



UNIVERSIDAD DE PANAMA
VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSTGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGIA

**SEPARACION E IDENTIFICACION DE TERPENOS EN EL
ACEITE ESENCIAL DE LA HOJA DE
Hyptis dilatata**

POR:

JULIO ALVAREZ BARRIOS

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS CON
ESPECIALIZACIÓN EN ORGÁNICA

PANAMA, REP. DE PANAMA

1999

3151578

adh. del autor

24 JUN 1999

T.M

Dedicatoria

Deseo dedicar con mucho cariño, especialmente a mi esposa Aida de Alvarez por la comprensión, paciencia, tolerancia y sacrificio que demostró en todo momento durante la culminación de este trabajo de investigación. Igualmente a nuestros hijos por haber mantenido una conducta ejemplar.

AGRADECIMIENTO

Deseo agradecer sinceramente al profesor Sergio Quintero por toda la asesoría, ayuda y gentileza que me brindó en todo momento en su laboratorio para la terminación de la tesis de Maestría en Ciencias Químicas.

Agradezco también a la Doctora Nélida Gómez por la ayuda y cooperación brindada en el análisis de la muestra por cromatografía de gas-espectrometría de masas realizada en la Universidad Tecnológica de Braunschweig, Alemania. Además agradezco la asesoría brindada en la interpretación de los espectros de masas.

Agradecemos al Profesor Dionisio Olmedo por su valiosa cooperación en los análisis de bioensayos realizados en el laboratorio de CIFLORPAN.

Nuestro sincero agradecimiento a la Profesora Ana Santana, que en todo momento nos brindó su cooperación.

Queremos dejar constancia de nuestro cordial agradecimiento al Dr. Enrique Murillo por su valiosa cooperación y las sugerencias brindadas en su laboratorio.

Finalmente, agradezco a todos aquellos profesores y amigos que de una forma u otra contribuyeron a la realización de este trabajo.

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL

	Página
Dedicatoria	II
Agradecimiento	III
Indice General	V
Indice De Cuadros	X
Indice de Figuras	XII
Abreviaturas Utilizadas	XIV
I. Resumen	1
II. Introducción	3
III. Revisión de la Literatura.	7
1. Antecedentes	8
2. Distribución, Localización y Función de Aceites Esenciales	10
2.1 Distribución	10
2.2 Localización	11
2.3 Función	11
3. Propiedades de los Aceites Esenciales	12
3.1 Propiedades Físicas	12
3.2 Composición Química	12
3.2.1 Estructura y Nomenclatura	12
3.2.2 Monoterpenos	17
3.2.3 Sesquiterpenos	18
3.2.4 Compuestos Aromáticos	21
3.2.5 Compuestos de Origen Misceláneo	22
4. Presencia de Quimiotipos	23
5. Influencia de Ciclo Vegetativo	24
6. Influencia de Factores Ambientales	24
7. Métodos de Extracción de Aceites Esenciales	25
7.1 Destilación con Vapor	26
7.2 Expresión	26
7.3 Extracción con Solventes Volátiles	27
7.4 Extracción con Grasa	27

	Página
8. Métodos de Separación e Identificación de Componentes en Aceites esenciales	28
8.1 Cromatografía de Capa Delgada	28
8.2 Cromatografía gas-líquido	28
8.3 Cromatografía de gas-espectrometría de Masa	29
9. Propiedades Farmacológicas de los Aceites Esenciales	29
9.1 Actividad Antiséptica	30
9.2 Propiedades Espasmolítica y Sedativa	31
9.3 Propiedades Irritantes	31
10. Toxicidad en Aceites Esenciales	31
11. Almacenamiento de Aceites Esenciales	32
12. Lamiaceae (Labiatae)	33
12.1 Lamiaceae en Panamá	34
12.2 Plantas Medicinales del Género <u>Hyptis</u> en América	34
12.2.1 <u>Hyptis brevipes</u>	34
12.2.2 <u>Hyptis verticilata</u>	35
12.2.3 <u>Hyptis dilatata</u>	35
12.2.4 <u>Hyptis atrorubens</u>	35
12.2.5 <u>Hyptis capitata</u>	36
12.2.6 <u>Hyptis pectinata</u>	36
12.2.7 <u>Hyptis suaveolens</u>	37
12.2.3 Componentes en Aceites Esenciales de Lamiaceae	37
12.3.1 <u>Ocimum basilicum</u> L.	37
12.3.2 <u>Hussopus officinalis</u> L.	38
12.3.3 <u>Lavandula officinalis</u>	39
12.3.4 <u>Lavandula latifolia</u>	39
12.3.5 <u>Lavandin</u>	40
12.3.6 <u>Origanum mayorana</u> L.	40
12.3.7 <u>Melissa officinalis</u> L.	40
12.3.8 <u>Mentha x piperita</u> L.	41
12.3.9 <u>Salvia officinalis</u> L.	41

	Página
12.3.10 <i>Thymus serpyllum</i>	42
12.3.11 <i>Cunila fasciculata</i> y <i>C. microcephala</i>	42
12.3.12 <i>Sideritis congesta</i> , <i>S. condensata</i> , <i>S. argyrea</i> , <i>S. perfoliata</i>	43
12.4 Componentes en Aceites Esenciales del género <i>Hyptis</i>	44
12.4.1 <i>Hyptis emoryi</i>	44
12.4.2 Aceites Esenciales de Algunas Especies del Género <i>Hyptis</i> en El Amazonas	45
12.4.3 <i>Hyptis pectinata</i>	46
12.4.4 <i>Hyptis goyazensis</i> Benth	47
12.4.5 <i>Hyptis suaveolens</i> Poit	47
12.4.6 <i>Hyptis spicigera</i> Lam	50
12.4.7 <i>Hyptis mutabilis</i> Brig	50
12.4.8 <i>Hyptis dilatata</i> Benth	51
IV. Métodos y Materiales	52
1. Clasificación Taxonómica de <i>Hyptis dilatata</i>	53
2. Recolección de la Planta	54
3. Descripción de la Planta	54
4. Destilación	55
5. Análisis del Aceite Esencial de <i>H. dilatata</i>	57
6. Prueba de Solubilidad	58
7. Densidad	58
8. Índice de Refracción	59
9. Actividad Biológica	59
V. Resultados y Discusión	60
1. Determinación de Propiedades Físicas	61
2. Separación, Identificación y Cuantificación de Terpenos en el Aceite Esencial de <i>Hyptis dilatata</i> por medio de la Técnica de Cromatografía de gas-Espectrometría de Masa	62
2.1 Estructuras propuestas para los picos bases observados en la fragmentación de los terpenos identificados	83

	Página
3. Actividad Antimicrobiana del Aceite Esencial de <u>Hyptis dilatata</u>	86
VI. CONCLUSIONES	88
VII. Recomendaciones	91
VIII. Bibliografía Citada	93

INDICE DE CUADROS

INDICE DE CUADROS

No.		Página
1.	Propiedades físicas del aceite esencial de <u>H. dilatata</u>	61
2.	Prueba de solubilidad del aceite esencial de <u>H. dilatata</u>	62
3.	Composición de monoterpenos hidrocarbonados presentes en el aceite esencial de <u>H. dilatata</u>	63
4.	Composición de aceites esenciales de diferentes especies de <u>Hyptis</u>	65
5.	Composición de monoterpenos oxigenados presentes en el aceite esencial de <u>H. dilatata</u>	68
6.	Composición de sesquiterpenos hidrocarbonados presentes en el aceite esencial de <u>H. dilatata</u>	71
7.	Composición de sesquiterpeno oxigenado presente en el aceite esencial de <u>H. dilatata</u>	74
8.	Sesquiterpenos no identificados presentes en el aceite esencial de <u>H. dilatata</u>	75
9.	Índice de retención y fragmentos obtenidos de los espectros de masas de cada componente	80
10.	Peso molecular, fórmula molecular y fórmula estructural de los monoterpenos y sesquiterpenos identificados	82
11.	Actividad antimicrobiana del aceite esencial de <u>H. dilatata</u>	86

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE FIGURAS

No.		Página
1.	Esqueleto del 2,6-dimetiloctano y estructuras tautoméricas posibles	13
2.	Esqueletos de monoterpenos no isoprenoides	14
3.	Esqueletos monocíclicos (p-mentano) y bicíclicos de algunos monoterpenos	16
4.	Ejemplos de estructuras de monoterpenos acíclicos y cíclicos en aceites esenciales	20
5.	Sesquiterpenos encontrados en aceites esenciales	21
6.	Compuestos aromáticos aislados de aceites esenciales	22
7.	Quimiotipos presentes en aceites esenciales.	24
8.	Nuevos sesquiterpenos aislados del aceite esencial de <i>Hyptis suaveolens</i>	48
9.	<i>Hyptis dilatata</i> Benth: A, Forma; B, flores; C, estambres; D. nuececillas	55
10.	Aparato tipo Clevenger usado para la separación de aceites esenciales en plantas	56
11.	Espectros de masas de α -pineno (A) y canfeno (B)	66
12.	Espectros de masas de Δ^3 -careno (A) y limoneno (B)	67
13.	Espectros de masas de 1,8-cineol (A) y alcanfor (B)	69
14.	Espectros de masas de borneol (A) y acetato de bornilo (B)	70
15.	Espectros de masas de β -cariofileno (A) y α -bergamoteno (B)	72
16.	Espectros de masas de alo-aromadendreno (A) y γ -selineno (B)	73
17.	Espectro de masa del ledol	75
18.	Espectros de masas de sesquiterpenos hidrocarbonados no identificados	77
19.	Espectros de masas de sesquiterpenos hidrocarbonados no identificados	78
20.	Espectros de masas de sesquiterpenos oxigenados no identificados	79

CLAVES Y ABREVIATURAS UTILIZADAS

CLAVES Y ABREVIATURAS UTILIZADAS

<u>H</u> :	<u>Hyptis</u>
<u>C</u> :	<u>Cunila</u>
<u>S</u> :	<u>Sideritis</u>
CCD:	Cromatografía de Capa Delgada
CGL:	Cromatografía de Gas-Líquido
CG:	Cromatografía de Gas
EM:	Espectrometría de Masa
PM:	Peso Molecular
FM:	Fórmula Molecular
FE:	Fórmula Estructural
RI:	Índice de Retención
tr:	Trazas
p:	Para
α :	Alfa
β :	Beta
γ :	Gama
%:	Porcentaje
(+):	Rotación dextrorrotatoria
(-):	Rotación levorrotatoria

RESUMEN

RESUMEN

El aceite esencial de la hoja de *Hyptis dilatata* fue aislado por destilación por arrastre con vapor de agua y analizado por cromatografía de gas-espectrometría de masa. Se detectaron 23 componentes, de los cuales 13 fueron identificados. Los componentes identificados fueron borneol (36,05%), ledol (7,09%), acetato de bornilo (5,02%), Δ^3 -careno (2,21%), alcanfor (1,38%), β -cariofileno (0,78%), γ -selineno (0,74%), alo-aromadendreno (0,71%), α -bergamoteno (0,50%), limoneno (0,27%), α -pineno (tr), canfeno (tr) y 1,8-cineol (tr). Los componentes no identificados corresponden a los sesquiterpenos y se encontraron en cantidades de 19,54%, 12,24%, 7,30%, 4,22%, 1,23%, 0,71% y en trazas. El aceite esencial presentó actividad antibacterial.

SUMMARY

The essential oil obtained by steam distillation of the leaf of the *Hyptis dilatata* were isolated and analyzed by gas chromatography/mass spectrometry. Twenty-three components determined, 13 were identified. The components identified were borneol (36,05%), ledol (7,09%), bornil acetate (5,02%), Δ^3 -carene (2,21%), camphor (1,38%), β -carophyllene (0,78%), γ -selinene (0,74%), allo-aromadendrene (0,71%), α -bergamotene (0,50%), limonene (0,27%), α -pinene (tr), camphene (tr) y 1,8-cineole (tr). The components unknowns were sesquiterpenes and were found in 19,54%, 12,24%, 7,30%, 4,22%, 1,23%, 0,71% and in trace. The essential oil showed antibacterial activity.

INTRODUCCION

Hyptis dilatata es una planta conocida con el nombre de botoncillo de perro, utilizadas por los campesinos de San Francisco de la Montaña, Provincia de Veraguas para el tratamiento de la miasis (gusano del ganado), dolor de muela, enfermedades de la piel y desórdenes gastrointestinales.

Es una planta aromática que pertenece a la familia lamiaceae (Labiatae) y sus hojas poseen un olor penetrante. Es considerada un subarbusto, pubescente con pelos uniseriales y glandulares.

En nuestro país hasta la fecha, no hay reporte de estudios fitoquímicos realizados con el aceite separado de la hoja de Hyptis dilatata.

Los aceites esenciales obtenidos de las hojas de otras especies del género Hyptis han presentado actividad antibacterial, antimicótica, antitusiva, tumorigénica y antiinflamatoria. Los monoterpenos y sesquiterpenos son los principales terpenos que presentan los aceites esenciales.

El objetivo principal de nuestro trabajo de investigación ha sido dirigido hacia la separación e

identificación de los constituyentes bioactivos presentes en el aceite esencial de la hoja de Hyptis dilatata por la técnica de cromatografía de gas-espectrometría de masa y determinar algunas propiedades antibacteriales del aceite esencial contra Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella gallinarum, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa y Micobacterium smegmatis.

Nuestro trabajo de investigación desea estimular la selección, recolección, conservación y comercialización de plantas aromáticas que se usan medicinalmente sobre todo especies de la familia Lamiaceae para su estudio fitoquímico, ya que en nuestro país se ha estudiado muy poco.

Los resultados obtenidos del aceite esencial de la hoja de Hyptis dilatata contribuirán con la quimiotaxonomía del género Hyptis.

El género Hyptis perteneciente a la familia Lamiaceae está compuesto de aproximadamente 400 especies que se encuentran en la América Tropical. En nuestro país, aproximadamente 20 especies del género Hyptis han sido localizadas. Muchas de estas plantas son completamente aromáticas y poseen propiedades medicinales.

23 componentes volátiles (monoterpenos y sesquiterpenos) del aceite esencial de la hoja de Hyptis dilatata fueron separados, de los cuales 13 fueron identificados y presentaron actividad antibacterial.

REVISION DE LITERATURA

REVISIÓN DE LITERATURA

1. ANTECEDENTES:

La historia de la aromaterapia nos acerca al hombre prehistórico, quien ya había descubierto que algunas plantas, al quemarlas, desprendían olores agradables y vapores saludables. Estas potentes sustancias aromáticas (aceites esenciales) eran utilizadas para fines curativos.

Los egipcios, verdaderos maestros en tratar plantas aromáticas, las emplearon con fines terapéuticos, mágicos y litúrgicos, y probablemente alcanzaron el grado de destilación adecuado para obtener esencias como la de cedro, canela y trementina, utilizada para conservar el cuerpo tanto vivo como muerto (1).

Para egipcios y griegos los perfumes eran de origen divino. Teofrasto en su "Tratado de los olores", define y clasifica los aromas y sabores de las plantas officinales (1). Hipócrates señaló la importancia de las inhalaciones con vapores de plantas aromáticas (1).

Avicena, médico y filósofo árabe, es considerado el descubridor del método de la destilación de los aceites esenciales (1).

En los años 30, el químico francés René-Maurice Gattefosse descubrió que muchos de los aceites esenciales utilizados en su empresa de perfumes eran mejores antisépticos que los productos químicos añadidos para este fin a los perfumes y aceites esenciales (1).

En 1964, el francés Jean Valnet, comprobó la eficacia de los aceites esenciales en el tratamiento de las heridas de los soldados durante la Segunda Guerra Mundial (1).

La mayor parte de los constituyentes mas simples de los aceites esenciales en la serie de los terpenos son los monoterpenos y sesquiterpenos.

Los monoterpenos se originan de la unión cabeza-cola de dos unidades de isopreno. Estas sustancias constituyen un importante grupos de hidrocarburos, alcoholes y cetonas, que son los componentes mayoritarios de los aceites esenciales obtenidos de hojas, raíces, flores, frutos y corteza de varias plantas, algas y animales (2). Se han aislado y caracterizado derivados halogenados en algas y están ampliamente en plantas superiores, especialmente en ciertas familias y órdenes (3). Tradicionalmente, monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos aromáticos (fenil propanos) son componentes de los aceite esenciales de las plantas (4).

Los sesquiterpenos son formados por la unión de tres moléculas de isopreno y, en algunos casos, presentan excepciones a la unión cabeza-cola postulada por la regla del isopreno. Un número muy grande de sesquiterpenos son constituyentes comunes de los aceites esenciales de plantas superiores y a semejanza de los monoterpenos suelen ser líquidos a la temperatura ambiente, con los consiguientes problemas de purificación que ello implica (2). Entre los derivados oxigenados se han encontrados alcoholes, epóxidos y cetonas sesquiterpénicas (2).

2. DISTRIBUCION, LOCALIZACION Y FUNCION DE ACEITES ESENCIALES

2.1 Distribución:

Los aceites esenciales se encuentran en plantas superiores. Están distribuidos en cerca de 50 familias, muchas de las cuales pertenecen al orden de las Lamiales, Asterales, Rutales, Laurales o Magnoliales (3).

Los aceites esenciales se acumulan en todos los tipos de órganos vegetales: flores, hojas, aunque con menos frecuencias en la corteza, madera, raíz, rizomas, frutos y semillas (3).

En una especie dada, un aceite esencial puede hallarse en todos los órganos, pero la composición de este aceite puede variar con la localización.

Los rendimientos obtenidos de aceites esenciales de plantas son bastante bajos, a menudo menos del 1% (3).

2.2 Localización:

La síntesis y acumulación de aceites esenciales están generalmente asociadas con la presencia de estructuras especializadas, a menudo localizadas sobre o cerca de la superficie de la planta.

2.3 Función:

En la mayoría de los casos, la función biológica de los aceites esenciales permanece sin aclarar. Sin embargo, ellos tienen un papel ecológico. Esta hipótesis es sostenida por experimentos que demuestran el papel de algunos terpenoides en interacciones con plantas (agentes alelopático, particularmente inhibidores de germinación), así como en interacciones planta-animal: protección contra depredadores (insectos, hongos) y atracción de especies polinizantes (3). Para algunos autores, los terpenoides podrían mantener algunos tipos de comunicaciones, especialmente si se tiene en cuenta su variedad estructural para la transferencia selectiva de "mensajes biológicos" (3).

3. PROPIEDADES DE LOS ACEITES ESENCIALES

3.1 Propiedades físicas:

Los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente, volátiles, el cual lo diferencia de los "aceites fijos". Ellos son raramente coloreados. Poseen índice de refracción alto y la mayoría giran el plano de la luz polarizada. Son solubles en disolventes orgánicos comunes y liposolubles. Pueden ser aislados por destilación con vapor y son moderadamente solubles en agua. Por el hecho de ser solubles en agua, imparten una fragancia distinta al agua (tal disolución es conocida como agua aromática).

Los terpenos que se encuentran en los aceites esenciales se clasifican en: monoterpenos y sesquiterpenos con C_{10} y C_{15} isoprenoides respectivamente, los cuales difieren en sus puntos de ebullición (monoterpenos 140° - 180° y sesquiterpenos $>200^{\circ}C$ (2)).

3.2 Composición química:

3.2.1 **Estructura y nomenclatura**

Los aceites esenciales están formados principalmente por una mezcla de monoterpenos. Estos compuestos son derivados del isopreno por condensación de varias moléculas de isopreno. En las uniones de las unidades de isopreno, pueden formarse cadenas abiertas, o "terpenos acíclicos", y

cerradas, o "terpenos cíclicos". Los terpenos acíclicos adoptan siempre la nomenclatura tradicional (5).

