

Bioactividad de aceites esenciales de las hojas de las plantas *Cymbopogon citratus*, *Ageratum conyzoides*, *Piper carpunya*, *Artemisia absinthium* y *Lippia citriodora*

Haydelba D'Armas, PhD^{1,2}, Priscilla Valverde, Lcda², Mercedes Campo, PhD² y Carmita Jaramillo-Jaramillo, MSc²

¹Universidad Estatal de Milagro, Milagro, Ecuador, hdamasr@unemi.edu.ec

²Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador, htrinidad86@hotmail.com

Abstract—Essential oils from fresh leaves of *Cymbopogon citratus* S (Opaceae), *Lippia citriodora* K (Verbenaceae), *Artemisia absinthium* L (Asteraceae), *Ageratum conyzoides* L (Asteraceae), and *Piper carpunya* Ruiz & Pav (Piperaceae) plants collected in Ecuador, were extracted by hydro-distillation. The toxic activity (CL₅₀) was assessed by bioassay described by Meyer et al. (1982), where the toxicity of essential oils was measured against the *Artemia salina* nauplii. Antibacterial and antifungal activity were performed with the plate diffusion method, as described by Bauer et al. (1966) and Madubunyi (1995) methodologies respectively; certified bacteria strains (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) and a fungal pathogen strain (*Candida albicans*) were used. LC₅₀ of essential oils tested against *A. salina* nauplii, varied only between 31.42 and 31.76 µg/mL, indicating that they are highly toxic, so it is presumed that they may have antitumor activity. These essential oils demonstrated a significant bactericidal activity against *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* and *C. citratus* essential oil showed strong antibacterial activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*; moreover, all essential oils showed strong antifungal activity against *C. albicans* fungus, with the exception of *C. citratus*. The results indicate that essential oils of the studied species have great pharmacological value.

Keywords—*C. citratus*, *A. conyzoides*, *P. carpunya*, *A. absinthium*, *L. citriodora*

I. INTRODUCCIÓN

Existen algunos estudios científicos de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), mastrante (*Ageratum conyzoides*), guabiduca (*Piper carpunya*), ajenjo (*Artemisia absinthium*), cedrón (*Lippia citriodora*), enfocados en sus propiedades terapéuticas (Valarezo, 2008); pero no se han enfocado en si en sus metabolitos y sobre todo en su actividad biológica (antimicrobiana y letal). Las plantas medicinales tienen sus propiedades terapéuticas, las cuales podrían variar dependiendo del hábitat donde crece la planta. En la actualidad los aceites esenciales de las plantas son muy utilizados, bien sea con propósitos ornamentales o medicinales, ya que los compuestos químicos que tienen los aceites esenciales de las plantas pueden ser considerados como fuente incalculable de información para el descubrimiento de nuevos principios activos de uso potencial en la medicina. Meyer et al. (1982) fueron los iniciadores del uso de las larvas de *Artemia* spp. en sustitución de animales superiores para la

evaluación de extractos vegetales, con el fin de hallar compuestos con actividad antitumoral y citotóxica. En esta investigación, se realizaron bioensayos de antibiograma y toxicidad en *Artemia salina* para conocer el poder antimicrobiano y letal de las esencias de las hojas de las especies antes mencionadas; lo cual otorga una información fundamental preliminar al campo fitofarmacéutico.

II. METODOLOGÍA

Las especies vegetales *Cymbopogon citratus* S (Opaceae), *Lippia citriodora* K (Verbenaceae), *Artemisia absinthium* L (Asteraceae), *Ageratum conyzoides* L (Asteraceae), y *Piper carpunya* Ruiz & Pav (Piperaceae) fueron recolectadas al azar en ecosistemas naturales de las localidades de Machala y Santa Rosa, Ecuador, en julio y agosto de 2014. Los aceites esenciales de las hojas frescas de las plantas se extrajeron por hidro-distilación. La actividad tóxica con nauplios de *Artemia salina* se evaluó mediante el bioensayo descrito por Meyer et al. (1982), donde se midió la toxicidad de los distintos aceites, contra nauplios del crustáceo comercial *Artemia salina*, previamente eclosionadas, a concentraciones del extracto de 1000, 100, 10 y 1 µg/ml por 24h. Para la cuantificación de la mortalidad de los nauplios a las 24 h de exposición a las diferentes muestras, se calculó la CL₅₀ mediante el programa estadístico V2.5 Finney Dos (métodos Probit, Logit y Moving Average con un límite de confianza de 95%) diseñado por Stephan (1977) para determinar la concentración letal media (CL₅₀). Finalmente, se clasificaron los aceites evaluados según la toxicidad, tomando como referencia las recomendaciones del CYTED (1995). Para determinar la actividad antibacteriana se utilizó la técnica de difusión en placas, según la metodología descritas por Bauer et al. (1966), empleándose cepas de bacterias certificadas: una Gram positiva (*Staphylococcus aureus*) y dos Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) y una suspensión bacteriana de 10⁸ células/mL. Para evaluar la actividad antimicótica se siguió la técnica descrita por Madubunyi (1995), utilizando cepas de un hongo patógeno (*Candida albicans*) de origen clínico. Ambos ensayos fueron realizados con una concentración de solución de esencia de 40 mg/mL y discos o pozillos de 5 mm de diámetro. La actividad antimicrobiana se verificó midiendo el diámetro del halo de inhibición alrededor

de los discos o pozillo en mm, se evaluaron los diámetros de los halos de inhibición tomando como referencia los criterios expuestos por Monks *et al.* (2002) para extractos crudos.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los CL₅₀ de los aceites esenciales de las hojas de las especies ensayados contra nauplios de *A. salina*, variaron solo entre el 31,42 y 31,76 µg/ml, no existió una gran diferencia entre estos aceites esenciales, ya que solo en las disoluciones de 1000 y 100 murieron todos los nauplios de *A. salina*. Estas esencias poseen letalidad o toxicidad muy significativa, CL₅₀<100 µg/ml, por lo cual se presume que los mismos podrían tener actividad antitumoral. McLaughlin *et al.* (1998) determinaron que existe una correlación positiva entre la mortalidad de las larvas de *Artemia* y la citotoxicidad frente a las células 9KB (carcinoma nasofaríngeo humano) y la línea celular 3PS (P388) (leucemia *in vivo*). De acuerdo con las categorías CYTED de toxicidad, todos los aceites esenciales analizados son altamente tóxicos, por lo cual se puede decir que los mismos podrían ser fuentes promisorias de compuestos antitumorales.

