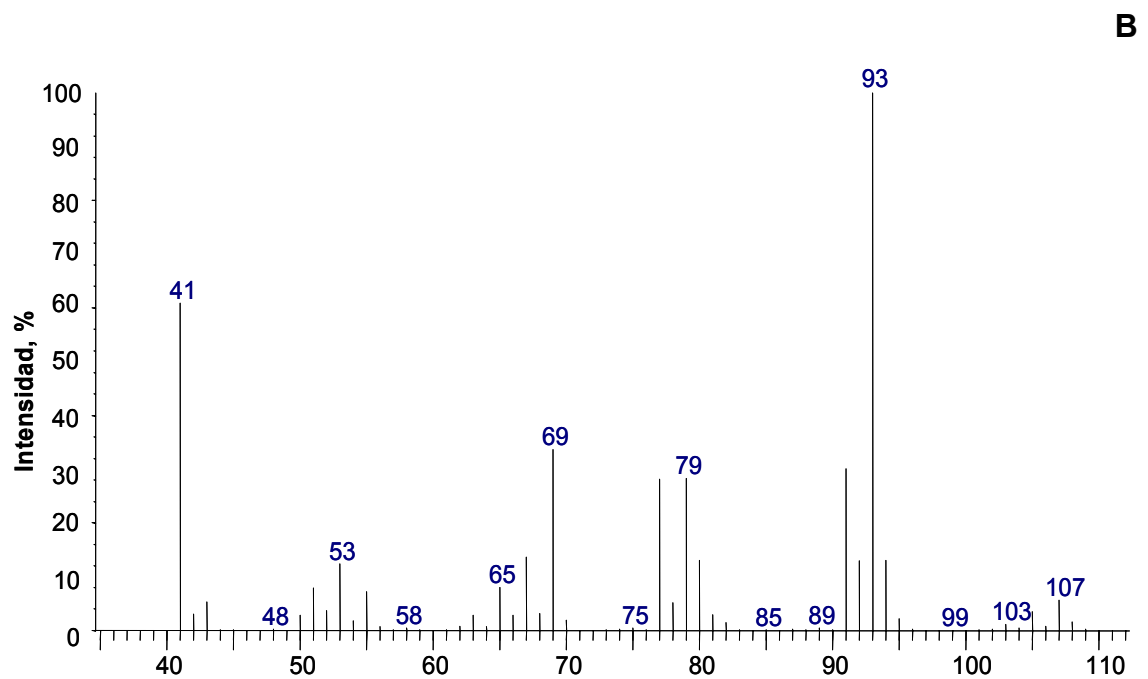
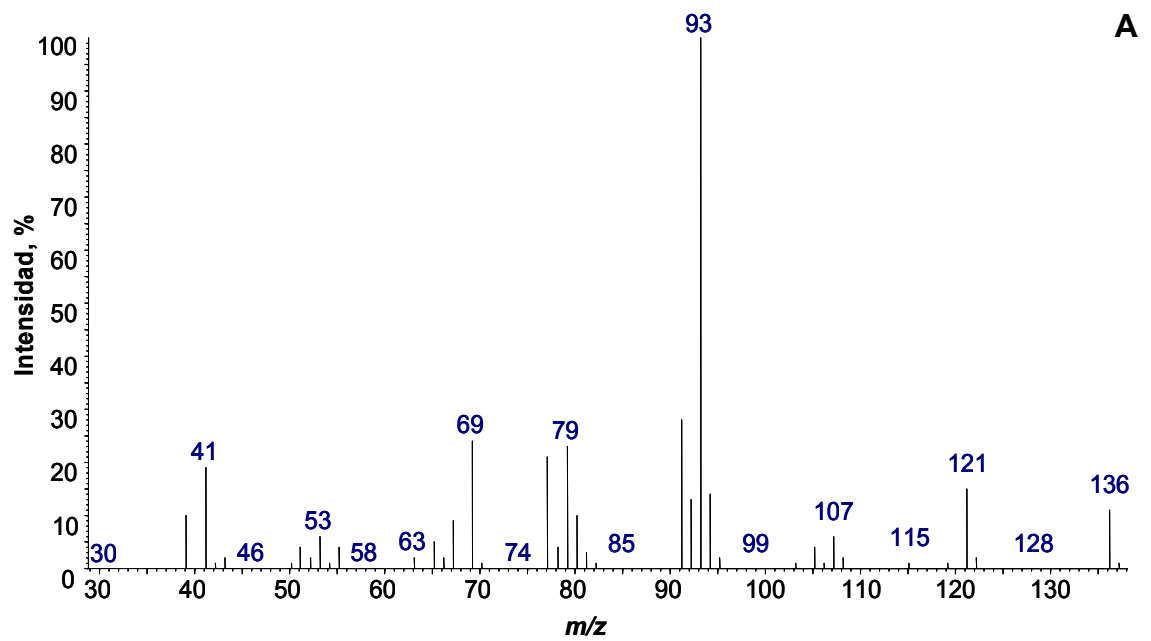
**Anexo 1 – Figura 5.** MS del neral. **A.** MS del neral presente en el AE de *Lippia alba*, quimiotipo Citral. **B.** Patrón certificado de neral (*Sigma-Aldrich*, 95%).