Los terpenos monocíclicos y bicíclicos tienen una nomenclatura especial basadas en unas formas típicas que reciben nombres específicos asistemáticos y que sirven de base para las modificaciones a partir de ellas. Naturalmente, estas formas pueden recibir denominaciones mas sistemáticas, y se usan unas u otras en función del entorno de utilización (5).

Las estructuras de los monoterpenos acíclicos se basan generalmente, salvo algunas excepciones, en el esqueleto del 2,6-dimetiloctano formado por adición 1,4 de unidades isopentano. Estos compuestos contienen por lo menos un doble enlace, fig. 1.

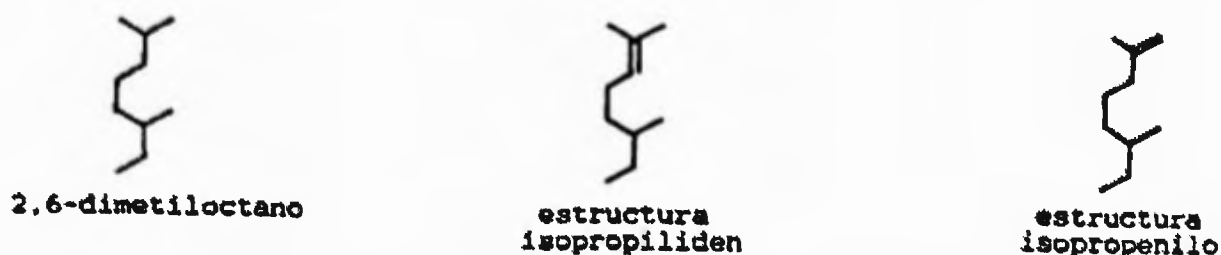


Fig. 1. Esqueleto del 2,6-dimetiloctano y estructuras tautoméricas posibles.

En el grupo de los monoterpenoides acíclicos también se consideran los monoterpenoides no isoprenoides que son los relacionados con el ácido crisantémico, y los grupos del "odd" artemesil, santolenil y lavandulil, en que las unidades isoprenicas no están unidas cabeza-cola, tal como se ilustra en la figura 2.



Fig. 2. Esqueletos de monoterpenoides no isoprenoides.

La gran mayoría de monoterpenos monocíclicos poseen esqueletos carbonados derivados del p-mentano. El resto se divide en dos grupos, uno de los cuales posee esqueletos derivados de ciclohexanos metilados y otro que incluyen compuestos derivados de ciclopentano. Por la flexibilidad e importancia de este grupo de sustancias, el principal problema estereoquímico está ligado con el de isomería cis-trans y, en general, se cumple una regla mucho más amplia que prevé en términos conformacionales la estructura menos estable del ciclohexano es la que posee mayor números de constituyentes axiales.

Los principales hidrocarburos y derivados oxigenados monoterpénicos bicíclicos poseen esqueletos carbonados del

tipo de los hidrocarburos saturados: tuyano, carano, pinano, canfano, isocanfano, fenchano e isobornilano, los cuales como tales no son productos naturales (2). El esqueleto del p-mentano y de algunos hidrocarburos saturados bicíclicos aparecen en la fig. 3.

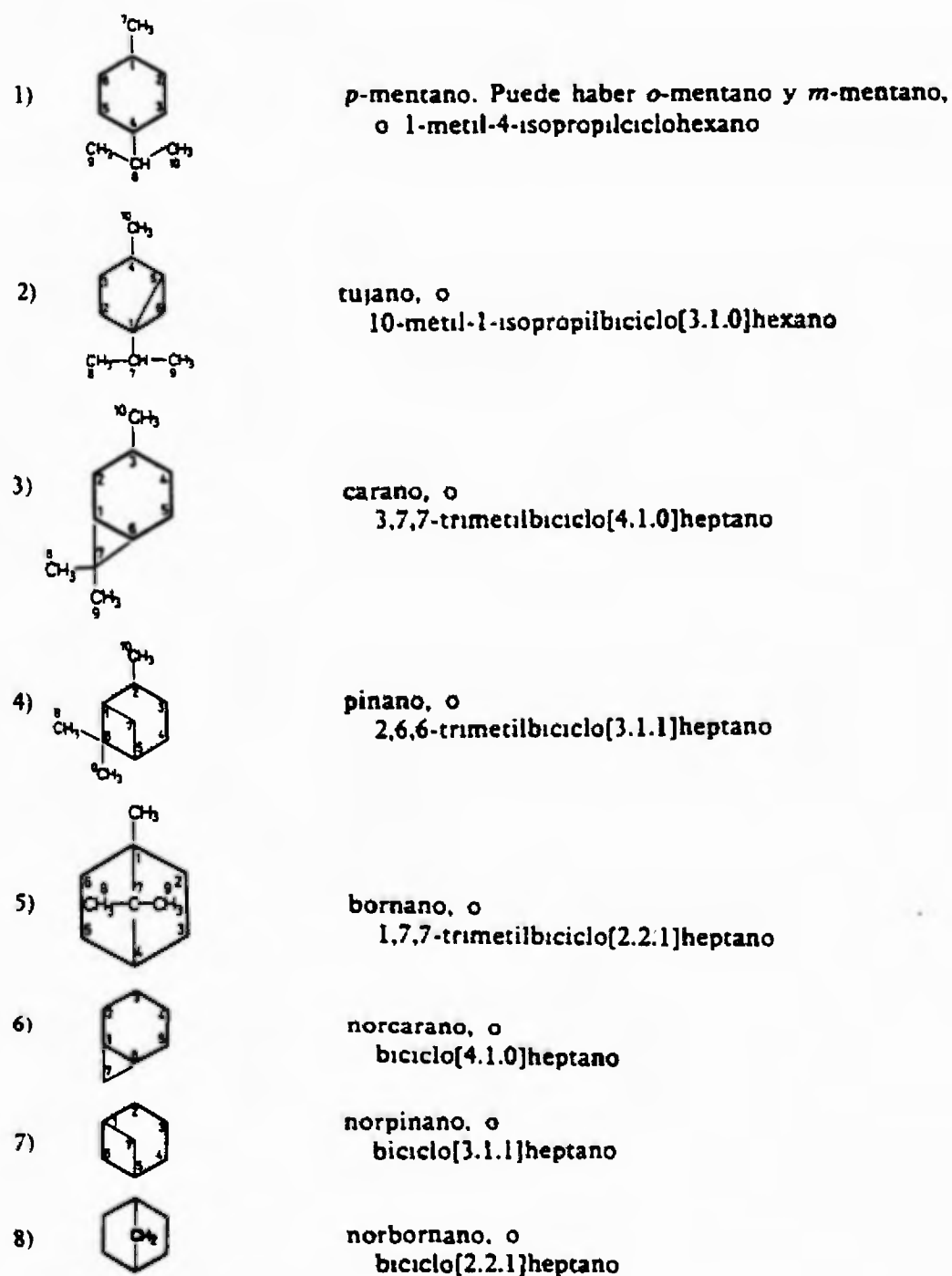


Fig. 3. Esqueletos monocíclico(*p*-mentano) y bicíclicos de algunos monoterpenos.

El prefijo "nor" es un sustractivo general en química orgánica para el grupo $-CH_3$. En realidad lo que se sustrae es CH_2 porque un hidrógeno ha de ocupar la valencia libre que queda en la estructura al abandonar ésta el radical metilo (4). Aquí está usado específicamente: elimina todos los grupos metilos en la estructura a la que se aplica (bornano, norbonano, pinano, norpinano, carano, norcarano), fig. 3.

3.2.2. **Monoterpenos**

Son constituyentes volátiles de los aceites esenciales juntos con los sesquiterpenos y algunos aromáticos. Los hidrocarburos están casi siempre presente. Ellos se dividen en tres grupos: acíclico (mirceno, ocimeno), monocíclico (α - y γ -terpineno, p-cimeno), o bicíclico (pineno, 3-careno, canfeno, sabineno). Algunas veces, ellos constituyen mas del 90% de los aceites esenciales (3). Dentro de cada grupo, los monoterpenos pueden ser hidrocarburos insaturados simples o pueden tener grupos funcionales y pueden ser alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y éteres. A continuación se mencionan algunos y sus estructuras se observan en la fig. 4.

Alcoholes: acíclico (geraniol, linalol, citronelol), monocíclico (mentol, α -terpineol, l-terpineno-4-ol) o bicíclico (borneol, fenchol).

Aldehídos: acíclico-(geranial, neral, citronelal).

Cetonas: acíclico (tagetona), monocíclico (mentona, carvona, pulegona) o bicíclico (alcanfor, fenchona, tuyona).

Esteres: acíclico (acetato de linalilo, acetato de citronelilo), monocíclico (acetato de metilo) o bicíclico (acetato de isobornilo).

Eteres: 1,8-cineol, 1,4-cineol.

Peróxidos: ascaridol.

Fenoles: timol, carvacrol.

Cuando la molécula es ópticamente optiva, los dos enantiómeros, están a menudo presentes en diferentes plantas. Por ejemplo el (+)- α -pineno está presente en el *Pinus palustris* y el (-)- β -pineno en el *Pinus caribea* y *Pinus pinaster* (3).

3.2.3 Sesquiterpenos

Las variaciones estructurales en esta serie son de la misma naturaleza como en los monoterpenos, con

hidrocarburos, alcoholes y cetonas siendo los más comunes. Los sesquiterpenos se clasifican en tres grupos principales, según si son acíclico, monocíclico o bicíclico. En la figura 5 se presentan las estructuras de algunos sesquiterpenos característicos de los aceites esenciales: hidrocarburos (β -bisaboleno, β -cariofileno, longifoleno), alcoholes (farnesol, carotol, β -santalol, patchoulol), cetonas (notcatona, cis-longipinano-2,7-diona, β -vetivona), aldehídos (sinensales), y ésteres (acetato de cedrilo).

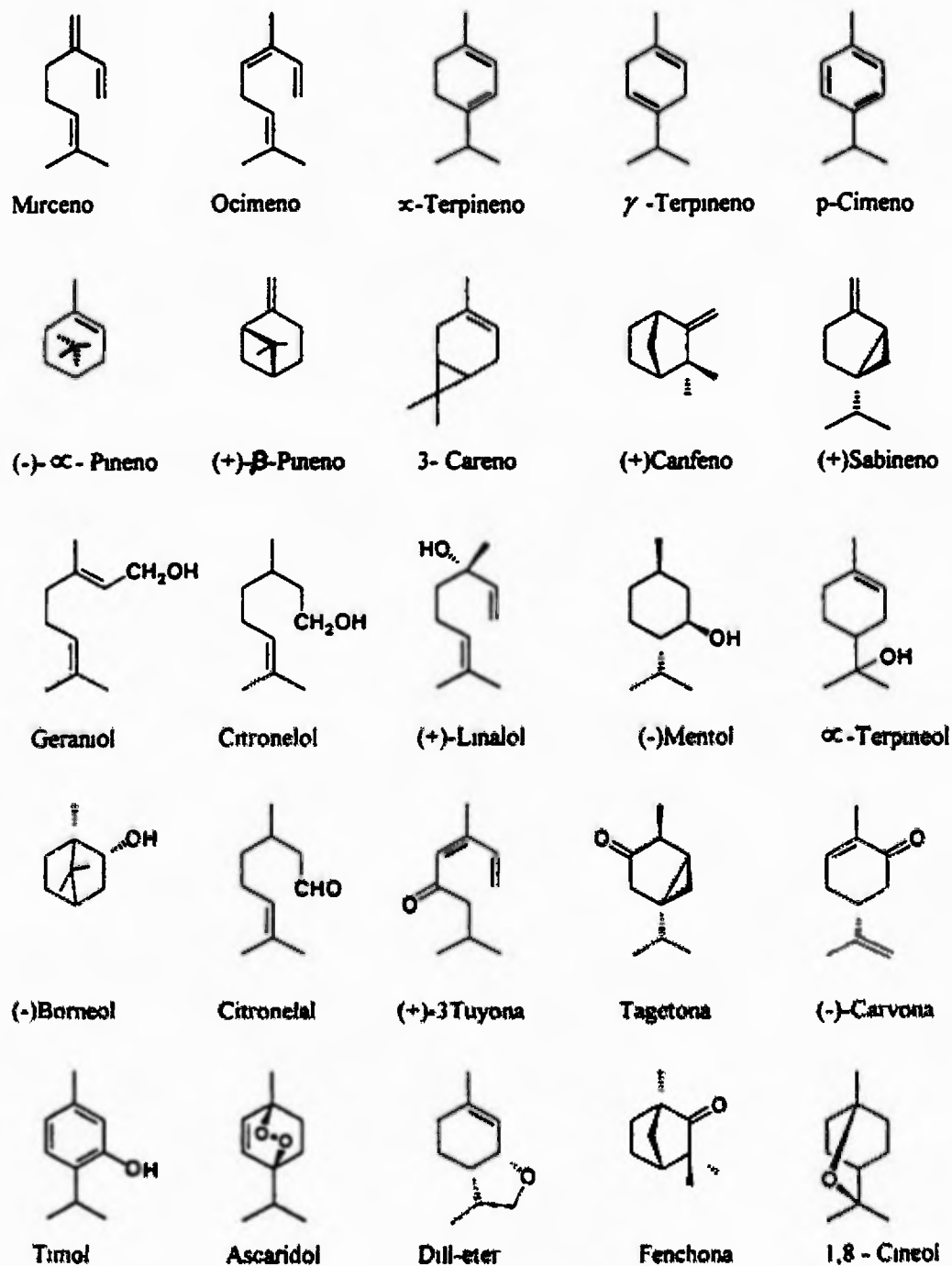


Fig. 4. Ejemplos de estructuras de monoterpenos acíclicos y cíclicos en aceites esenciales.

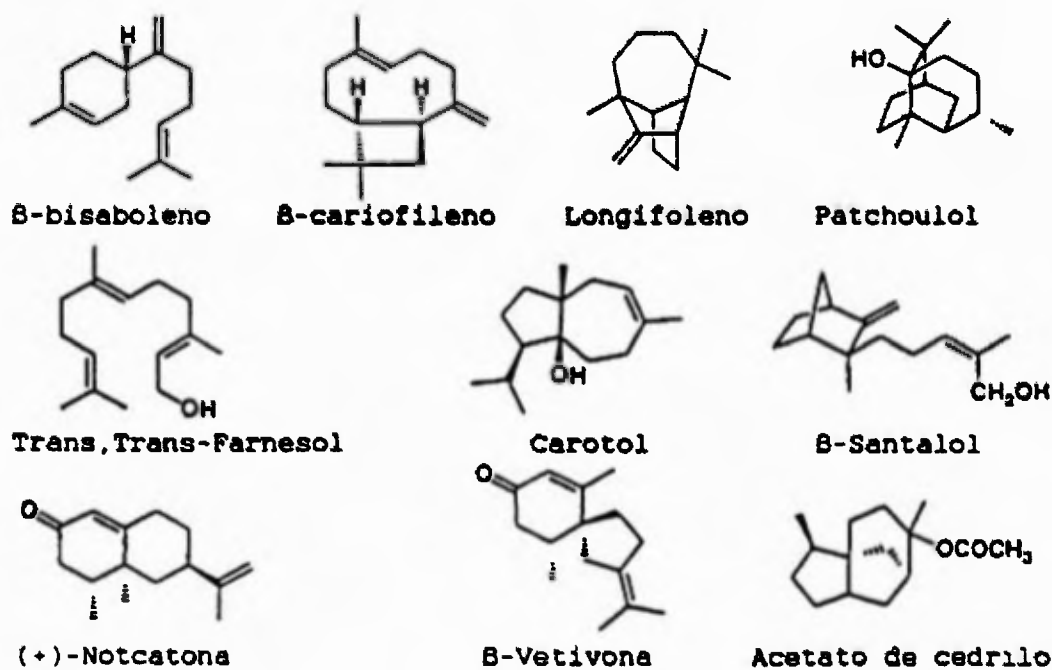


Fig. 5. Sesquiterpenos encontrados en aceites esenciales.

3.2.4 Compuestos aromáticos:

Los fenilpropanoides (C_6-C_3) son menos comunes que los terpenoides. A menudo, son alilo y propenilfenoles y algunas veces, ellos son aldehídos característicos de ciertos aceites de Apiaceae (anis, hinojo, perejil: anetol, anisaldehído, apiol, metilchavicol), pero también los clavos de olor, nuez moscada, estragón, canela y mas (eugenol, miristicina, asaronas, cinamaldehído). Compuestos C_6-C_1 tales como vainillina o antranilato de metilo, también están presente en aceites esenciales (3), figura 6.

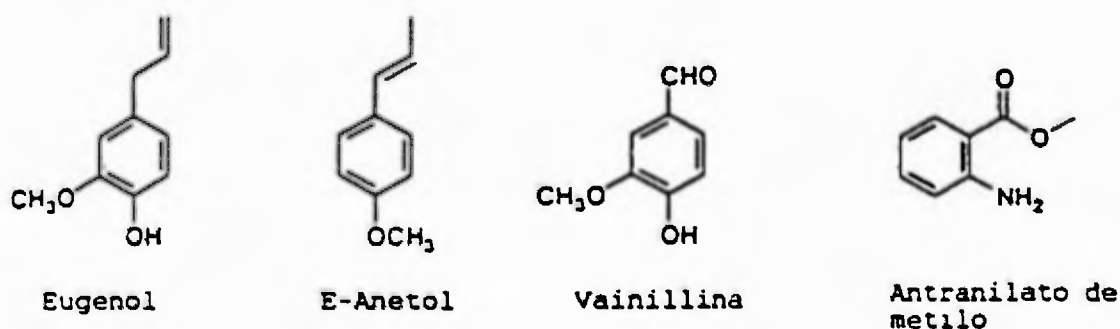


Fig. 6. Compuestos aromáticos aislados de aceites esenciales.

3.2.5 Compuestos de orígenes misceláneo:

Dado su forma de preparación, los aceites esenciales pueden contener varios compuestos alifáticos, generalmente de peso molecular bajo, que son extraídos por destilación con vapor: hidrocarburos (lineal o ramificado, saturado o no), ácidos (C₃ a C₁₀), alcoholes (3Z)-hexen-1-ol de té negro, o 1-octen-3-ol de aceite esencial de lavanda), aldehídos (octanal, decanal de cítricos, (2E)-hexenal, ésteres acíclico (principalmente en frutas), o lactona (γ-decalactona). Los compuestos conteniendo nitrógeno o azufre son característicos de productos asados en parrilladas, y son excepcionales entre los productos naturales (3).

En definición, los componentes de peso molecular alto no son raros y no son aislados por destilación con vapor.

Ellos son homólogos de los fenilpropanoides, diterpenos y cumarinas.

4. PRESENCIA DE QUIMIOTIPOS

Los quimiotipos, también referidos como una especie química, son muy comunes entre las plantas que contienen aceites esenciales. Uno de los mejores ejemplos es el timo (*Thymus vulgaris* L.) del área occidental del Mediterráneo. Esta especie, el cual es morfológicamente homogénea y tiene un cariotipo estable, tiene siete quimiotipos diferentes: seis en las tierras áridas del sur de Francia (con uno u otro timol, carvacrol, geraniol, linalol, α -terpineol, o con ambos trans-4-tujanol y cis-8-mircenol) y uno en España (con cineol) (3). El mismo fenómeno es observado para otras especies de timo, pero además para otras Lamiaceae, quimiotipos como el timol y carvacrol han sido descubiertos en algunas especies de *Tymbra*, *Satureja*, *Majorana*, *Origanum* y *Corydthymus*. Para dar otro ejemplo, hay dos quimiotipos de los pinos de Escocia o Noruega de la región de Auvergne de Francia. El tipo A, en el cual, el catión terpenilo se cicla principalmente a pinenos y el tipo B, en que el mismo catión se cicla principalmente a 3-careno y terpinoleno (3), figura 7.