En cuanto a la actividad antimicrobiana, tanto para *P. aeruginosa* como *S. aureus*, el aceite esencial de *C. citratus* mostró halos de inhibición de mayor tamaño contra estas cepas bacterianas, por lo cual esta especie mostro una actividad antibacteriana moderada y fuerte respectivamente, a diferencia de los aceites de *L. citriodora*, *A. conyzoides*, *P. carpunya* y *A. absinthium* que exhibieron un menor halo de inhibición, mostrando una actividad leve. *L. citriodora*, *C. citratus* y *A. conyzoides* mostraron una actividad leve frente a *E. coli*. Se puede aseverar que los aceites esenciales de las especies vegetales mencionadas demostraron una actividad bacteriana significativa contra los microorganismos utilizados *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*. El uso popular de estas especies vegetales utilizadas muestra una baja toxicidad, la cual sería muy importante en la elaboración de medicamentos antimicrobianos. La actividad antifúngica dió como resultados que para *C. albicans*, todos los aceites esenciales, a excepción del de *C. citratus*, mostraron mayores halos de inhibición (superiores a 18mm) y por ende una actividad antifúngica fuerte, por lo cual se podrían usar como antimicóticos. Los resultados obtenidos demuestran que los aceites esenciales estudiados son bioactivos: altamente tóxicos y antimicrobianos, lo que indica la presencia de sustancias citotóxicas y con propiedades antibacterianas y antifúngicas, mostrando que los mismos poseen un gran potencial farmacológico.

TABLA I

ACTIVIDAD LETAL (µG/ML) CONTRA *A. SALINA*, DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS

Especie vegetal	CL ₅₀ (24 h)	Método	Categorías CYTED de toxicidad
<i>Cympopogon citratus</i>	31,62	Binomial	altamente tóxico
<i>Lippia citriodora</i>	31,42	Binomial	altamente tóxico

<i>Ageratum conyzoides</i>	31,57	Binomial	altamente tóxico
<i>Artemisia absinthium</i>	31,76	Binomial	altamente tóxico
<i>Piper carpunya</i>	31,59	Binomial	altamente tóxico

TABLA II

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS.

Microorganismos	<i>C. citratus</i>	<i>L. citriodora</i>	<i>A. absinthium</i>	<i>A. conyzoides</i>	<i>P. carpunya</i>
Bacterias :					
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++	+	+	+	+
Hongos :					
<i>Candida albicans</i>	+	+++	+++	+++	+++

+++ : Actividad fuerte (diámetro superior a 18mm), ++ : Actividad moderada (diámetro entre 15-18mm), + : Actividad leve (diámetro entre 11-14mm), - : no hay actividad (Monks *et al.* (2002).

IV. CONCLUSIONES

Las concentraciones letales medias obtenidas indican que las esencias estudiadas son altamente tóxicas y la presencia de sustancias citotóxicas. De la actividad antibacteriana se resalta que el aceite que más inhibe a las bacterias ensayadas es el de *C. citratus*; sin embargo, los aceites esenciales de las otras especies mostraron mayores halos de inhibición en ensayo con *C. albicans* y por ende una mayor actividad antifúngica, recomendándose su posible uso como antimicótico. Los resultados obtenidos indican que los aceites esenciales de las especies estudiadas poseen un gran valor farmacológico.

REFERENCIAS

- [1] Bauer, A., Kirby, A., Sherris, J. y Turk. M. (1966). "Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method". American Journal of Clinical Pathology, Vol. 45, No. 4, pp. 493-496.
- [2] CYTED (1995). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación. Editor R. Pinzón. Pp. 45-49.
- [3] Madubunyi, I. (1995). "Antimicrobial activities of the constituents of Garcinia kola seeds". Intern. J. Pharm, Vol. 33, No. 3, pp. 232-237.
- [4] McLaughlin, J. L. y Lingling, L. R. (1998). "The use of biological assays to evaluate botanicals". Drug Information Journal. Vol. 32, pp. 513-524.
- [5] Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. y McLaughlin, J. L. (1982). "Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents". Planta Medica, Vol. 45, pp. 31-34.
- [6] Monks, N., Lerner, C., Henriques, A., Farias, F., Schapoval, E., Suyenaga, E., Da Rocha, A., Schwartzmann, G. y Mothes, B. (2002). Anticancer, antichemotactic and antimicrobial activities of marine sponges collected off the coast of Santa Catarina, southern Brazil. J. Exp. Mar. Biol. Ecol, Vol. 281, pp. 1-12.
- [7] Stephan, C. (1977). Methods for calculating in LC50. En: American Society for testing and Material (ASTM) Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation. F.L. Mayer y J. Hamelink (eds), Philadelphia, Pennsylvania.
- [8] Valarezo, E. (2008). Aceites esenciales: generalidades, extracción, caracterización y usos. Instituto de Química Aplicada. Universidad Técnica Particular de Loja, p. 3-14.