**Anexo 1 – Tabla 5.**  $I_K$  y  $t_R$  del neral.

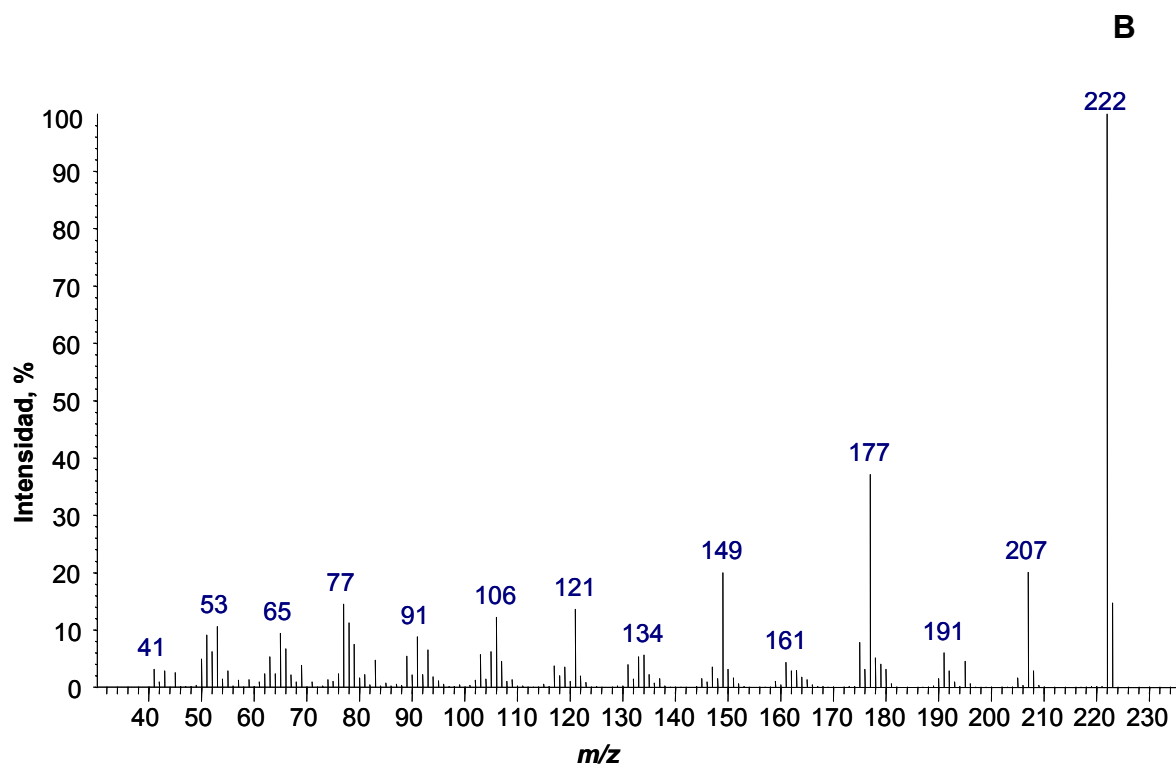
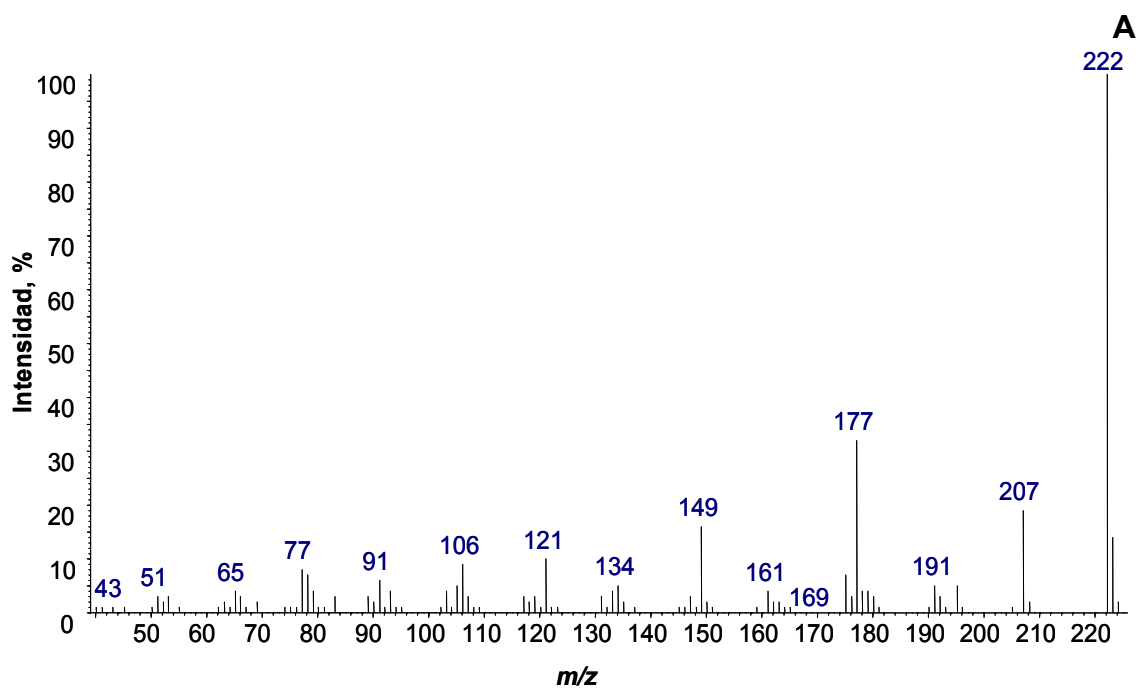
	Literatura [145]	Aceite esencial	Patrón certificado