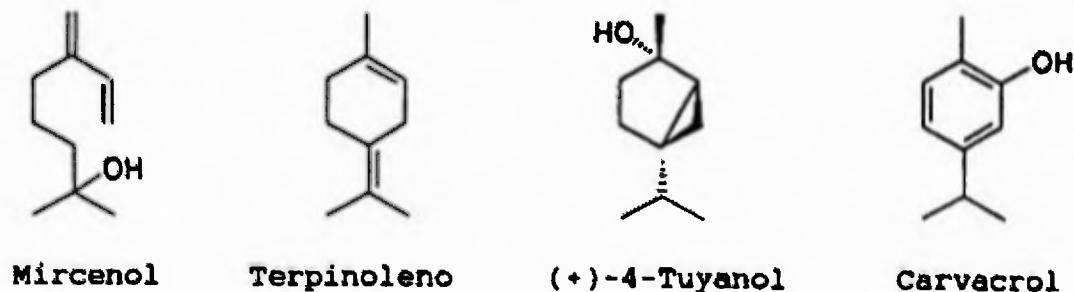


Fig. 7. Quimiotipos presentes en aceites esenciales.

5. INFLUENCIA DEL CICLO VEGETATIVO

Para una especie dada, las proporciones de los diferentes constituyentes de un aceite esencial varía durante todo su desarrollo. Así, en la menta (*M. x piperita* L), la disminución en (-)-mentona observada durante el ciclo vegetativo corresponde a una disminución en (-)-mentol y en (+)-neomentol: el nivel de (-)-mentol (en estado libre o esterificado) aumenta, pero el de neomentol no, completamente opuesto, porque este es convertido en un derivado soluble en agua, (-)-neomentol glucósido. Mas bien, amplios intervalos son frecuentemente observados en otras especies, incluyendo hinojo, zanahoria y culantro (el nivel de linalol es 50% más alto en las frutas maduras que en las inmaduras) (3).

6. INFLUENCIA DE FACTORES AMBIENTALES.

La temperatura, la humedad relativa, la duración total de la luz del día y los vientos, ejercen una directa

influencia, especialmente en especies que poseen estructura de almacenamiento superficial (tricomas glandular de Lamiaceae). Cuando la localización es mas profunda, la calidad del aceite es mas constante.

En la menta, los días largos y las temperaturas nocturnas, conducen a un mayor rendimiento en el aceite esencial, y a un aumento en el nivel de mentofurano. En contraste, las noches frías favorecen la formación de mentol (3).

Se ha demostrado que en algunos cítricos, a mayor temperatura, mayor es el contenido de aceites esenciales (3).

Las prácticas de cultivo son también un factor determinante para el rendimiento y la calidad del producto final.

7. METODOS DE EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES.

La inestabilidad de los constituyentes de los aceites esenciales explica por qué la composición de los productos obtenidos por destilación con vapor es a menudo diferente de aquellas mezclas de constituyentes iniciales presente en los

órganos o glándulas secretoras del vegetal. Durante la destilación con vapor, el agua, la acidez y la temperatura pueden inducir hidrólisis de ésteres, y también rearrreglos, isomerizaciones, racemizaciones y oxidaciones.

Hay cuatro métodos generales para la extracción de aceites esenciales: destilación con vapor, expresión, extracción con solventes volátiles y extracción con grasas (enflorado) (6).

7.1 Destilación con vapor:

El procedimiento consiste en sumergir la hoja, flor o el fruto de la planta directamente en un balón conteniendo agua que está adaptado a un condensador y es calentado a ebullición. Los vapores heterogéneos son condensados en una superficie sólida, y el aceite esencial separado se basa en la diferencia en densidad e inmiscibilidad.

7.2 Expresión:

Este método consiste en lacerar la corteza y los contenidos de las cavidades secretoras rota y que son recuperadas por un proceso físico. El proceso clásico consiste en aplicar una acción abrasiva en la superficie de la fruta en un flujo de agua. Después de eliminar los

desechos sólidos, el aceite esencial es separado de la fase acuosa por centrifugación. El aceite esencial se puede coleccionar directamente, utilizando máquinas que rompen las cavidades por depresión y esto imposibilita las degradaciones vinculada a la acción del agua.

7.3 Extracción con solventes volátiles:

Para la extracción se utilizan solventes volátiles como éter de petróleo, n-hexano, cloroformo, diclorometano, etanol, metanol. Después se elimina el solvente por destilación.

7.4 Extracción con grasa (enflorado):

Este procedimiento toma ventaja de la liposolubilidad de los componentes olorosos de las plantas en las grasas. En esta técnica, referida como "enflorado", la planta es colocada en contacto con la superficie de la grasa, y la extracción es lograda por difusión en frío dentro de la grasa, mientras que la técnica de "digestión" es realizada con calor, por inmersión de parte de la planta en la grasa fundida.

8. METODOS DE SEPARACION E IDENTIFICACIÓN DE COMPONENTES EN ACEITES ESENCIALES

8.1 Cromatografía de capa delgada:

La cromatografía de capa delgada (CCD) es utilizada en el estudio de los aceites esenciales como un medio de detección preliminar. También es usada en combinación con la cromatografía gas-líquido (CGL). La cromatografía de capa delgada es útil para monitorear fracciones separadas por cromatografía gas-líquida preparativa.

Gel de Sílice es el adsorbente más usado con solventes tales como benceno, cloroformo, mezcla v/v de benceno-cloroformo (1:1) y benceno-acetato de etilo (19:1) (7).

Diferentes reactivos son utilizados para la detección de los componentes, por ejemplo: ácido sulfúrico, vainillina, cloruro de antimonio, permanganato de potasio, bromo, 2,4-dinitrofenilhidrazina (8).

8.2 Cromatografía gas-líquido:

Dado la volatilidad de los constituyentes, el método analítico más conveniente es la cromatografía gas-líquida (CGL). El tiempo de análisis es corto, la seguridad de los

resultados y la potencial automatización hace a este un método indicado para análisis cualitativo y cuantitativo. Es un instrumento indispensable para el estudio quimiotaxonómico de los aceites esenciales en hojas y cortezas (7).

8.3 Cromatografía de gas-espectrometría de masa:

La cromatografía de gas acoplada a la espectrometría de masa aumenta la cantidad y calidad de los datos. Esta técnica se realiza con la ayuda de un computador donde se compara el espectro de un pico desconocido con uno o diversos de la biblioteca de referencia que conduce a la identificación del desconocido.

Los monoterpenos y sesquiterpenos en los aceites esenciales son normalmente separados e identificados por cromatografía de gas-espectrometría de masa (4). Este método se utilizó para separar e identificar las estructuras de los componentes en el aceite esencial de Hyptis dilatata.

9. PROPIEDADES FARMACOLOGICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES

Algunas veces la actividad de un aceite esencial es confundida con la planta aromática de la cual se aisló. Por ejemplo: el aceite esencial de romero es un agente

antibacterial, mientras la infusión de la planta es usada para el tratamiento de síntomas digestivos, basado en propiedades antiespasmódica y la cual está vinculada a la presencia de fenoles.

Es posible estudiar y describir los efectos biológicos o farmacológicos de un monoterpeno, sesquiterpeno o alquilbenceno puro, pero es imposible estudiar los efectos farmacológicos, farmacocinéticos o el metabolismo de un aceite esencial, porque este es una mezcla.

9.1 Actividad antiséptica:

La actividad antiséptica es en contra de varias bacterias patogénicas, incluyendo las espirales que son usualmente resistentes a los antibióticos. Algunos aceites esenciales también presentan actividad contra hongos responsables de la micosis.

Aceites esenciales de savory, cinamón, timo, clavo de olor, lavanda y eucalipto son encontrados entre los mas antiséptico (3). Monoterpenos tales como citral, geraniol, linalol y sustancia aromática como el timol, son 5,2, 7,1, 5, y 20 veces más antiséptico que el fenol, respectivamente (3).

9.2 Propiedades espasmolítica y sedativa:

Se piensa que un gran número de medicamentos que contienen aceites esenciales son eficaces en la disminución o supresión de espasmos gastrointestinales. Frecuentemente ellos estimulan la secreción gástrica, por lo tanto, se les conocen como remedio digestivo y estomacal.

9.3 Propiedades irritantes:

Cuando se usan los aceites esenciales externamente tales como turpentina causan una sensación de calor y en algunos casos, una ligera actividad anestésico local. En la actualidad, hay muchos ungüentos, cremas, o gel basado en aceites esenciales, y dirigido para aliviar torceduras, inflamaciones, tensiones y otras articulaciones o dolores musculares.

Cuando se administran aceites esenciales internamente, provocan procesos de irritación en diferentes niveles. Algunos estimulan las células de mucus y aumentan la motilidad de el epitelio ciliar en los bronquios, otros piensan que aumentan la excreción renal del agua.

10. **Toxicidad de aceites esenciales**

Algunas veces hay confusión al hablar de aceites esenciales y plantas que contienen aceites esenciales, porque el carácter inocuo de la planta está casi siempre

establecido, mientras que la toxicidad de muchos aceites ha sido comprobada.

La toxicidad crónica de los aceites esenciales no es bien conocida, ni sus propiedades mutagénica, teratogénica o carcinogénica por la escasez de datos.

Se conoce mucho más el riesgo de la toxicidad aguda vinculada a una ingestión de una dosis masiva, particularmente la neurotoxicidad de la tujona, contenida en los aceites esenciales (tuya, ajeno, salvia oficial), o aquellas conteniendo pinocanfona (hisopo). Otros monoterpenos asimismo son tóxicos en dosis altas: alcanfor, mentol (riesgo de espasmos de la glotis en niños jóvenes), cineol, y E-anetol (3). Esta toxicidad no trivial ha conducido a una actitud reservada hacia la práctica de la aromaterapia cuando se usan los aceites esenciales puro y en dosis alta, por la ruta oral y aún más cuando son usados como mezclas.

11. ALMACENAMIENTO DE ACEITES ESENCIALES

Los constituyentes de los aceites esenciales son relativamente inestables y su almacenamiento se hace dificultoso. Las posibilidades de descomposición son numerosas, fácil para medir por medio de índices (peróxidos, refracción), la determinación de propiedades físicas

(viscosidad, miscibilidad con alcohol, actividad óptica), análisis de cromatografía de gas.

Es posible limitar la descomposición usando pequeños viales, hechos de aluminio, de acero inoxidable o vidrio oscuro, completamente cerrado, almacenado a baja temperatura y bajo una atmósfera de nitrógeno.

12. **LAMIACEAE (LABIATAE)**

Es una familia de aproximadamente 221 géneros y 5600 especies, cosmopolita, pero con un centro de distribución localizado en la región del Mediterráneo y Asia central (9). Según Zomlefer, existen 258 géneros y 6970 especies, cosmopolita, diversas en la región del Mediterráneo (10).

Diversas especies tienen aplicación medicinal y otras son usadas como agentes saborizantes y sus aceites esenciales en perfumería (9). Los aceites esenciales tienden a acumularse en miembros de ciertas familias, tales como Labiatae, Compositae, Mirtaceae, Pinaceae, Rosaceae, Rutaceae, Asteraceae, Lauraceae y Umbelifera (4).

12.1 Lamiaceae en Panamá

Aproximadamente diez géneros son encontrados en nuestro país, pero solamente Hyptis y Salvia son representadas en cualquier variedad (11). Aproximadamente 20 especies del género Hyptis han sido localizadas (11). La mayoría de estas plantas son completamente aromáticas y poseen propiedades medicinales (12,13).

El género Hyptis está compuesto de aproximadamente 400 especies que se encuentran en la América tropical (14). Diversas especies de Hyptis han presentado significativa actividad farmacológica (15,16).

12.2 Plantas medicinales del género Hyptis en América:

En Panamá y en el Continente Americano se ha utilizado algunas especies del género Hyptis para el tratamiento o cura de algunas enfermedades. A continuación citamos algunos géneros.

12.2.1 Hyptis brevipes:

La decocción de esta planta es tomada para el alivio de dolores de cabeza y en otros países como Paraguay, es un remedio para la diarrea (17).

12.2.2 Hyptis verticilata:

Por todo Centroamérica, esta planta es usada como remedio doméstico para diversas enfermedades (17). En la antigua zona del canal, se vendía para uso medicinal (17). En la ciudad de Panamá se vendía la planta fresca y se recomendaba la decocción como remedio para la indigestión (17). Se decía que el olor almizclado que presentaba la planta, le daba propiedades afrodisíacas (17).

12.2.3 Hyptis dilatata:

En Veraguas, las hojas son utilizadas para el tratamiento de la miasis (gusanos en el ganado), dolor de muela, enfermedades de la piel y desórdenes gastrointestinales.

12.2.4 Hyptis atrorubens:

En Guadalupe y Martinica, la decocción de la planta es tomada como un sudorífico en caso de fiebre, reumatismo y tos (17). En Trinidad, es usada como un vermífugo y para detener el vómito, la diarrea y disentería. En Brasil la infusión de las hojas y las flores actúa como un sudorífico y antiespasmódico (17).

12.2.5 Hyptis capitata

En Costa Rica, la decocción de la planta es utilizada para aliviar el dolor de muela. También la planta es tomada para disipar los dolores gastrointestinales (17). Ha sido reportado que la planta contiene alcanfor, malato de potasio y nitrato de potasio (18). En Trinidad, es un remedio para la indigestión, estreñimiento y la diarrea (18). En el Salvador es considerada un tónico y estimulante (17). Los Jamaicanos toman la decocción de la planta como un remedio para las Crisis asmáticas en niños (17). Un té de la flor de la planta es tomado para aliviar la indigestión y dolor de estómago (18).

12.2.6 Hyptis pectinata:

En Yucatán, la decocción de la planta es aplicada en el tratamiento de la gota y reumatismo (17). En Barbados, la decocción es tomada para aliviar los dolores estomacales y la dispepsia (17). La planta contiene aceites esenciales (17).

Los aceites esenciales de las hojas han mostrado actividad contra Bacillus pumilus, Bacillus subtilis, Corynebacterium diphtheriae, E. coli, Pseudomonas solacearum,

Salmonella typhosa, Shigelia dysenteriae, Streptococcus pyogenes y Vibrio colera (19).

12.2.7 Hyptis suaveolens:

La decocción de la raíz es tomada como un febrífugo en Costa Rica (17). En Trinidad, la decocción de la hoja es un remedio para el resfriado, influenza, fiebre, estreñimiento y dificultades con la menstruación (18).

El aceite esencial de la planta es rico en mentol (17). La planta seca es utilizada para repeler mosquitos (17). Aceites esenciales obtenidos por destilación con vapor en plantas Nigerianas poseen propiedades anticonvulsiva. Esta propiedad está vinculada a la capacidad para deprimir el sistema nervioso central (20).

12.3 Componentes en aceites esenciales de Lamiaceae:

12.3.1 Ocimum basilicum L.

Esta planta crece en regiones del Asia y se cultiva en el Mediterráneo. De la hoja seca se obtiene menos de 0,25% de aceite esencial. El principal quimiotipo en el aceite esencial contiene 65-80% de estragol y en menor cantidad cineol, fenchol, linalol y metileugenol.

Otros quimiotipos son caracterizados por su alto niveles de linalol (sur de Europa) o de metileugenol (3).

12.3.2 Hussopus officinalis L:

Es una planta pequeña del Mediterráneo. Se obtiene 0,3-1% de aceite esencial. Los contituyentes principales son las cetonas isopinocanfona y pinocanfona. Propiedades expectorantes, antisépticas y estimulantes son atribuidas a estas cetonas.

El aceite esencial de hisopo es neurotóxico. Pinocanfona e isopinocanfona son, como, el tuyano, las principales sustancias responsables de la actividad epileptogénica que presenta el aceite esencial. La neurotoxicidad está vinculada a la acción inhibidora de las cetonas en la respiración celular.

Preparados fitofarmacéuticos de hisopo son administrados por la ruta oral para enfermedades bronquiales aguda y para aliviar la congestión nasal en el resfriado común.

12.3.3 Lavandula officinalis

Es un arbusto que crece en la cuenca del Mediterráneo.

La lavanda verdadera, Lavanda officinalis, da mejor rendimiento cuando crece a una altitud elevada (21). De la hoja seca, se obtiene menos del 0,8% de aceite esencial. In vitro según los requerimiento de la Farmacopea Francesa, el aceite esencial debe contener de 25-38% de linalol, de 25-45% de acetato de linalilo, de 0,1-0,5% de limoneno, de 0,3-1,5% de cineol, de 0,2-0,5% de alcanfor y de 0,3-1% de α -terpineol (3).

12.3.4 Lavandula latifolia:

Crece en las mismas regiones del Mediterráneo, pero a altitudes mas bajas que la lavanda verdadera. Produce un aceite esencial que es particularmente rico en cineol (30-40%) y en alcanfor (15%). En menos cantidad contiene limoneno (0,5-3%), linalol (25-50%), acetato de linalilo (<3%), y α -terpineol (0,5-3%) (3).

12.3.5 Lavandin

La lavanda verdadera y la lavanda grande (Lavandula latifolia) se hibridizan y se obtiene un aceite esencial que es intermedio (lavandin) entre los aceites esenciales precursores (21).

El aceite esencial de lavandin tiene una composición intermedia. Contiene cineol (4-7%), alcanfor (6-8%) y acetato de linalilo (28-38%) (3).

12.3.6 Origanum majorana L.

Es originaria de Oriente, y crece en toda la cuenca del Mediterráneo. La planta contiene 0,7-3% de aceite esencial, con 1-terpinen-4-ol, α -terpineol, 4-tuyanol y linalol. Las hojas y las flores son tradicionalmente usadas para tratar enfermedades bronquiales agudas, y para el tratamiento sintomático de la dispepsia.

12.3.7 Melissa officinalis L.:

Es nativa de la región este del Mediterráneo y el oeste de Asia. La hoja seca contiene 0,02-0,3% de aceite esencial. Mayor del 60% son monoterpenos y sesquiterpenos, respectivamente. Entre los principales monoterpenos se encuentran citronelal (30-40%) y citral (geranial y neral)

en proporción 3:4-5 (10-30%); cantidades pequeñas de citronelato de metilo, (+)-ocimeno, citronelol, geraniol y nerol también están presente(22).

12.3.8. Mentha x piperita L.

Se obtiene de 0.5-4% de aceite esencial de la planta seca. El principal componente es siempre (-)-mentol (30-40%, algunas veces mas del 50%). Además contiene mentona, mentofurano y otros monoterpenos y pequeñas cantidades de sesquiterpenos (22).

La presión osmótica moderada conduce a un aumento en el rendimiento del aceite esencial con una disminución en la biomasa; la proporción de mentol/mentona no es afectada, pero con una presión mayor la proporción de sesquiterpenos aumenta en algo (23). Por otro lado, la exposición de plantas a fotoperíodos cortos continuados induce en las hojas jóvenes el proceso oxidativo de pulegona a mentofurano antes que se lleve a cabo el proceso reductivo que conduce mentona/mentol (24).

12.3.9 Salvia officinalis L.:

Es originaria en la región del Mediterráneo, especialmente en el Adriático. El aceite esencial (1-2,5%)

es caracterizado por la presencia de tuyona (>35-60%) y otros monoterpenos (22). Al aceite esencial se le ha atribuido propiedades antiespasmódicas y antioxidantes.

12.3.10 Thymus serpyllum:

Originaria por todas partes de Europa. Se obtiene 0,6% de aceite esencial, conteniendo timol, carvacrol, p-cimol, linalol, cineol y α -pineno (22). Se conocen varias razas químicas, como los tipos timol y carvacrol, siendo el contenido fenólico responsable, en gran medida, de las propiedades antisépticas, antitusígenas y expectorantes del aceite esencial (21).

12.3.11 Cunila fasciculata y Cunila microcephala:

Los aceites esenciales de Cunila microcephala y C. fasciculata cultivada en el sur de Brasil fueron analizados por cromatografía de gas-espectrometría de masa y espectroscopía ^{13}C NMR (25). Se obtuvo un rendimiento de 0,16-0,80%. El principal constituyente en ambas especies fue mentofurano (82,3-85,1% en C. microcephala y 71,6-76,4% en C. fasciculata) (25).

Otros compuestos encontrados en cantidades significativa fueron limoneno (2,1-3,8% en C. microcephala y

8,6-11,2% en C. fasciculata) y β -cariofileno (3,3-3,9% en C. microcephala y 3,5-4,2% en C. fasciculata) (25). Las hojas y las flores son usadas en forma de té como un estimulante, aromático, antiespasmódico, amenorrea y en el tratamiento de la tos crónica e infección respiratoria (26).

12.3.12 Sideritis congesta, S. condensata, S. argyrea,
S. perfoliata:

El rendimiento del aceite esencial de la parte aérea seca de las cuatro especies investigadas fueron 0,1% (S. condensata), 0,3% (S. perfoliata), 0,5% (S. congesta) y 0,8% (S. argyrea).

La composición de los aceites esenciales de las cuatro especies de Sideritis, tres de ellos endémico en Turquía fueron investigados por cromatografía de gas-espectrometría de masa. Se caracterizaron por la presencia de un alto porcentaje de monoterpenos hidrocarburos. α - y β -pineno fueron los principales constituyentes de S. congesta y S. argyrea, mientras el limoneno fue el principal componente en el aceite de S. perfoliata. El aceite esencial de S. condensata dio una proporción alta de β -cariofileno y α -pineno (27). El género Sideritis es usado por su actividad

antiinflamatoria, antirreumática, digestiva y antimicrobial (28). Resultados iniciales en actividad farmacológica de Sideritis en Turquía revelan actividades diuréticas (29), antiinflamatorias (30), antiespasmódica (31) y antibacteriana (32).

12.4 Componentes en aceites esenciales del género Hyptis.

12.4.1 Hyptis emoryi:

Colectada en San Diego, California. Se identificaron 34 componentes volátiles del aceite esencial de H. emoryi por cromatografía de gas y cromatografía de gas-espectrometría de masa (33). Los compuestos identificados y sus relativos porcentajes son: γ -terpineno (0,1), (-)-carveol (0,4), piperitenol (0,6), acetato de bornilo (0,6), geranial (0,7), L-carvona (0,7), β -felandreno (0,8), piperitenona (1,1), canfeno (1,1), piperitona (1,3), canfor (1,3), linalol (1,3), δ -cadineno (1,4), mirceno (1,8), terpinen-4-ol (1,9), neral (2,0), citronelal (2,0), β -cariofileno (2,5), trans- β -farneseno (2,8), acetato de decilo (3,0), β -pineno (5,0), limonenó (5,6), α -pineno (6,6), γ -cadineno (6,7), 1,8-cineol (6,9), α -tuyeno (7,0), elemol (7,0) y borneol (11,9). Se encontraron trazas de componentes

α -felantreno, sabineno, geraniol, terpinoleno, acetato de linalilo, α -humuleno y un alcohol monoterpeno (33).

Diversos componentes químicos de algunas especies en el género, incluyendo H. emoryi, han sido investigada por tener propiedades tumorigénica (34-37), antifertilidad (38-40), micotoxina y fitotoxina (41).

12.4.2 Aceites esenciales de algunas especies del género Hyptis en el Amazona:

En este estudio, se reportaron los constituyentes químicos de los aceites esenciales de cuatro especies de Hyptis localizadas en el Amazona y se obtuvieron los siguientes rendimientos: Hyptis suaveolens (0,6%), Hyptis mutabilis (Mato Grosso) (0,3%), Hyptis mutabilis (Pará) (0,4%), Hyptis spp (0,2%) e Hyptis goyazensis (0,6%) (42). α -pineno, mirceno y β -cariofileno son los constituyentes solamente en todas las especies estudiadas. 1,8-cineol y β -cariofileno son los componentes principales en los aceites esenciales de H. suaveolens y H. mutabilis, respectivamente, colectada en el noreste de Brasil (42). La diferencia en la composición química de las dos especies de

H. mutabilis colectada en el Amazona es atribuida a los aspectos ecológicos (43).

12.4.3 Hyptis pectinata:

El aceite esencial se obtuvo por destilación de hojas frescas. Es una planta medicinal del oeste de Africa, analizada por cromatografía de gas. Se identificaron 32 componentes, predominando monoterpenos con grandes cantidades de p-cimeno y timol (>60%), también se identificaron γ -terpineno, α -tuyeno y mirceno (44).

Los aceites esenciales de H. pectinata e H. mutabilis se asemejan en su composición, pero el de H. mutabilis no contiene 1,8-cineol y solamente contiene pequeñas cantidades de β -cariofileno (42). Sin embargo, el aceite de H. pectinata mostró una composición mas bien diferente al compararse con los aceites de H. suaveolens e H. goyazensis (42). Probablemente las grandes cantidades de timol explican las propiedades antisépticas que presenta el aceite esencial de H. pectinata (44).

12.4.4 Hyptis goyazensis Benth:

Colectada en Río Madeira, Amazona. De la hoja se obtuvo 0,47% de aceite esencial. Se aislaron los siguientes monoterpenos: 1,8-cineol (36,8%), α -pineno (24,9%), canfora (17,4%) y β -pineno (4,0%) (45).

12.4.5 Hyptis suaveolens Poit:

Colectada en Manaus, Amazona. De la hoja, se obtuvo 0,43% de aceite esencial. se aislaron 1,8-cineol (37%), α -pineno (2,0%), β -pineno (18,7%) y felandreno (1,2%) (46).

El aceite esencial de H. suaveolens colectado en Aruba se analizó por cromatografía de gas capilar y se encontró alto contenido de 1,8-cineol (27-38%) y sabineno (12-18%) (47). El aceite mostró una fuerte actividad antimicrobial contra Staphylococcus aureus (47).

El aceite esencial (0,65%) de H. suaveolens colectado en el campus de Gorakhpur de la Universidad de la India, presentó fuerte actividad antifúngica contra varios hongos y resultó ser mas potente comparado con los fungicidas sintéticos comerciales (48).

Se aislaron tres nuevos sesquiterpenos (alcoholes) en el aceite esencial de H. suaveolens colectado en la Universidad de Gorakhpur, en la India. Los tres nuevos sesquiterpenos son: guaya-1 (2), 7-dien-10-ol (1) (0,1%), guaya-1(2), 11-dien-10-ol (2) (6,6%), guaya-1(5)-en-11-ol (3) (0,18%) (49). Fig. 8.

Los compuestos (1) y (2) son congéneres de (3) (50,51) y tienen la misma estereoquímica en C-4(1) y C-4 y C-7(2).

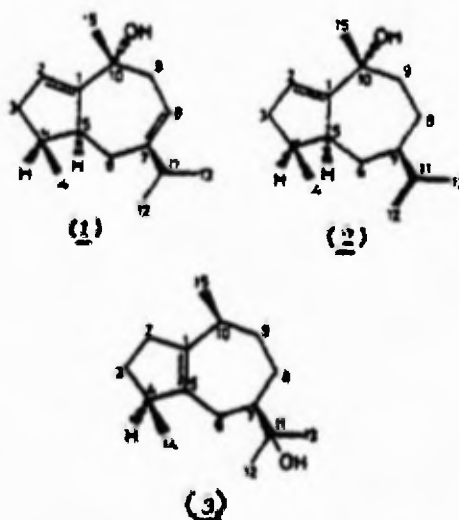


Fig. 8. Nuevos sesquiterpenos aislados del aceite esencial de Hyptis suaveolens.

El aceite de la hoja de H. suaveolens fue aislado por destilación y sus componentes separados por CG. De los 56 componentes separados, 47 fueron identificados por CG/EM. Monoterpenos en grandes cantidades como 1,8-cineol (38,7%), sabineno (19,9%), terpinoleno (8,5%), β -pineno (6,4%), γ -

terpineno (4,8%), α -pineno (2,9%), limoneno (2,6%), mirce-
no (1,3%) y terpinen-4-ol (1,2%). De los sesquiterpenos,
predomina β -cariofileno (2,5%) y β -germacreno (1,2%).
Todos los otros componentes incluyendo los desconocidos, se
encontraron en menos del 1% (52).

Los aceites esenciales aislados de plantas que crecen
en dos diferentes localidades (Bangalore y Hyderabad) en
India fueron estudiados por CG y CG/EM. El constituyente
encontrado en ambos aceites fue el 1,8-cineol (31,5-35,3%)
(53).

El aceite esencial obtenido de la parte aérea de H.
suaveolens, colectado en la región Kumaun de India fue
encontrado (por CG/EM) por diferir químicamente de los
reportados quimiotipos colectados en Sur América y Malasia.
Los principales componentes de los aceites esenciales de
India fueron sabineno (41,0%), β -pineno (9,8%), β -cario-
fileno (7,9%) y limoneno (6,8%), acompañados por mas de
otros 50 compuestos incluyendo α -trans-bergamotol (2,0%),
óxido de cariofileno (5,8%), arabietatriene (4,4%) y
arabietatrienol (0,4%) (54).

12.4.6 Hyptis spicigera Lam:

Treinta y cuatro compuestos fueron caracterizados por CG/EM y tiempos de retención en tres muestras de aceite esencial de H. spicigera que crecen en Burkina Faso. Los aceites fueron caracterizados por su alto contenido en β -cariofileno (57-66%). α -pineno (2-5%) y sabineno (4,5%) fueron los principales componentes (55).

El aceite esencial aislado de la parte aérea de H. spicigera, se usó en baños en el Norte de Nigeria y fue analizada por CG capilar. Cuarenta y tres componentes del aceite fueron identificados, entre los cuales muchos se encuentran en pequeñas cantidades. La identidad de los componentes fue confirmada por CG/EM usando un detector de trampa iónica. El aceite se caracterizó por un alto contenido de β -cariofileno (68%) y la presencia de C-16 y C-18 de ésteres metílicos de ácidos grasos (56).

12.4.7 Hyptis mutabilis Brig:

Se analizó la composición del aceite de H. mutabilis de Córdoba, Argentina, usando CG y CG/EM. Los principales constituyentes encontrados son: alcanfor (14,30%), mircenona (14,85%), *cis*-dihidrocarvona (11,38%) y *trans*-dihidrocarvona (32,91%) (57).

Colectada en el Noreste de Brasil, Estado de Alagoas y se usa en la medicina popular como té de hojas para tratar enfermedades de la mucosa cervical uterina, gastritis, úlcera gástrica, úlcera de la piel y conjuntivitis (58). Los constituyentes identificados en el aceite esencial presentaron la siguiente composición química: α -cubebeno (0,45%), α -copaeno(2,25%), β -burbuneno (0,98%), β -elemeno (2,10%), β -cariofileno (65.12%), α -humeleno (1,45%), β -cubebeno (8,71%), calameneno (1,68%), y siete compuestos aún no identificados (58).

Dos variedades químicas de Hyptis mutabilis fueron estudiadas. La variedad A (Mato Grosso) contiene α - y β -pineno y β -felandreno, y β -cariofileno como los principales constituyentes de su aceite esencial (59). La otra variedad B (Pará) contiene p-cimeno, timol, β -cariofileno y β -elemeno como los principales componentes del aceite esencial(59).

12.4.8 Hyptis dilatata Benth:

Hasta la fecha, no hay reporte de terpenos identificados en el aceite esencial de Hyptis dilatata.

MATERIALES Y METODOS

MATERIALES Y METODOS1. **CLASIFICACION TAXONOMICA DE Hyptis dilatata Benth:**

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Lamiales
Familia:	Lamiaceae
Género:	<u>Hyptis</u>
Especie:	<u>H. dilatata</u>

2. RECOLECCION DE LA PLANTA

La planta Hyptis dilatata conocida como botoncillo de perro fue colectada a 500 metros de la carretera en San Francisco de la Montaña, Provincia de Veraguas, que se encuentra a 08°14'43" de latitud norte y 80°58'02" de longitud oeste. La planta fue identificada y clasificada por el Profesor Luis Carrasquilla, Director del Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología de la Universidad de Panamá. La planta fue secada al aire por una semana.

3. DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA

Hyptis dilatata es una hierba o subarbusto de aproximadamente 60 cm de altura. Hojas pubescentes con pelos glandulares, uniseriada, oblonga-lanceolada, aguda, crenada, bases truncadas de 5cm de largo y 1,5 cm de ancho, pubescente en ambas superficies; sésil. Inflorescencia en forma de capítulo de aproximadamente 1-1,5 cm de ancho, pedúnculos de aproximadamente 1,5-3,5 cm de largo, brácteas lineal de aproximadamente 7-10 mm de largo y densamente pubescente. Flores sésil, cresta de pelos uniseriada en la base, cada una de 2-3 mm de largo; cáliz ± campanulado, de aproximadamente 2,5-3 mm de largo en madurez; tubo de corola de

aproximadamente 3-3,5 mm de largo, el labio de aproximadamente 1 mm de largo, ligeramente pubescente; estambre exerto, los filamentos ± glabro, las anteras de aproximadamente 0.3-4 mm de largo; estilo largo exerto (11). Fig. 9.



Fig. 9. Hyptis dilatata Benth: A, forma; B, flores; C, estambres; D, nuececillas.

4. DESTILACION

4.1 Materiales

4.1.1 Aparato de destilación tipo Clevenger

4.1.2 Na_2SO_4 anhidro, n-hexano.

4.2 Procedimiento:

Se agregó 50g de hoja seca y se realizó una destilación por arrastre con vapor de agua por tres horas en un aparato tipo Clevenger (60). Se obtuvo 0.2% de aceite esencial de *H. dilatata* y fue secado con Na_2SO_4 anhidro, filtrado, disuelto en n-hexano y guardado en un vial. Fig. 10.

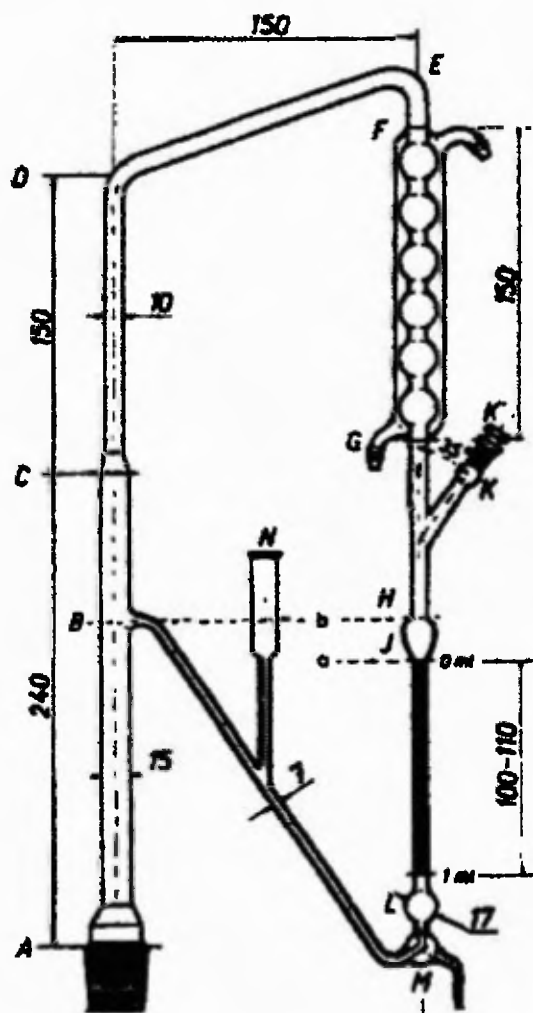


Fig. 10. Aparato tipo Clevenger para la separación de aceites esenciales en plantas.

5. **ANÁLISIS DEL ACEITE ESENCIAL DE Hyptis dilatata**

5.1 Cromatografía de Gas-Espectrometría de Masa:

El aceite esencial de Hyptis dilatata fue analizado por cromatografía de gas-espectrometría de masa en un cromatógrafo de gas Carlo Erba Mega directamente acoplado a un espectrómetro de masa cuadrupolo Finnigan Mat 4515. El cromatógrafo de gas fue equipado con un inyector split-splitless. Se utilizó una columna capilar de sílice fundida para la separación por cromatografía de gas. La temperatura del inyector fue de 250°C; el programa de temperatura para el aceite esencial fue de 70°-350°C. Velocidad de la temperatura aplicada 6°C/min, la inyección del split, 1:20 y el He, el gas portador (50 kPa). Los índices de retención (IR) se determinaron por co-inyección de estándares de n-alcános (C₉ - C₃₂) (Kováts, 1965). Los índices de retención y los patrones de fragmentación de las sustancias permitieron su identificación. La identificación de los terpenoides simples se realizaron por comparación del espectro de ionización por impacto electrónico y los índices de retención con aquellos sistemas de datos de la biblioteca y la literatura del Departamento de Química, de la Universidad Tecnológica de Braunschweig, Alemania.

Se le agradece al Dr. Ludger Witte, del Instituto de Biología Farmacéutica, de la Universidad Tecnológica de Braunschweig, Alemania, por su colaboración en las mediciones realizadas por cromatografía de gas-espectrometría de masa.

6. **PRUEBAS DE SOLUBILIDAD**

6.1 Materiales:

6.1.1 n-hexano, éter dietílico, acetona, etanol.

6.1.2 Procedimiento:

Colocar con la ayuda de un capilar de punto de fusión, una gota del aceite esencial en dos mL de disolvente contenido en un tubo de ensayo.

7. **DENSIDAD**

7.1 Materiales

7.1.1 Picnómetro, balanza analítica.

7.2 Procedimiento

Pesar el picnómetro vacío y volverlo a pesar cuando contiene un volumen medido de aceite esencial.

8. INDICE DE REFRACCION

8.1 Material:

8.1.1 Refractómetro de Abbe 3L de Bausch & Lomb.

8.2 Procedimiento:

Limpiar los prismas con un algodón humedecido en agua para eliminar los compuestos solubles en agua. Los compuestos insolubles en agua se eliminan con éter de petróleo. Seguidamente se colocan una o dos gotas del aceite y se procede a leer el índice de refracción (61).

9. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

9.1 Ensayo de actividad antimicrobiana:

Se utilizó el método de Mitscher (62) y Ríos (63) para los ensayos de actividad antimicrobiana de Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella gallinarum, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa y Micobacterium smegmatis. Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de CIFLORPAN de la Universidad de Panamá.

RESULTADOS Y DISCUSION

RESULTADOS Y DISCUSION

1. DETERMINACION DE PROPIEDADES FISICAS

El aceite esencial de H. dilatata se obtuvo por destilación por arrastre con vapor de agua de 50g de hojas. Se obtuvo un rendimiento de 0,2%.

El aceite esencial de H. dilatata posee propiedades físicas comunes a los demás aceites esenciales (64). En el cuadro I se observan algunas propiedades físicas. El aceite es líquido a temperatura ambiente, amarillo débil, olor aromático, índice de refracción alto y densidad menor que el agua.

CUADRO I. PROPIEDADES FISICAS DEL ACEITE DE H. dilatata.

PROPIEDADES	RESULTADOS
Estado Físico	Líquido
Color	Amarillo débil
Olor	Aromático
Densidad a 28°C	0,91 g/mL
Índice de refracción ($n_D^{28^\circ}$)	1.48

En el cuadro 2 se observa que el aceite esencial es soluble en disolventes orgánicos e insoluble en agua. Sin embargo el aceite es ligeramente soluble en agua, que le imparte cierto olor al agua. Las aguas aromáticas dependen de la ligera solubilidad del aceite en agua.