$I_K$ ( $t^\circ$ programada)	1238	1246	1245
$t_R$ (DB-5, 60 m)		30,04	30,02



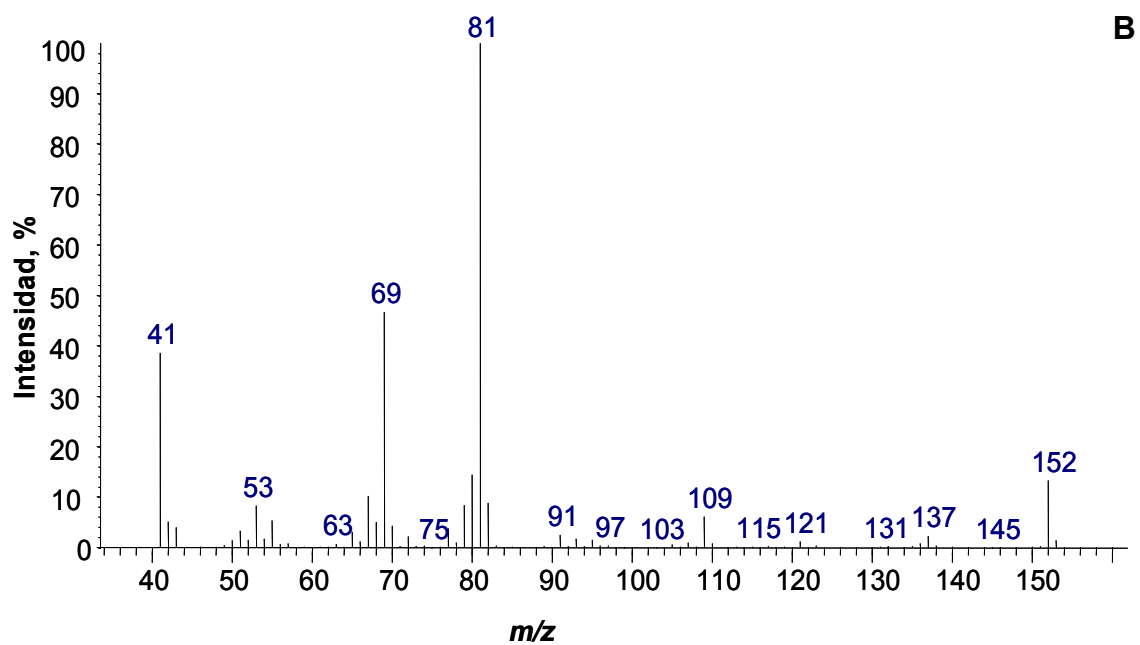
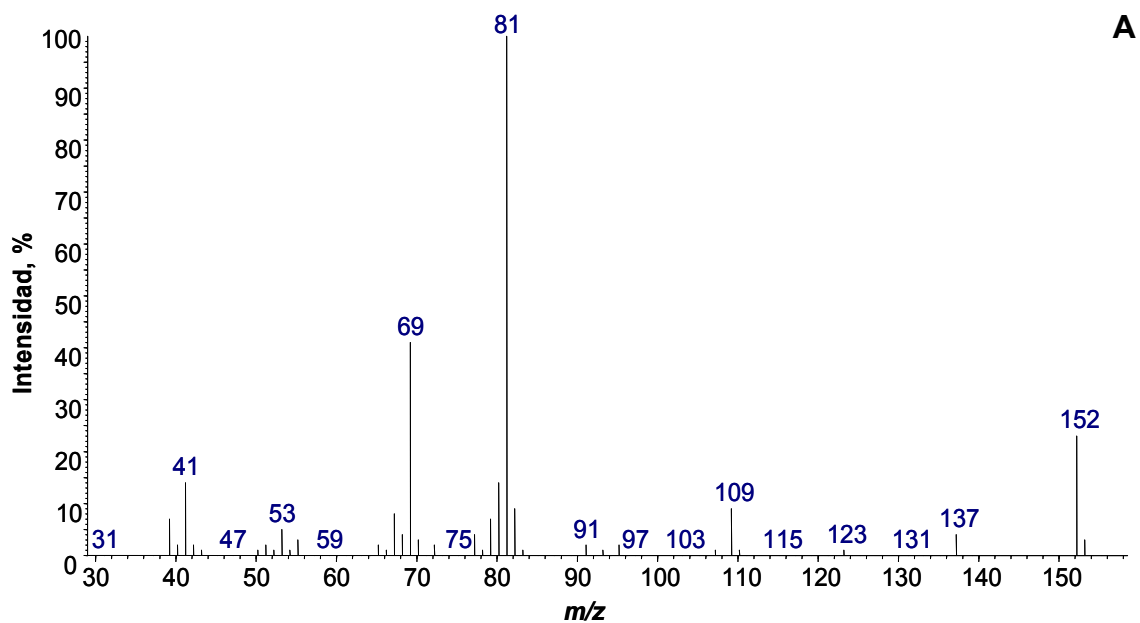
**Anexo 1 – Figura 6.** MS del safrol. **A.