CUADRO II. PRUEBA DE SOLUBILIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE H. dilatata.

DISOLVENTES	RESULTADOS
n-hexano	+
Eter dietílico	+
Acetona	+
Metanol	+
Agua	-

2. SEPARACION, IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE TERPENOS EN EL ACEITE ESENCIAL DE Egyptis dilatata POR MEDIO DE LA TECNICA DE CROMATOGRAFIA DE GAS-ESPECTROMETRIA DE MASA

El aceite esencial de H. dilatata fue separado de la hoja por destilación por arrastre con vapor de agua en un aparato tipo Clevenger (fig. 10), con un rendimiento de 0,2%. El aceite esencial fue analizado por CG/EM y sus componentes fueron identificados por comparación de sus espectros de masas y los índices de retención con aquellos banco de datos de la biblioteca y la literatura. El aceite

esencial contenía 23 componentes, de los cuales 13 fueron identificados. Se encontraron monoterpenos hidrocarbonados (17,4%), monoterpenos oxigenados (17,4%), sesquiterpenos hidrocarbonados (17,4%), sesquiterpeno oxigenado (4,3%) y sesquiterpenos no identificados (43,5%).

Los resultados cualitativos y cuantitativos de los monoterpenos hidrocarbonados son mostrados en el cuadro III. Se observa que el Δ^3 -careno (2,21%) se encuentra en mayor cantidad. α -Pineno y canfeno están presentes en trazas. En el cuadro IV se presenta la composición de los aceites esenciales de cuatro especies del género *H. dilatata* en el Amazonas (42).

CUADRO III. COMPOSICION DE MONOTERPENOS HIDROCARBONADOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE *H. dilatata*.

COMPONENTES	% TOTAL
Monoterpenos hidrocarbonado	2,48
α -Pineno	tr
Canfeno	tr
Δ^3 -Careno	2,21
Limoneno	0,27

tr: trazas (<0.1%).

Igualmente presentan la composición de H. capitata (Africa) (44) e H. emoryi (California) (33). Se observa que el Δ^3 -careno (2,21%) presenta un porcentaje mayor en el aceite esencial de H. dilatata en comparación con los demás aceites esenciales. El α -pineno (16,75%) de H. mutabilis, el canfeno (2,16%) de H. goyazensis y el limoneno (7,60%) de H. spp. se presentan en mayor cantidad que los obtenidos en H. dilatata respectivamente.

Las figuras 11 y 12 presentan los espectros de masas de los monoterpenos hidrocarbonados (cuadro III). Se observan el ión molecular [M]⁺, las fragmentaciones iónicas y su abundancia relativa.

CUADRO IV. COMPOSICION DE ACEITES ESENCIALES DE DIFERENTES ESPECIES DE HYPTIS.

%

COMPONENTES	A	B	C	D	E	F	G
α -Pino	1,46	16,75	0,51	12,75	1,7	6,6	Tr
Canfeno	0,25	0,09	--	2,16	0,2	--	Tr
Δ^3 -Careno	--	0,13	--	0,87	0,3	--	2,21
Limoneno	--	--	7,60	--	1,9	5,6	0,27
1-8-cineol	30,38	--	--	23,89	--	6,9	Tr
Alcanfor	1,56	--	1,27	1,75	--	1,3	1,38
Borneol	0,62	--	--	13,00	--	11,9	36,05
Acetato de Bornilo	--	--	0,24	--	--	0,6	5,02
β -cariofileno	10,37	13,10	2,35	3,09	1,1	2,5	0,78
α -bergamoteno	--	--	--	--	0,2	--	0,50
Allo-aromandreno	0,42	--	--	--	--	--	0,71
γ -selineno	--	--	--	--	--	--	0,74
Ledol	--	--	--	--	--	--	7,09

A: *H. suaveolens* (Amazona), B: *H. mutabilis* (Amazona), C: *H. spp* (Amazona), D: *H. goyazensis* (Amazona), E: *H. pectinata* (Africa), F: *H. emory* (California), G: *H. dilatata* (Panamá), tr: Trazas.

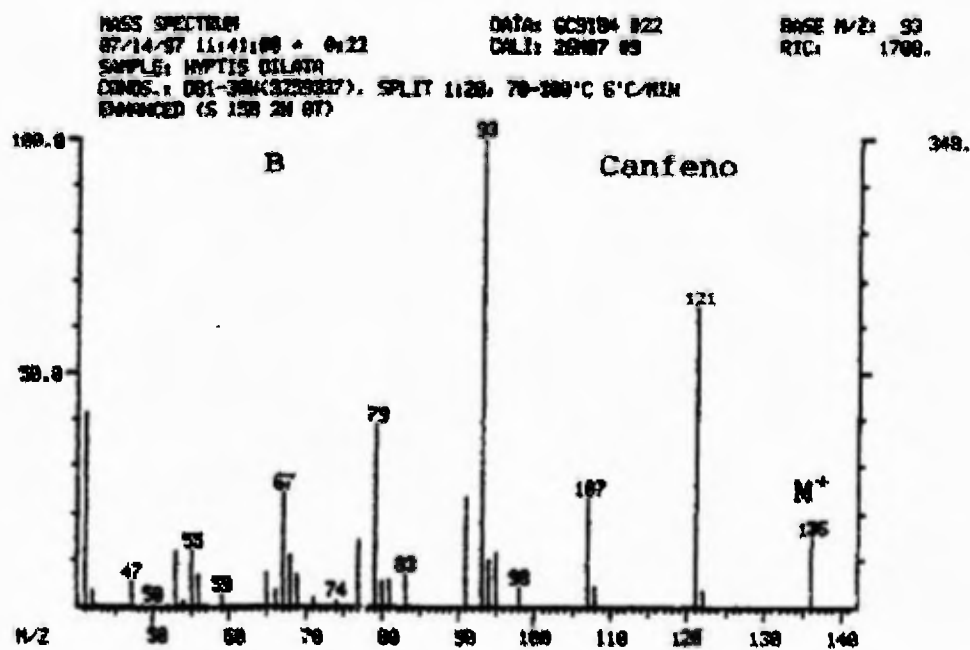
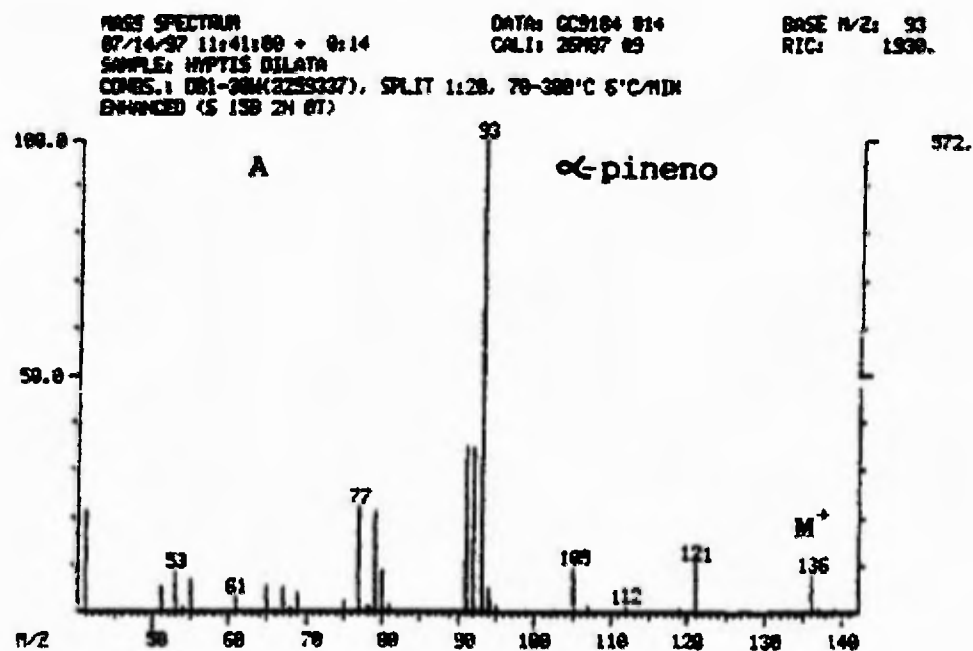


Fig. 11. Espectros de masas de α -pineno (A) y canfeno (B).

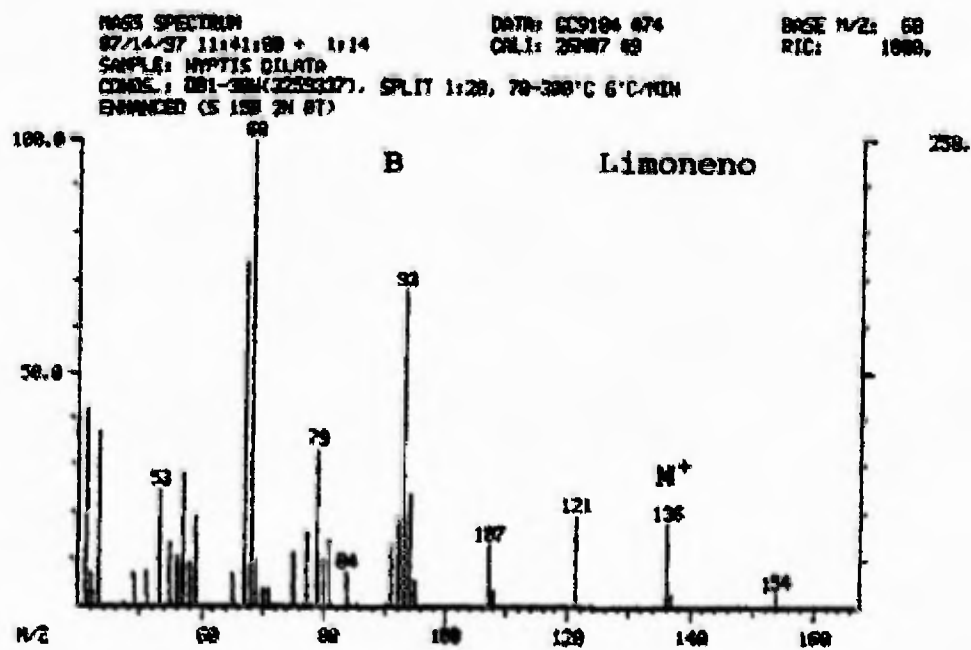
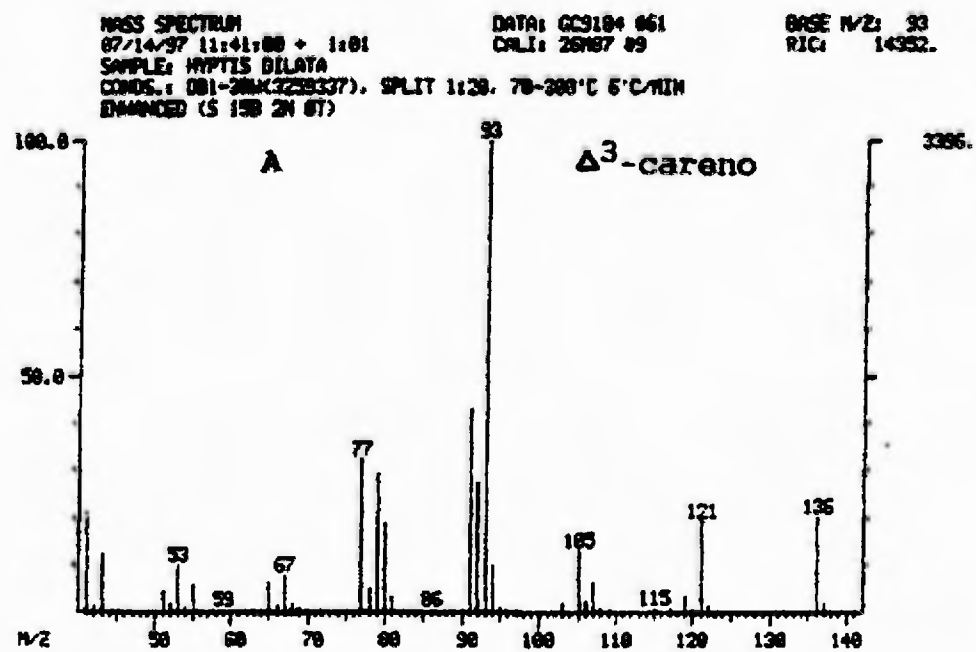


Fig. 12. Espectros de masas de Δ^3 -careno (A) y limoneno (B).

En el cuadro V se presentan los monoterpenos oxigenados. Se observa que el borneol (36.05%) es el componente en mayor cantidad.

CUADRO V. COMPOSICION DE MONOTERPENOS OXIGENADOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE H. dilatata.

COMPONENTES	% TOTAL
Monoterpenos oxigenados	42,45
1,8-cineol	tr
Alcanfor	1,38
Borneol	36,05
Acetato de bornilo	5,02

tr: traza (<0,1%).

En el cuadro IV se observan distintas composiciones de borneol en diferentes aceites esenciales de especies del género Hyptis. El borneol (36,05) del aceite esencial de H. dilatata presenta el porcentaje mas alto que el encontrado en los aceites esenciales de H. suaveolens, H. goyazensis e H. emoryi.

La figuras 13 y 14 presentan los espectros de masas del 1,8-cineol, alcanfor, borneol y acetato de bornilo con sus respectivos fragmentos de iones, ión molecular y su abundancia relativa.

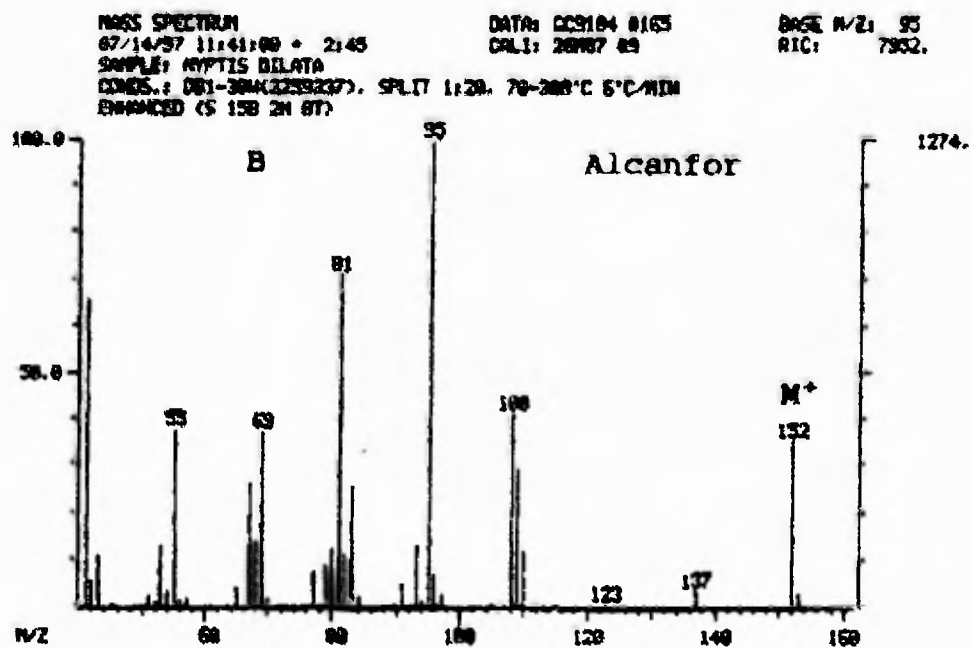
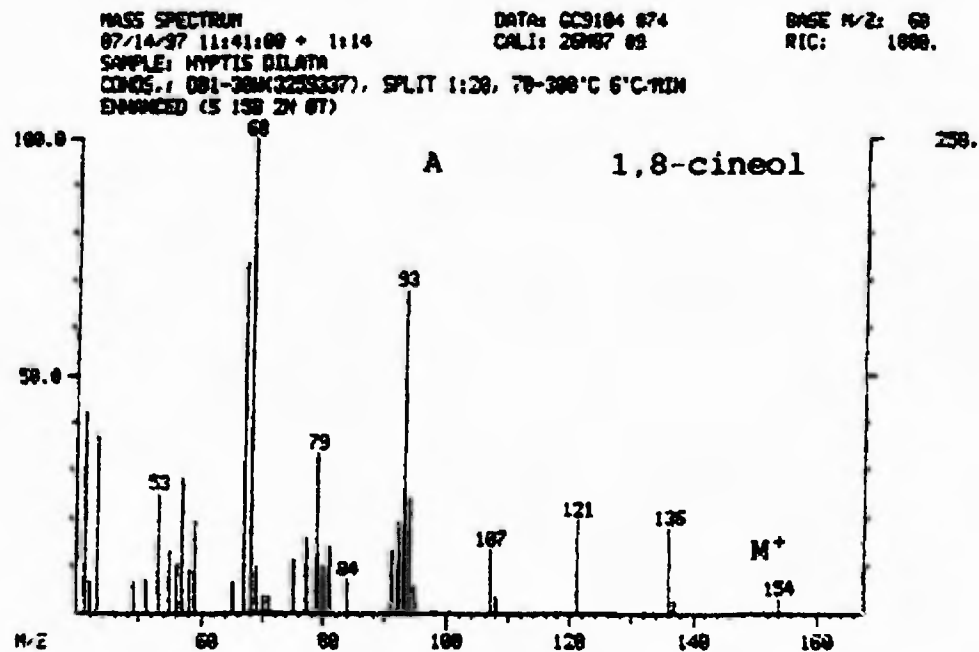


Fig. 13. Espectros de masas de 1,8-cineol (A) y alcanfor (B).

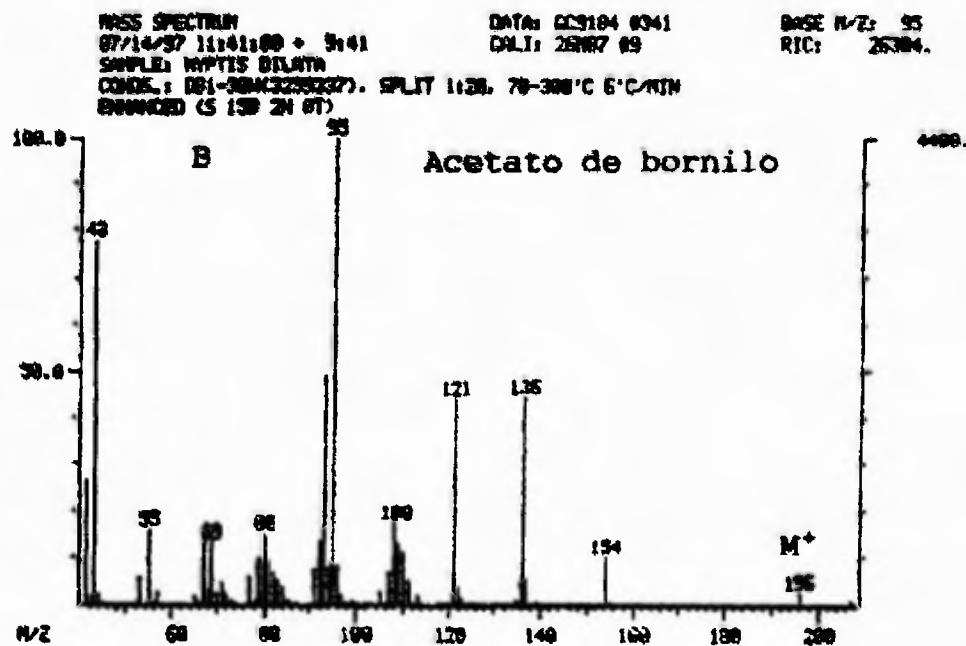
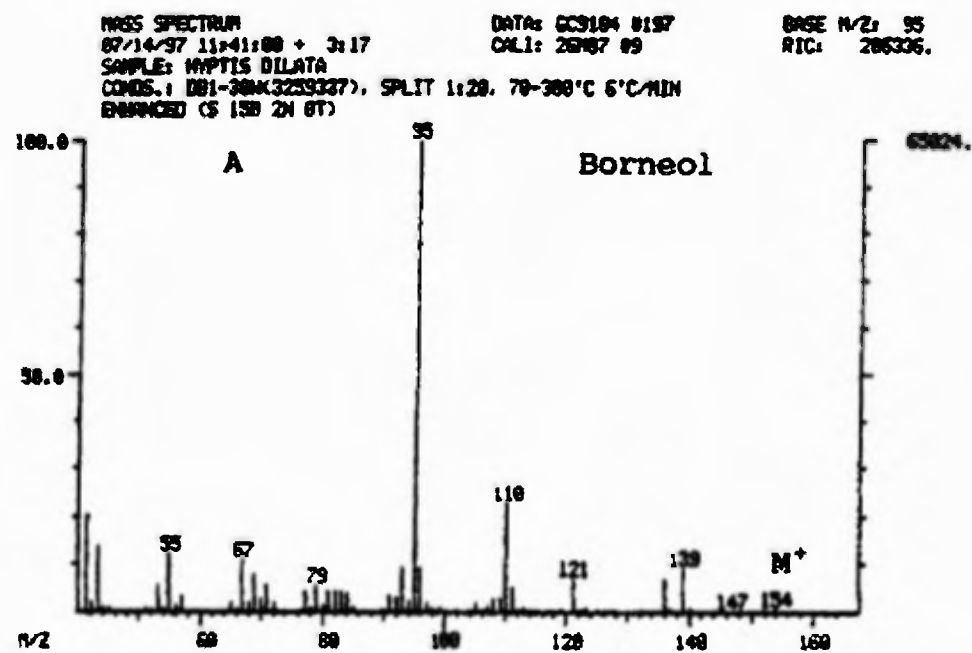


Fig. 14. Espectros de masas de borneol(A) y acetato de bornilo(B).

El cuadro VI presenta los resultados cualitativos y cuantitativos de los sesquiterpenos hidrocarbonados. Se observa que no hay diferencia significativa entre los com-

CUADRO VI. COMPOSICION DE SESQUITERPENOS HIDROCARBONADOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE H. dilatata.

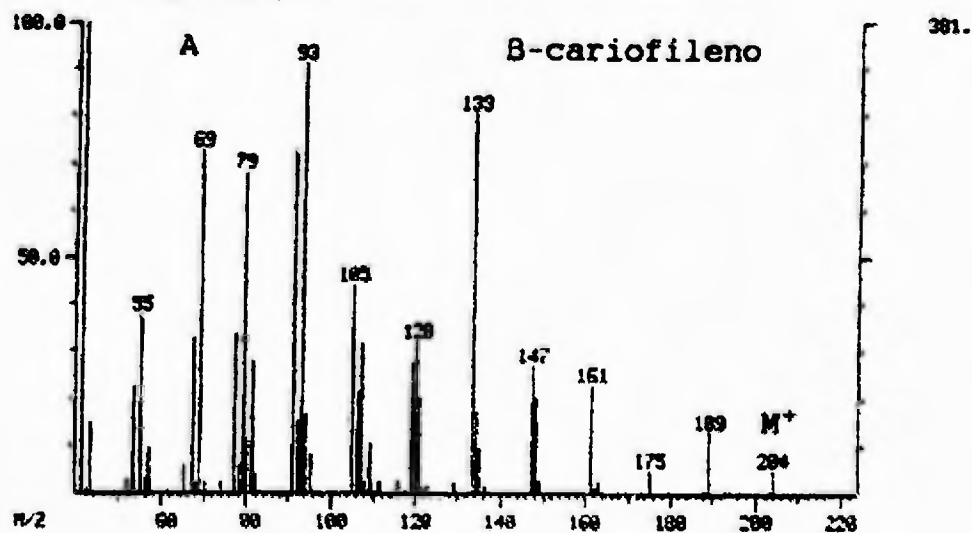
COMPONENTES	% TOTAL
Sesquiterpenos hidrocarbonados	2,73
β -cariofileno	0,78
α -bergamoteno	0,50
Alo-aromadendreno	0,71
γ -selineno	0,74

ponentes, pero el β -cariofileno (0,78%) es el que ligeramente presenta mayor cantidad. En el cuadro IV se presentan las variaciones cuantitativas del cariofileno en diferentes especies del género Hyptis. Se observa que en H. mutabilis, el β -cariofileno (13.10%) presenta el porcentaje mas alto y en H. dilatata el porcentaje mas bajo. Según los resultados del cuadro IV, el β -cariofileno es el único que se encuentra cuantitativamente en las diferentes especies del género Hyptis.

MASS SPECTRUM
07/14/97 11:41:00 + 8:45
SAMPLE: MYRTIS DILATA
COND.: DB1-30K(259337). SPLIT 1:20, 70-300°C 6°C/MIN
ENHANCED (5 150 20 07)

DATA: CC9104 0525
CALI: 26987 09

BASE M/Z: 41
RIC: 4104.



MASS SPECTRUM
07/14/97 11:41:00 + 9:11
SAMPLE: MYRTIS DILATA
COND.: DB1-30K(259337). SPLIT 1:20, 70-300°C 6°C/MIN
ENHANCED (5 150 20 07)

DATA: CC9104 0531
CALI: 26987 09

BASE M/Z: 93
RIC: 1916.

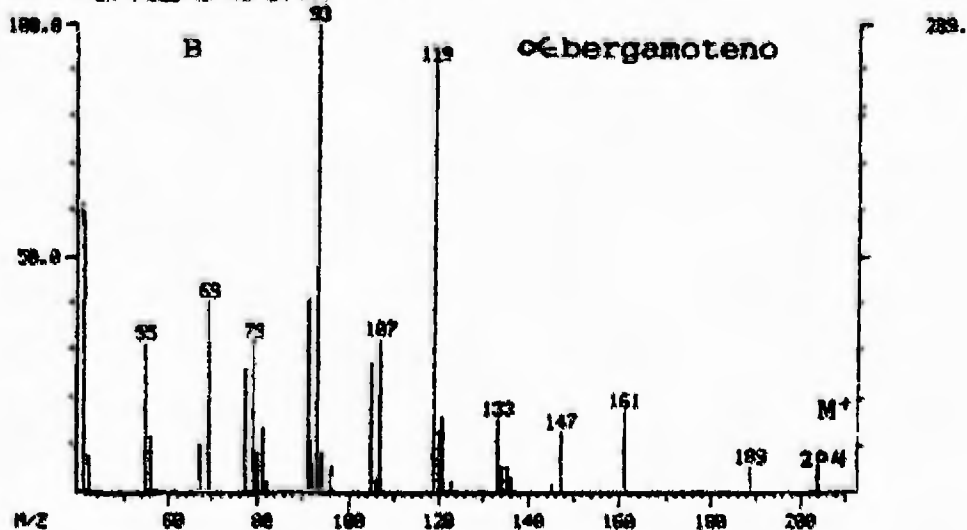
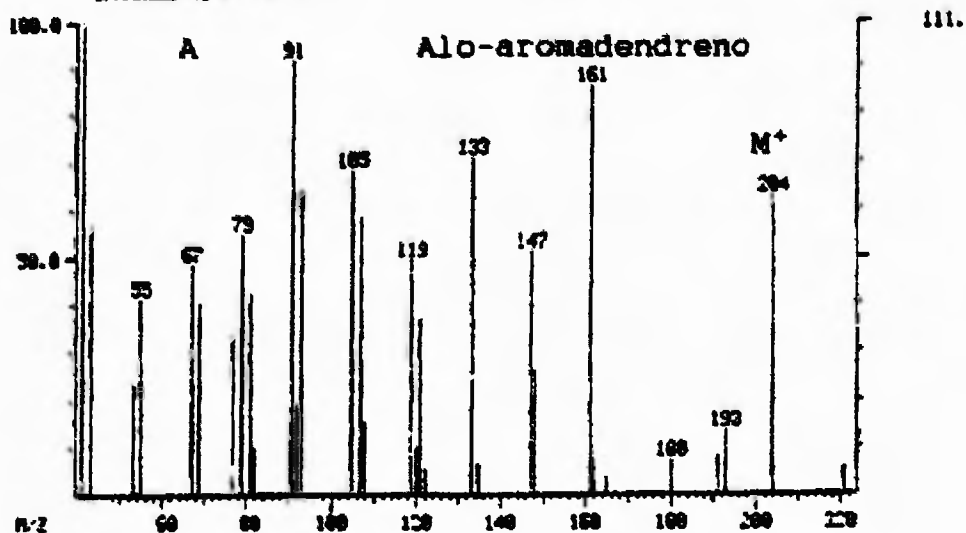


Fig. 15. Espectros de masas de β -cariofileno (A) y α -bergamoteno (B).

MASS SPECTRUM DATA: GC3184 0376 BASE N°: 41
 07/14/97 11:41:00 + 9:36 CALI: 25807 09 RIC: 1308.
 SAMPLE: MYRTIS DILATA
 COND.: DB1-20K(2258337). SPLIT 1:20. 70-300°C 6°C/MIN
 ENHANCED (5 150 24 0T)



MASS SPECTRUM DATA: GC3184 0397 BASE N°: 189
 07/14/97 11:41:00 + 9:37 CALI: 25807 09 RIC: 2564.
 SAMPLE: MYRTIS DILATA
 COND.: DB1-20K(2258337). SPLIT 1:20. 70-300°C 6°C/MIN
 ENHANCED (5 150 24 0T)

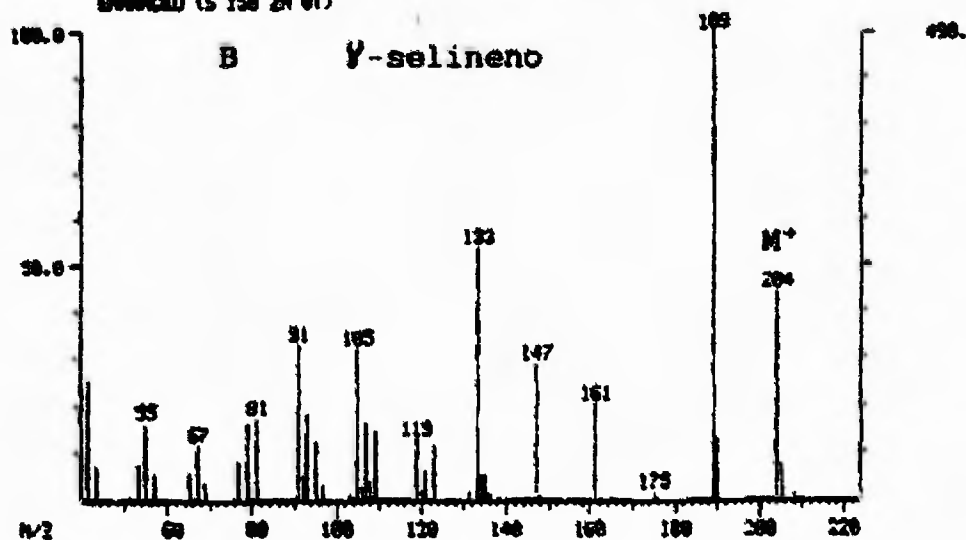


Fig. 16. Espectros de masas de alo-aromadendreno (A) y γ -selineno (B).

En las figuras 15 y 16 se presentan los espectros de masas de los sesquiterpenos hidrocarbonados con iones moleculares $[M]^+$ de 204, que aparecen en el cuadro VI.

En el cuadro VII, el ledol (7.09%) es el único sesquiterpeno oxigenado identificado y según los resultados que presenta el cuadro IV, no es un componente común en el género *Hyptis*.

CUADRO VII. COMPOSICION DE SESQUITERPENOS OXIGENADOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE *H. dilatata*.

COMPONENTE	% TOTAL
sesquiterpeno oxigenado	7,09
Ledol	7,09

En la Figura 17 se presenta el espectro de masa del ledol. En el espectro se observa el ión molecular, las fragmentaciones iónicas y su abundancia relativa.

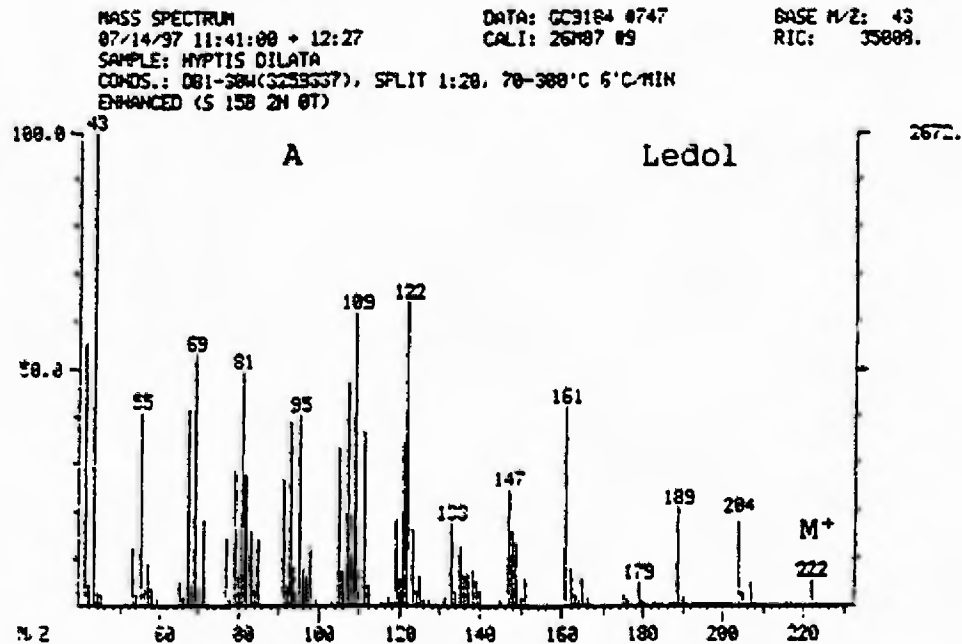


Fig. 17. Espectro de masa del ledol.

CUADRO VIII. SESQUITERPENOS NO IDENTIFICADOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE H. dilatata.

COMPONENTES	% TOTAL
1. Sesquiterpenos hidrocarbonados	25,7
A. 204 [M] ⁺	4,22
B. 204 [M] ⁺	7,30
C. 204 [M] ⁺	0,71
D. 204 [M] ⁺	1,23
E. 204 [M] ⁺	tr
F. 204 [M] ⁺	tr
G. 204 [M] ⁺	12,24
H. 204 [M] ⁺	tr
2. Sesquiterpenos oxigenados	19,54
A. 221 [M] ⁺	tr
b. 222 [M] ⁺	19,54

tr: trazas

En el cuadro VIII se presentan los resultados de los sesquiterpenos no identificados presentes en el aceite esencial de H. dilatata. Se observa que ocho presentan ión molecular 204 [M]⁺, que representan a los sesquiterpenos hidrocarbonados y dos presentan ión molecular 221 [M]⁺ y 222 [M]⁺ que corresponden a los sesquiterpenos oxigenados. Algunos están presentes en trazas y otros en cantidades relativamente altas en comparación con los demás terpenos identificados en el aceite esencial de H. dilatata. Las figuras 18,19 y 20 presentan los espectros de masas de los sesquiterpenos no identificados.

En el cuadro IX se presentan los índices de retención, las fragmentaciones formadas del ión molecular y su intensidad o abundancia relativa (en orden descendentes) de cada componente identificado y no identificado obtenido del espectro de masa. Se observan que los terpenos que presentan pesos moleculares de 136, 152, 154 y 196 representan el 34,8% de los monoterpenos identificados, de los cuales el 17,4% son hidrocarbonados y también con el mismo porcentaje (17,4%) son oxigenados.

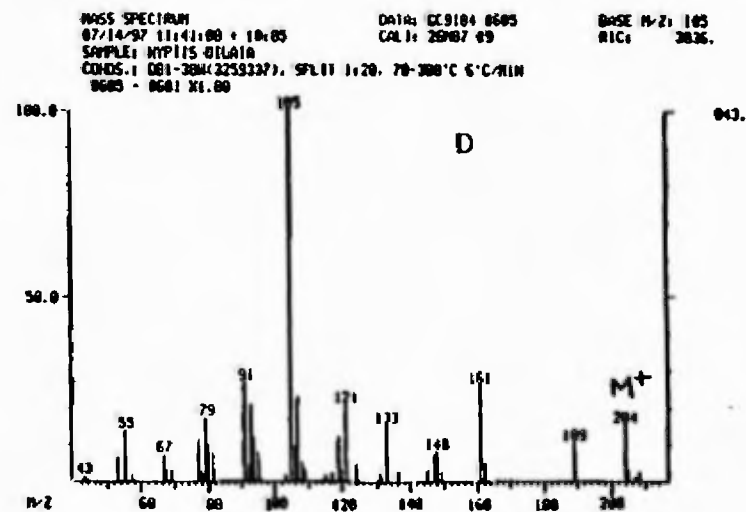
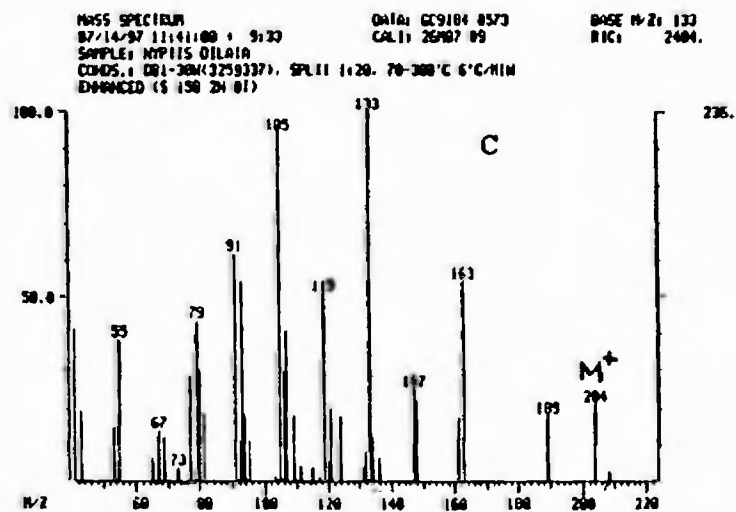
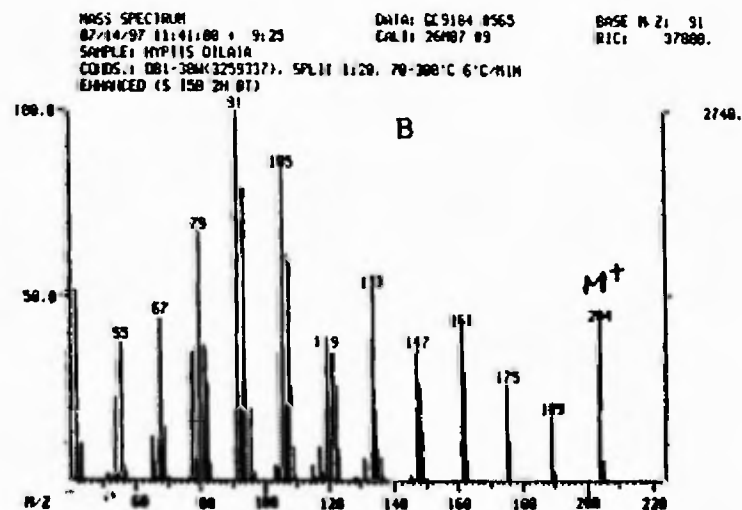
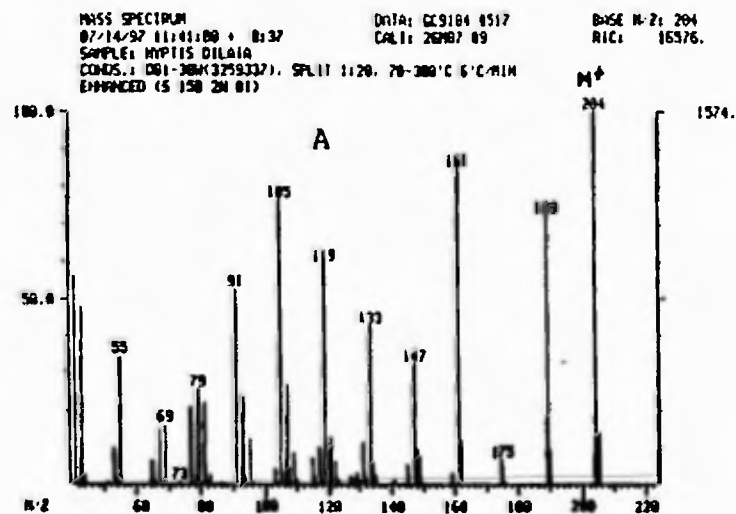


Fig. 18. Espectros de masas de sesquiterpenos hidrocarbónicos no identificados.