** MS del safrol presente en el AE de *Piper auritum*. **B.** MS del safrol de la base de datos *QuadLib2004* (98%)



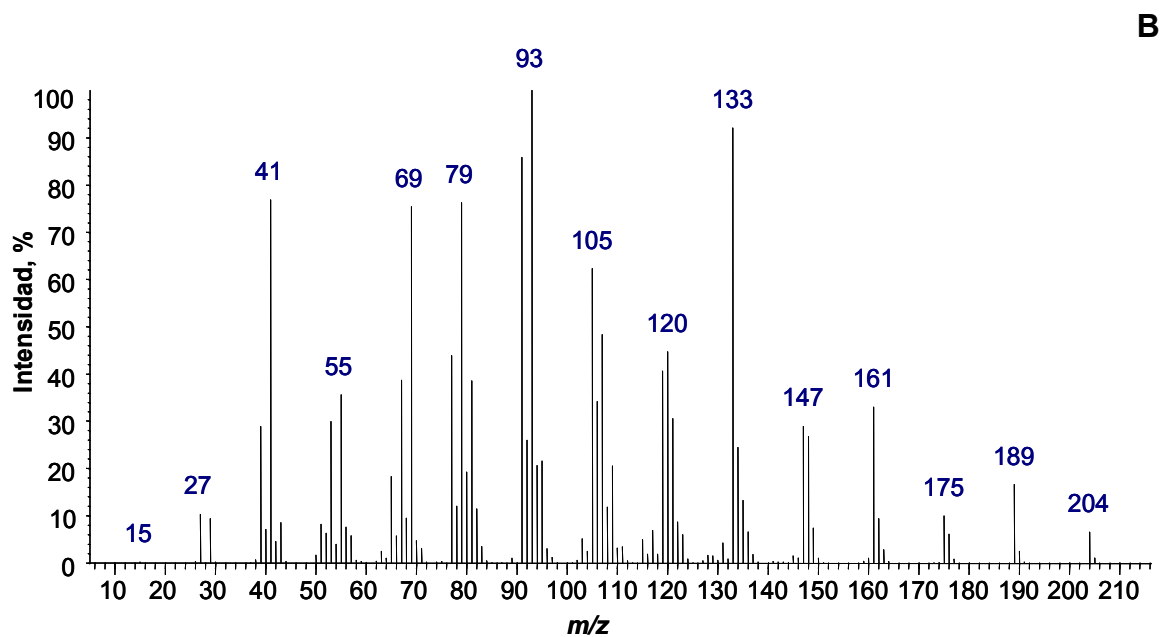
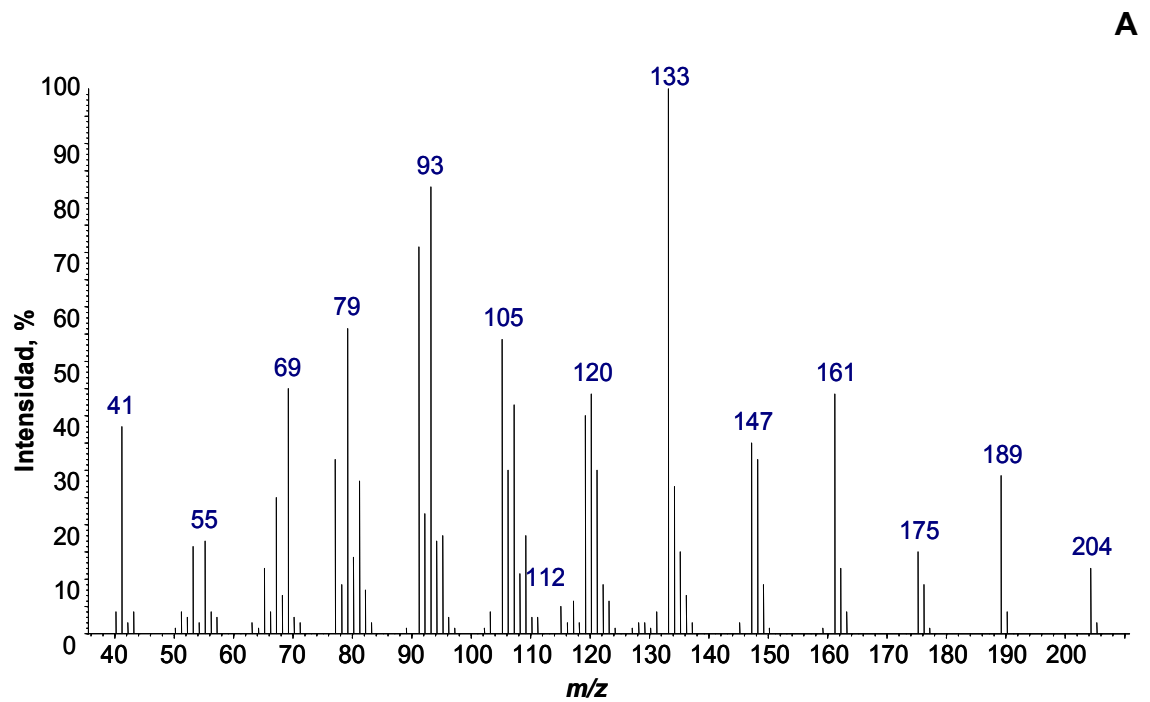
**Anexo 1 – Figura 7.** MS del  $\beta$ -pineno. **A.** MS del  $\beta$ -pineno presente en el AE de *Piper bredemeyeri*. **B.** MS del  $\beta$ -pineno de la base de datos *QuadLib2004* (94%).