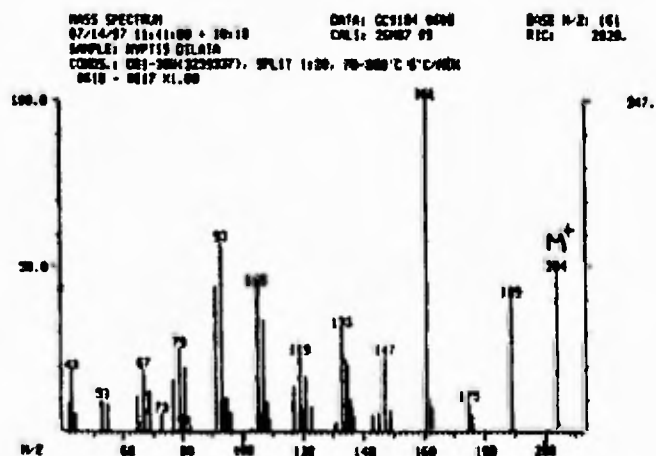
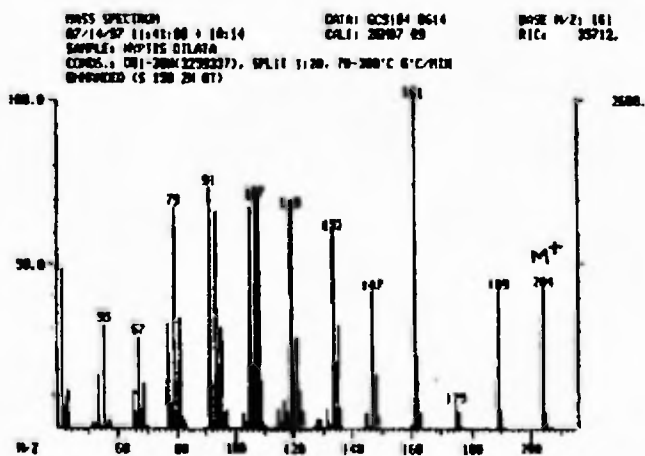
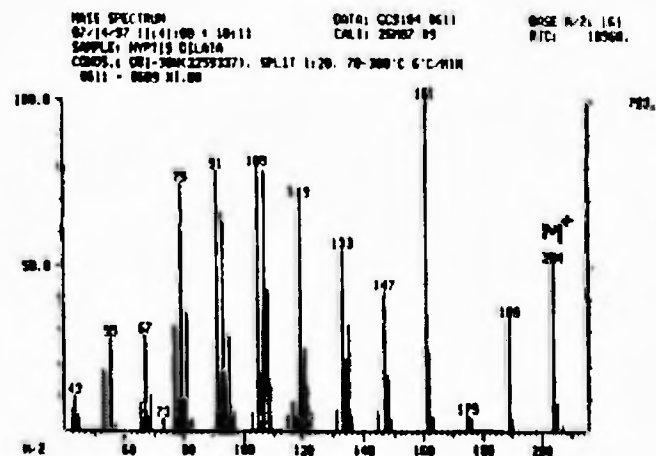
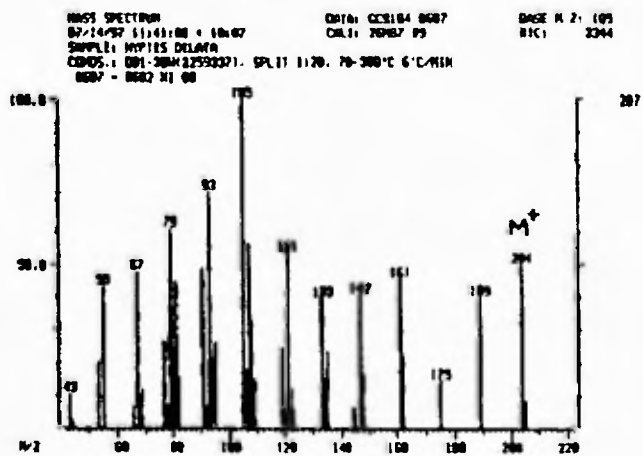


Fig. 19. Espectros de masas de sesquiterpenos hidrocarbonados no identificados.

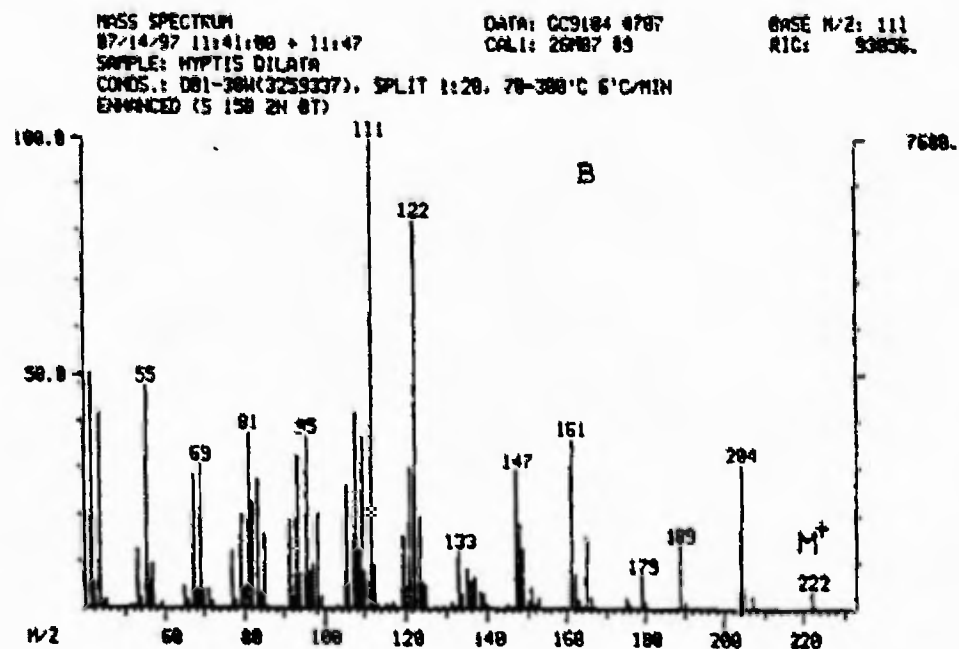
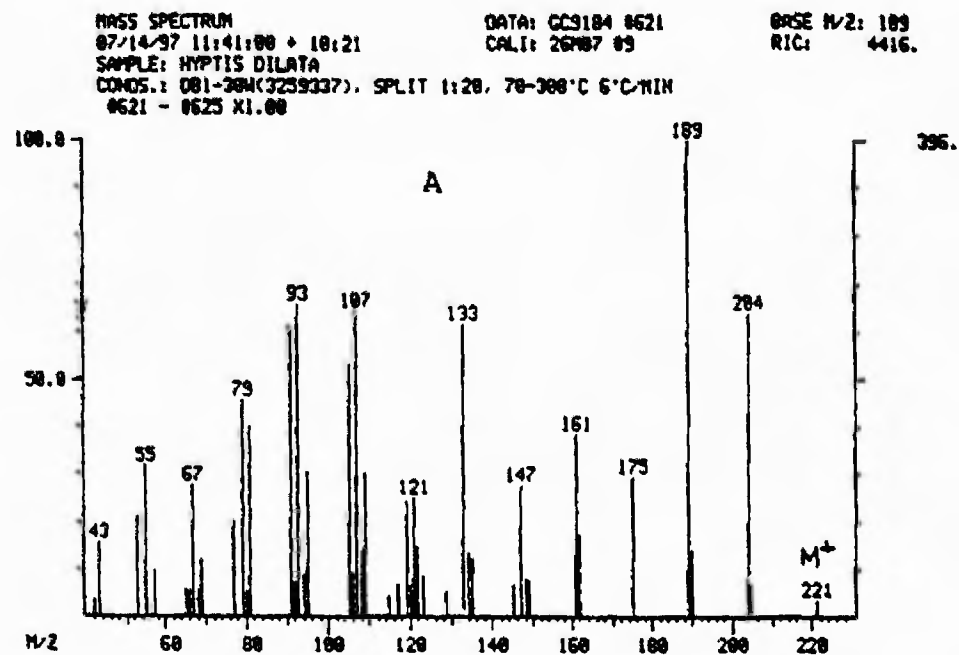


Fig. 20. Espectros de masas de sesquiterpenos oxigenados no identificados.

Los terpenos que presentan pesos moleculares de 204, 221 y 222 representan el 65,2% de los sesquiterpenos identificados y no identificados, de los cuales el 17,4% corresponden a los sesquiterpenos hidrocarbonados, el 4,3% a los sesquiterpenos oxigenados y el 43,5% a los sesquiterpenos no identificados. Según estos resultados, los sesquiterpenos presentan un porcentaje mas alto (65.5%) que los monoterpenos (34,8%) en el aceite esencial de H. dilatata.

En el cuadro X se presentan el peso molecular, la fórmula molecular y la estructura de cada componente identificado en el aceite esencial de H. dilatata.

CUADRO IX. INDICE DE RETENCION Y FRAGMENTOS OBTENIDOS DE LOS ESPECTROS DE MASAS DE CADA COMPONENTE PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE H. DILATATA.

Ri	FRAGMENTACIONES	COMPONENTES
927	136[M]+(8), 93(100), 91(36), 77(23), 121(11)	α -pineno
935	136[M]+(15), 93(100), 121(65), 41(42), 79(39)	canfeno
1005	136[M]+(21), 93(100), 91(43), 77(33), 79(29)	Δ^3 -careno
1015	152[M]+(35), 95(100), 81(71), 108(42), 55(38)	alcanfor
1017	154[M]+(3), 68(100), 67(74), 41(43), 43(37)	1,8-Cineol
1020	136[M]+(3), 68(100), 93(67), 79(34), 53(25)	limoneno
1198	154[M]+(1), 95(100), 110(23), 55(13), 67(11)	borneol
1265	196[M]+(3), 95(100), 43(78), 93(49), 136(45)	acetato de bornilo
1397	204[M]+(100), 161(86), 105(77), 189(72), 119(60)	NI
1405	204[M]+(5), 41(100), 93(92), 133(81), 69(73)	β -cariofileno

CONTINUACION












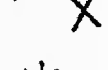

Ri	FRAGMENTACIONES	COMPONENTES
1428	204[M]+, 93(100), 119(92), 41(62), 69(41)	α -bergamoteno
1438	204[M]+(43), 91(100), 105(84), 93(80), 79(68)	NI
1446	204[M]+(22), 133(100), 105(95), 91(62), 163(55)	NI
1448	204[M]+(63), 41(100), 91(92), 161(87), 133(72)	alo-aromadendreno
1465	204[M]+(45), 189(100), 133(55), 91(33), 105(32)	γ -selineno
1470	204[M]+(16), 105(100), 91(27), 161(26), 107(23)	NI
1472	204[M]+(50), 105(100), 93(72), 79(61), 121(53)	NI
1474	204[M]+(52), 161(100), 105(79), 91(78), 79(75)	NI
1477	204[M]+(43), 161(100), 91(73), 107(70), 79(68)	NI
1480	204[M]+(48), 161(100), 93(57), 91(44), 189(40)	NI
1484	221[M]+ (4), 189(100), 93(66), 107(65), 204(64)	NI
1548	222[M]+(15), 111(100), 122(83), 41(51), 55(48)	N
1580	222[M]+ (5), 43(100), 122(65), 109(62), 41(55)	ledol

IR: Índice de retención.

[M]+ : ión molecular, fragmentaciones: m/z(intensidad).

NI: no identificado.

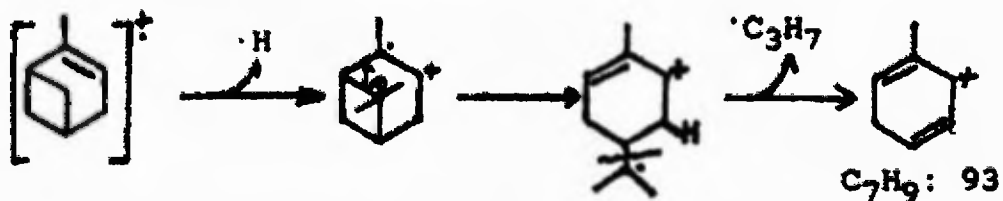
CUADRO X. PESO MOLECULAR, FORMULA MOLECULAR Y FORMULA ESTRUCTURAL DE LOS MONOTERPENOS Y SESQUITERPENOS IDENTIFICADOS.

COMPONENTES	P.M.	F.M.	F.E.
α -Pineno	136	$C_{10}H_{16}$	
Canfeno	136	$C_{10}H_{16}$	
Δ^3 -Careno	136	$C_{10}H_{16}$	
Limoneno	136	$C_{10}H_{16}$	
1,8-cineol	154	$C_{10}H_{18}O$	
Alcanfor	152	$C_{10}H_{18}O$	
Borneol	154	$C_{10}H_{18}O$	
Acetato de bornilo	196	$C_{12}H_{20}O_2$	
β -Cariofileno	204	$C_{15}H_{24}$	
α -Bergamoteno	204	$C_{15}H_{24}$	
Allo-aromadendreno	204	$C_{15}H_{24}$	
γ -Selineno	204	$C_{15}H_{24}$	
Ledol	222	$C_{15}H_{26}O$	

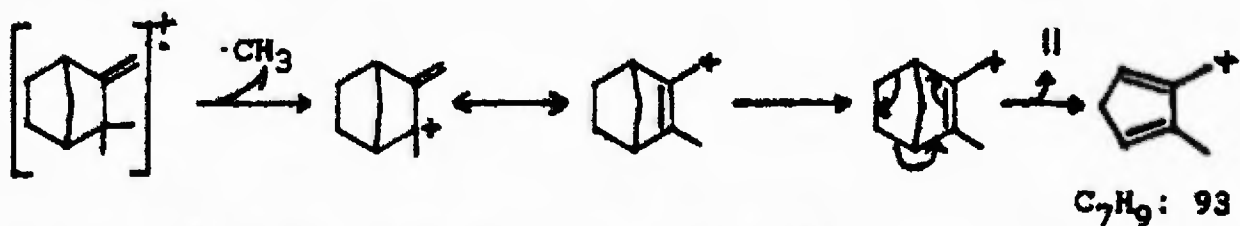
P.M.: peso molecular; F.M.: fórmula molecular; F.E.: fórmula estructural.

2.1 Estructuras propuestas para los picos bases observados en la fragmentación de los terpenos identificados.

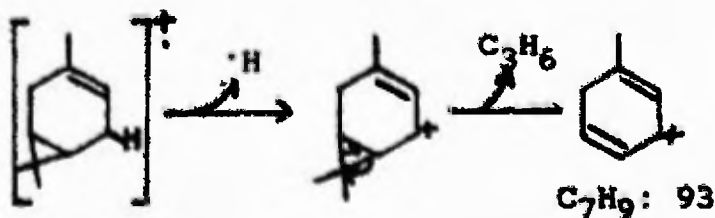
2.1.1 α -Pineno. Pico base: 93. 136[M]⁺



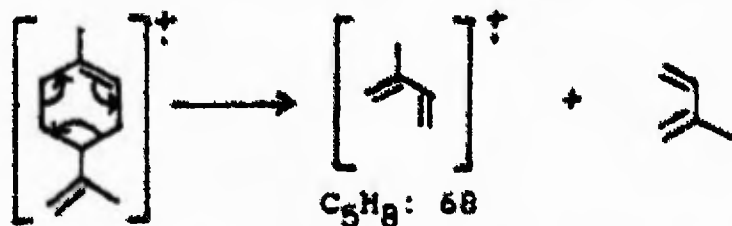
2.1.2 Canfeno. Pico base: 93. 136 [M]⁺



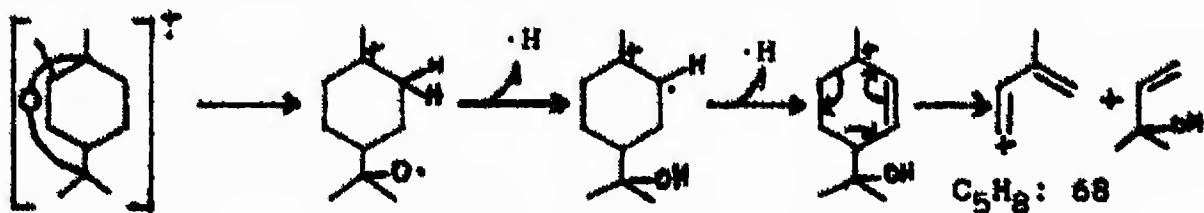
2.1.3 Δ^3 careno. Pico base: 93. 136 [M]⁺

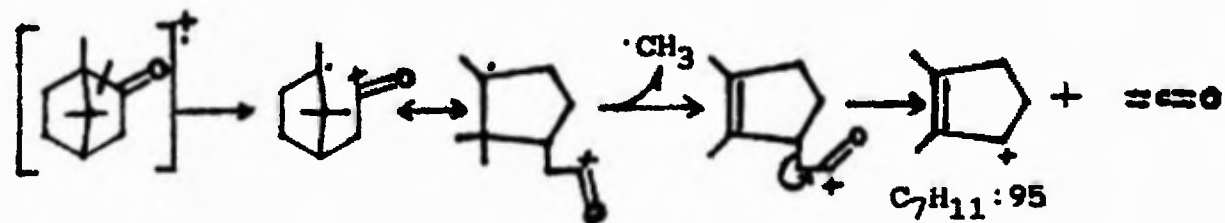
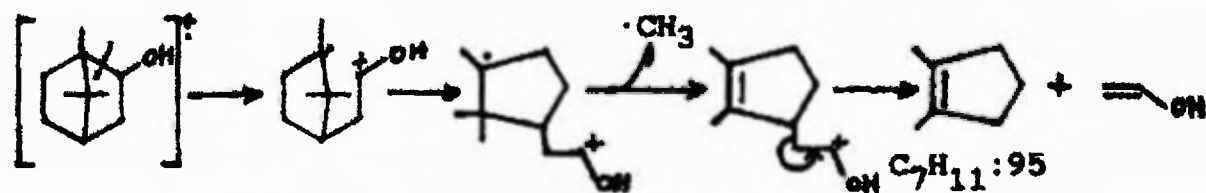
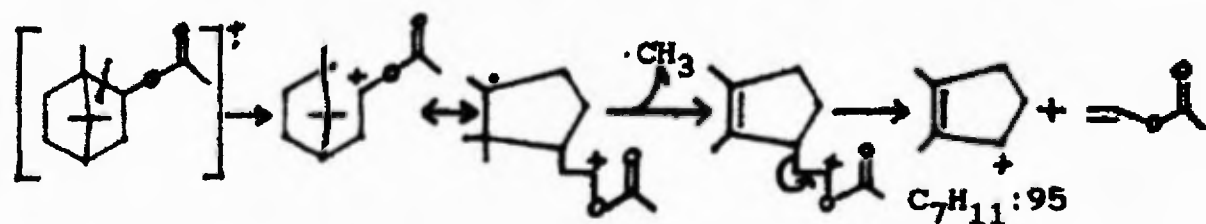
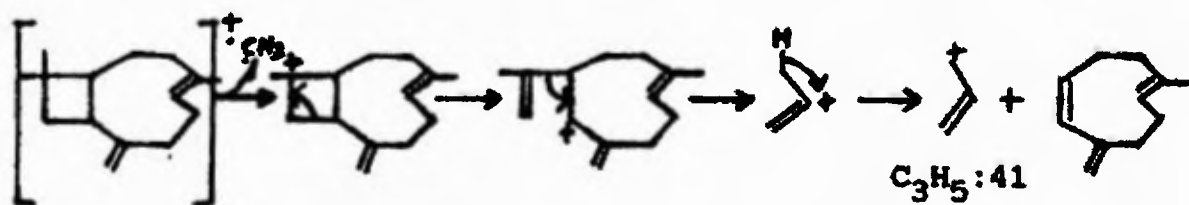
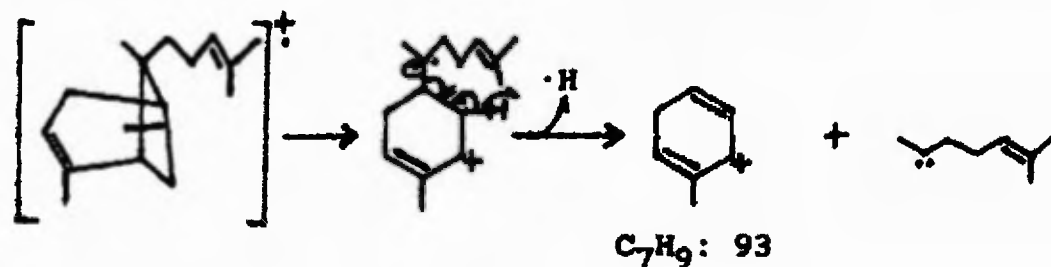


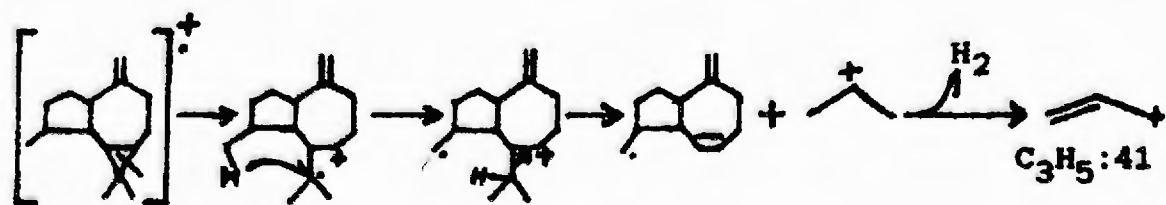
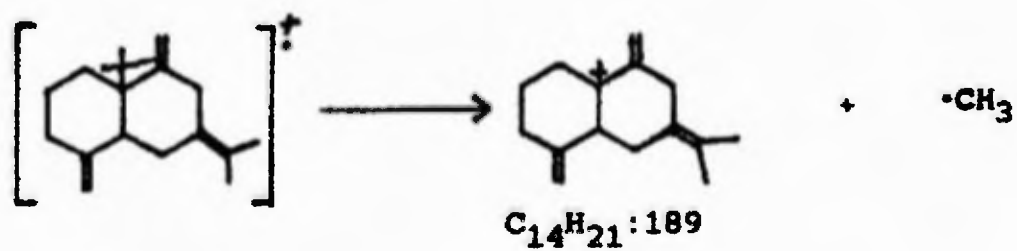
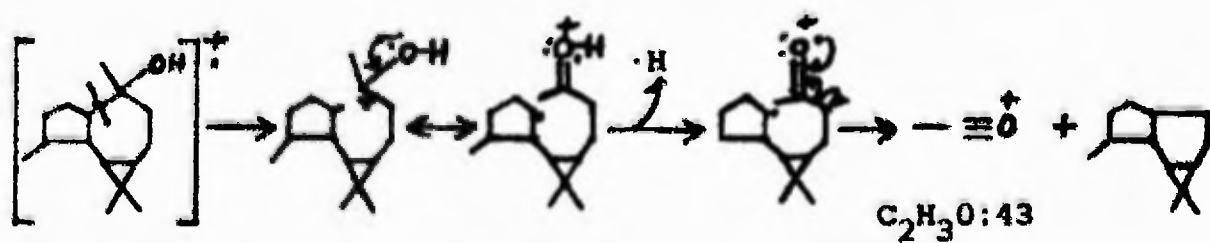
2.1.4 Limoneno. Pico base: 68. 136 [M]⁺



2.1.5 1,8-cineol. Pico base: 68. 154 [M]⁺



2.1.6 Alcanfor. Pico base: 95. 152 [M]⁺2.1.7 Borneol. Pico base: 95. 154 [M]⁺2.1.8 Acetato de bornilo. Pico base: 95. 196 [M]⁺2.1.9 β -Cariofileno. Pico base: 41. 204 [M]⁺2.1.10 α -Bergamoteno. Pico base: 93. 204 [M]⁺

2.1.11. Δ^1 -Aromadendreno. Pico base: 41. 204 [M]⁺2.1.12 δ -Selineno. Pico base: 189. 204 [M]⁺2.1.13 Ledol. Pico base: 43. 222 [M]⁺

3. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE Hyptis dilatata.

CUADRO XI. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE H. dilatata.

CONCENTRACIONES (ppm)	1	2	3	4	5	6
1000	+	-	-	-	-	+
500	+	-	-	-	-	±
250	-	-	-	-	-	-
125	-	-	-	-	-	-
62,5	-	-	-	-	-	-
31,2	-	-	-	-	-	-
15,6	-	-	-	-	-	-

1: Staphylococcus aureus; 2: Escherichia coli; 3: Salmonella gallinarum; 4: Klebsiella pneumoniae; 5: Pseudomonas aeruginosa; 6: Mycobacterium smegmatis.

Se han reportados estudios de actividad antimicrobiana que presentan los aceites esenciales de H. suaveolens (47,65,66) e H. pectinata (67). El aceite esencial obtenido de la hoja de H. dilatata mostró actividad inhibitoria contra algunos microorganismos.

En el cuadro XI se observa que el aceite esencial inhibe el crecimiento de Staphylococcus aureus a concentraciones de 1000 y 500 ppm. También se observa que inhibe el crecimiento de Mycobacterium smegmatis a una concentración de 1000 ppm y mas o menos a 500 ppm.

Los aceites esenciales de H. suaveolens e H. pectinata, inhiben el crecimiento de Staphylococcus aureus a concentraciones menores de 30 ppm y 1.10 ppm, respectivamente.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Los 13 terpenos identificados en el aceite esencial de la hoja de *Hyptis dilatata* son: α -pineno, canfeno, Δ^3 -careno, limoneno, 1,8-cineol, alcanfor, borneol, acetato de bornilo, β -cariofileno, α -bergamoteno, alo-aromadendreno, γ -selineno y ledol.
2. Monoterpenos y sesquiterpenos fueron la clase de terpenos identificados en el aceite esencial de *Hyptis dilatata*.
3. Se identificaron terpenos con grupos epóxido, cetona, alcohol y éster.
4. Se determinaron terpenos con estructuras de terpenos monocíclicos y bicíclicos.
5. Se identificaron mayor número de monoterpenos (ocho) que de sesquiterpenos (cinco).
6. El borneol se determinó en mayor cantidad (36.05%).

7. Los terpenos identificados han sido reportados en diferente composición en otras especies del género Hyptis.
8. El aceite esencial presenta actividad antibacterial contra Staphylococcus aureus y Micobacterium smegmatis.
9. El 1,8-cineol se determinó en trazas en el aceite esencial y se ha reportado que este monoterpeno oxigenado presenta actividad antihelmíntica. Esto pudiera sugerir que la actividad contra la miasis que presenta el aceite esencial de Hyptis dilatata de deba a la presencia de este compuesto.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

1. Estudiar la composición del aceite esencial de Hyptis dilatata en diferentes órganos de la planta (flor, tallo y raíz).
2. Estudiar la variación de composición en los aceites esenciales obtenidos en los diferentes órganos de Hyptis dilatata.
3. Estudiar la composición de los aceites esenciales obtenido en las hojas de diferentes especies del género Hyptis que se encuentran en nuestro país.
4. Realizar otros tipos de actividad biológica con el aceite esencial de Hyptis dilatata. Por ejemplo: actividad antiinflamatoria, antitumor, citotóxica, insecticida y antibacterial (Bacillus subtilis, Salmonella typhosa, Vibrio colera).

BIBLIOGRAFIA CITADA

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. PEREZ, A. (1996). **Fitomédica** 2, 12.
2. GROS, E.G., POMILIO, A.B., SELDES, A.M. Y BURTON, G. (1985). **Introducción al estudio de los productos naturales**. Secretaría General de la organización de los Estados Americanos. Washington, D.C., 79-89.
3. BRUNETON, J. (1995). **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants. Technique & Documentation-Lavoisier**. Paris, 406-455.
4. HARBONE, J.B. Y BAXTER, H. (1993). **Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants**. Taylor & Francis LTD. London, 555-580.
5. NEGRO, J.L. (1975). **Lenguaje Químico**. 1a. Ed. Editorial Alhambra, S.A. Madrid, 196-198.
6. IKAN, R. (1991). **Natural Products**. 2a. Ed. Academic Press INC. California.
7. HARBORNE, J.B. (1984). **Phytochemical Methods**. 2a. Ed. CHAPMAN AND HALL. London, 103-110.
8. STAHL, E. (1969). **Thin Layer Chromatography**. George Allen and Unwin. London.
9. GHAZANFAR, S.A. (1994). **Handbook of Arabian Medicinal Plants**. CRC Press, Inc. U.S.A. 120-128.
10. ZOMLEFER, W.B. (1994). **Guide to Flowering Plant Families**. Press Chapel Hill & London, 264-270.
11. D'ARCY, W.G. (1987). **Flora of Panama Checklist and Index. Part 1: The Introduccion and Checklist**. Missouri Botanical Garden. Sant Louis, Missouri, 71-111.
12. CORREA, M. (1931). **Diccionario Plantas Uteis e das Exo Cultivadas**. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro.

13. NAYAK, V.G. Y GUHA, P.C. (1952). **J. Ind. Chem. Soc.** 29, 183.
14. WILLIS, J.C. (1973). **A Dictionary of the Flowering Plants and Ferns.** Revised by A.K.A. Shaw. London.
15. GERMAN, V.F. (1971). **J. Pharm. Sci.** 60, 649.
16. SETH, K., JOLAD, S., WIEDHOFF, R. Y COLE, J.R. (1972). **J. Pharm Sci.** 61, 1819.
17. MORTON, J.F. Y THOMAS, CH.C. (1981). **Atlas of Medicinal Plants of Middle America Bahamas Yucatan.** Publisher. Illinois, 758-763.
18. WONG, W. (1976). **Some Folk Medicinal Plants from Trinidad.** Econ. Bot. 30, 103-142.
19. GUPTA, M.P. (1993). **J. Ethnopharmacol.** 40, 89-90.
20. AKAH, P.A. Y NWAMBIE, A.L. (1973). **Fitoterapia.** 64 1, 42-44.
21. EVANS, W.C. (1991). **Farmacognosia.** McGraw-Hill. México. 455-465.
22. CZYGAN, F.C., FROHNE, D., HÖLTZEL, C., NAGELL, A., PFÄNDER, H.J., WILLUHN, G. Y BUFF, W. (1994). **Herbal Drugs and Phytopharmaceutical. A Handbook for Practice on a Scientific Basis.** Medpharm Scientific Publishers. CRC Press. London, 336-337.
23. CHARLES, D.J., JOLY, R.J. Y SIMONS, J.E. (1990). **Phytochemistry.** 29, 2837.
24. VOIRIN, B., BRUN, N., Y BAYET, C. (1990). **Phytochemistry.** 29, 749.
25. DE LORETO BORDIGNON, S.A., SCHENKEL, E.P. Y SPITZER, V. (1997). **Phytochemistry.** 44 7, 1283-1286.
26. SIMOES, C.M.O., MENTZ, L.A., SCHENKEL, E.P., IRGANG, B.E. Y STEHMANN, J.R. (1994). **Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul.** Editora da Universidade/UFRGS, Porto Alegre, Brasil, 173.

27. EZER, N., VILA, R., CAÑIGUERAL, S. Y ADZET, T. (1996). **Phytochemistry**. 41 1, 203-205.
28. FONT QUER, P. (1962). **Plantas Medicinales**. Editorial Labor. Barcelona.
29. BASARAN, N., BASARAN, A., EROL, K., GÜLBAHAR, K., SEZIK, E. EZER, N. Y CAKMAK, A. (1986). **Proc. VIII National Biology Congress, Izmir (Turkey)**, Cilt I, 652.
30. YESILADA, E. Y. EZER, N. (1989). **Int. J. Crude Drug Res.** 27, 38.
31. EZER, N., SEZIK, E., EROL, K. Y ÖZDEMİR, M. (1992). **Proc. 9th Symposium on Plant Drugs, Eskisehir (Turkey)**. Baser, K.H.C. ed., Amadolu Univ. Pub. No. 641, 88.
32. EZER, N., USLUER, G., ÜZGÜNES, I. Y EROL, K. (1994). **Fitoterapia**. 65, 549.
33. TANOWITZ, B.O., JUNAK, S.A. Y SMITH, D.M. (1984). **J. Nat. Prod.** 47 4, 739-740.
34. GERMAN, V.F. (1971). **J. Pharm. Sci.** 60, 649.
35. KINGSTON, D.G.I. Y ZUCKER, W.V. (1978). **Llodia** 41, 652.
36. KINGSTON, D.G.I. Y ZUCKER, W.V. (1978). **J. Nat. Prod.** 42, 652.
37. KINGSTON, D.G.I., RAO, M.M. Y ZUCKER, W.V. (1979). **J. Nat. Prod.** 42, 469.
38. GARG, S.K. (1976). **Indian J. Med. Res.** 64, 1133.
39. SALUJA, A.K. Y SANTINI, D.D. (1981). **Indian Drugs**. 19, 127.
40. SALUJA, A.K., SANTAM, D.D. Y SINGH, J.D. (1981). **Indian Drugs**. 19, 127.
41. PANDEY, D.K., TRIPATHI, N.N., DIXIT, S.N. Y PFLANZENKR, Z. (1982). **Pflanzenschuiz**. 89, 344.
42. LUZ, A.I.R., ZOGHBI, M.G.B., RAMOS, L.S., MAIA, J.G.S. Y DA SILVA, M.L. (1984). **J. Nat. Prod.** 47 4, 745-747.

43. CRAVEIRO, A.A., FERNANDEZ, C.H.S., ANDRADE, C.H.S., MATOS, F.J.A., ALENCAR, J.W. Y MACHADO, M.I.L. (1981). **O'leos Essenciais do Nordeste, Fortaleza.** Edições UFC, 68.
44. MALAN, K., PELISSIER, Y., MARION, C., BLAISE, A. Y BESSIERE, J.M. (1988). **Plant Med.** 54 6, 531-532.
45. GOTTLIEB, O.R., KOKETSUN, M., MAGALHAES, M.T., MAIA, G. S., MENDES, P.H., DA ROCHA, A.I., DA SILVA, M.L. Y WILBERG, V.C. (1981). **Acta Amazonica** 11, 143-148.
46. DA SILVA, M.L., MAIA, J.G.S., MOURÃO, J.C., PEDREIRA, G, MARX, M.C., GOTTLIEB, O.R., MAGALHÃES, M.T. (1973). **Acta Amazonica VI**, 3(3), 41-42.
47. FUN, C.E., BAERHEIM, A. Y SVENDSEN, A. (1990). **Flavour and Fragrance Journal** 5 3, 161-164.
48. SINGH, G., UPADHYAY, R.K. y RAO, G.P. (1992). **Fitoterapia.** 63 5, 462-465.
49. SINGH, G. Y UPADHYAY, R.K. (1994). **Fitoterapia** 65 2, 186-187.
50. BUCHANAN, G.L. Y YOUNG, G.A.R. (1973). **J. Chem. Soc. Perkin I.** 2404.
51. RUCKERG, G. Y HEFENDEHL, F.W. (1978). **Phytochemistry.** 17, 809.
52. SCORA, R.W. Y TING, I.P. (1994). **J. Essential Oil Res.** 6 6, 571-575.
53. BALLAVARAPU, C.R., RAMESH, S., KAUL, P.N., BHATTACHARYA, A.K.y RAYESWARA RAO, B.R. (1993). **J. Essential Oil Res.** 5 3, 321-323.
54. PANT, A.K., MATHELA, C.S., PARIHAR, R., DEV, V., NERIO, A.T. Y BOTTINI, A.T. (1992). **J. Essential Oil Res.** 4 1, 9-13.
55. KINI, F., KAM, B., AYCARD, J.P., GORDON, E.M. Y BOMBARDA, I. (1993). **J. Essential Oil Res.** 5 2, 219-221.

56. ONAYADE, O.O., LOOMAN, A., SCHEFFER, J.J.C. Y SVENDSEN, A.B. (1990). **Flavour and Fragrance Journal**. 5 2, 101-106.
57. PEREZ-ALONSO, M.J., ESTEBAN, J.L., GUZMAN, C.A., ZYGADLO J.A. Y ESPINAR, L.A. (1995). **J. Essential Oil Res.** 7 1, 81-82.
58. BARBOSA, P.P. Y RAMOS, C.P. (1992). **Phytother Res.** 6 2, 114-115.
59. REIS LUZ, A.I., BICHARA ZOGHBI, M.G., DA SILVA, M.L., RAMOS, L.S. Y SOARES MAIA, J.G. (1989). **Acta Amazonica**. 19, 365-370.
60. CONSEIL DE L. EUROPE. (1983). **Pharmacopée Européenne, vol. 1.** Maisonneuve, S.A. Sainte Ruffine.
61. CURTIN, D.Y., FUSON, R.C. Y SHRINER, R.L. (1972). **Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos.** Editorial Limusa-Wiley, S.A., 62-67.
62. MITSCHER, L.A., LEU, R.P., BATHALA, M.S., WU, W.N., Y BEAL, J.L. (1971). **Antibiotic Agents from higher Plants.** Llodia 35 2, 157-166.
63. RIOS, J.L., RECIO, M.C. Y VILLAR, A. **Screening Methods for Natural Products with Antimicrobial Activity: A review of the literature.** J. Ethnopharmacol., 23(2/3), 127-149.
64. CLAUS, E.P., TYLER, V.E. Y BRADY, L.R. (1971). **Pharmacognosy.** 6a. Ed. Lea & Febiger. Philadelphia 160-163.
65. IWU, M.M., EZEUGWU, C.O., SANSON, D.R. Y TEMPESTA, M.S. (1990). **Int. J. Crude Drug Res.** 281, 73-76.
66. KAR, A., JAIN, S.R. (1971). **Qual Plant Mater Veg.** 20, 231.
67. MALAN, K., DUSART, G., MARION, C., LOUKOU, Y., DE BUOCH BERG, MS., ATTISO, M. Y PELISSIER, Y. (1986). **Plant Med. Phytother.** 204, 323-329.