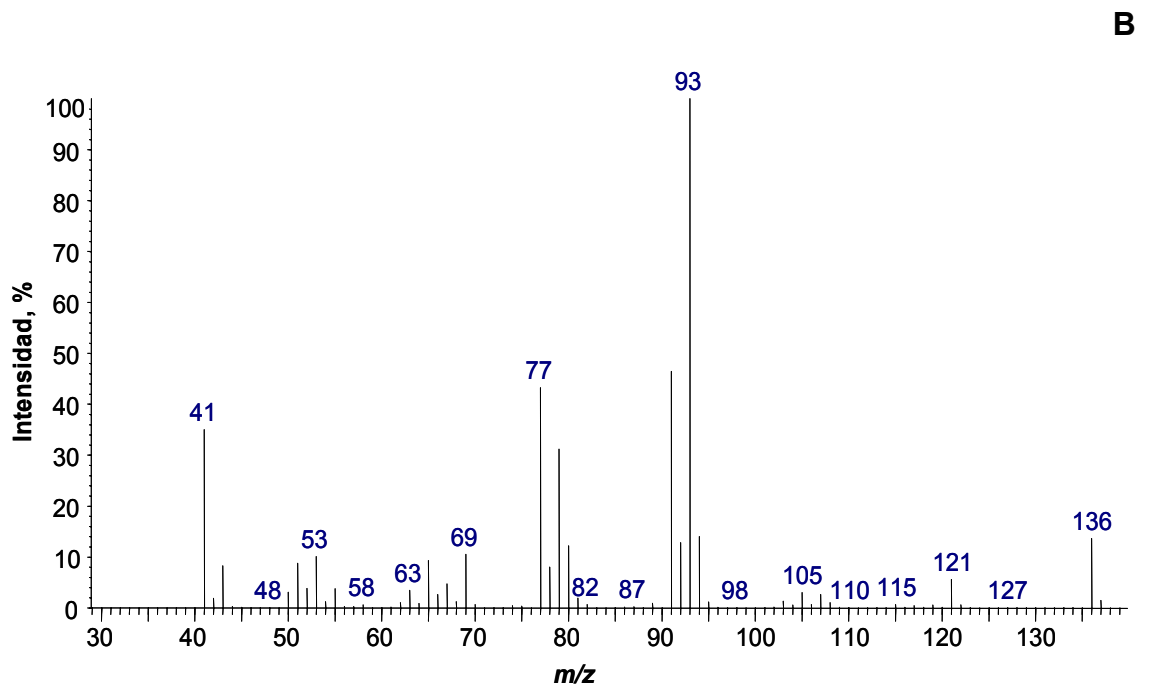
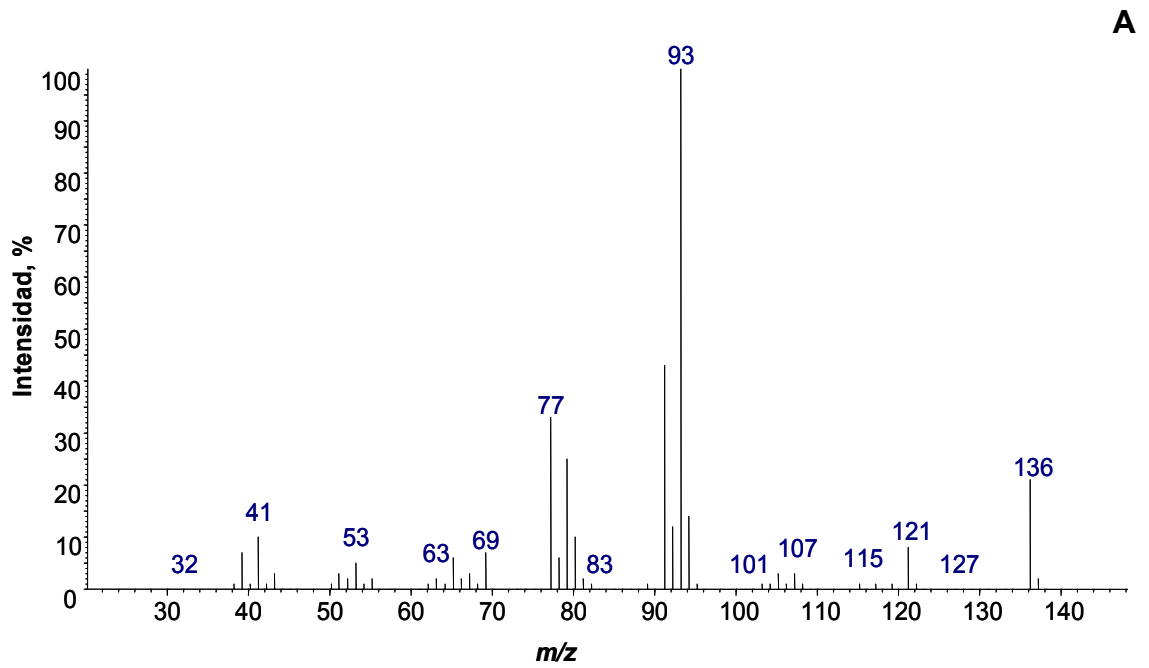
**Anexo 1 – Figura 8.** MS del *dill* apiol. **A.** MS del *dill* apiol presente en el AE de *Piper eriopodon*. **B.** MS del *dill* apiol de la base de datos *QuadLib2004* (99%).



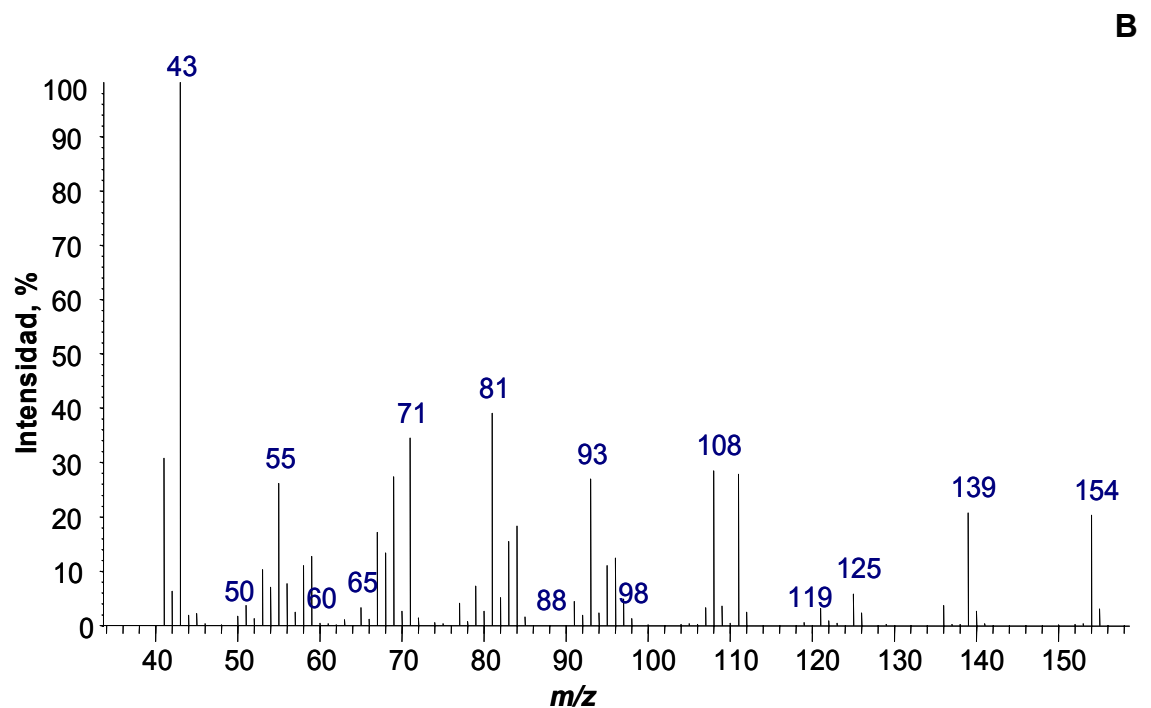
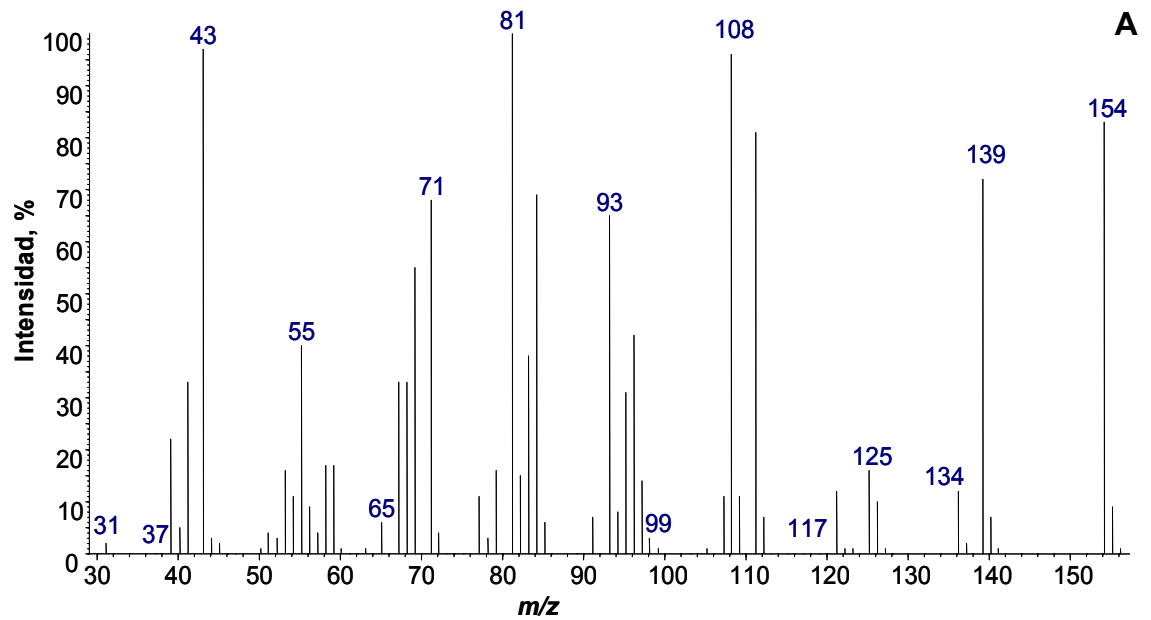
**Anexo 1 – Figura 9.** MS de la fenchona. **A.** MS de la fenchona presente en el AE de *Hyptis mutabilis*. **B.** MS de la fenchona de la base de datos *QuadLib2004* (94%).



**Anexo 1 – Figura 10.** MS del *trans*- $\beta$ -cariofileno. **A.** MS del *trans*- $\beta$ -cariofileno presente en el AE de *Conyza bonariensis*. **B.** MS del *trans*- $\beta$ -cariofileno de la base de datos *QuadLib2004* (99%).



**Anexo 1 – Figura 11.** MS del sabineno. **A.** MS del sabineno presente en el AE de *Hedyosmum racemosum*. **B.** MS del sabineno de la base de datos *QuadLib2004* (95%).



**Anexo 1 – Figura 12.** MS del eucaliptol (1,8-cineol). **A.** MS del eucaliptol presente en el AE de *Calycolpus moritzianus*. **B.** MS del eucaliptol de la base de datos *QuadLib2004* (97%).