

Composición química, actividad antioxidante y toxicidad aguda
del aceite esencial de *Satureja pulchella* “Panizara”

*Chemical composition, antioxidant activity and acute toxicity of the
essential oil of Satureja pulchella “Panizara”*

MARIO CARHUAPOMA YANCE,¹ SOFÍA LÓPEZ G.,² FÉLIX VELIZ LM.,¹ LUIS INOSTROSA R.¹,
RICARDO YULI P.¹, NORMA CARLOS C.

1 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Fac. de Farmacia y Bioquímica. E-mail: mariocarhuapomayance@hotmail.com

2 Maestría Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Fac. de Farmacia y Bioquímica

Resumen

La *Satureja pulchella* "panizara" es una especie aromática nativa del Perú, según datos etnofarmacológicos es utilizada para solucionar problemas gastrointestinales y de las vías respiratorias. Con el objetivo de caracterizar los parámetros físico-químicos, actividad antioxidante y la toxicidad aguda del aceite esencial de *S. pulchella*, realizamos el presente trabajo. La obtención del aceite esencial fue por el método de arrastre con vapor de agua; el rendimiento se determinó por gravimetría-volumétrico; densidad, por picnometría; e índice de refracción, por refractometría. La actividad antioxidante se determinó por el método del radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) y la toxicidad aguda por el método de Dosis Límite. Reportando un rendimiento 1,5% v/p; densidad 0,98 g/mL; índice de refracción 1,494; la actividad antioxidante es muy cercano al comportamiento del trolox, presentando una concentración media (IC50) de 7,675 $\mu\text{l/mL}$, frente al trolox, 6,48 $\mu\text{g/mL}$; la dosis letal media (DL50) es 777,19 mg/kg. Los resultados indican que el aceite esencial de *S. pulchella* posee actividad antioxidante y una ligera toxicidad aguda, dichas actividades se deben a la estructura química del aceite esencial que posee.

Palabras clave: *Satureja pulchella*, aceite esencial, actividad antioxidante, toxicidad.

Abstract

The *Satureja pulchella* "panizara" is an aromatic native species of Peru, according to information etnofarmacológicos is used by it to solve gastrointestinal problems and of the respiratory tract. With the aim to characterize the parameters physicist - chemist, antirust activity and the sharp toxicity of the essential oil of *S. pulchella*, we realize the present work. The obtaining of the essential oil was for the method of dragging with water steam; the yield decided for gravimetría-volumétrico; density, for picnometría; and index of refraction, for refractometría. The antirust activity decided for the method of the radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) and the sharp toxicity for the method of Dose Limit. Bringing a yield 1,5 % v/p; density 0,98 g/mL; index of refraction 1,494; the antirust activity is very near to the behavior of the trolox, presenting a concentration happens (IC50) of 7,675 $\mu\text{l/mL}$, opposite to the trolox, 6,48 $\mu\text{g/mL}$; the lethal average dose (DL50) is 777,19 mg/kg. The results indicate that the essential oil of *S. pulchella* possesses antirust activity and a light sharp toxicity, the above mentioned activities owe to the chemical structure of the essential oil that it possesses.

Key words: *Satureja pulchella*, essential oil, antioxidant activity, toxicity.

Introducción

En nuestros días aumenta el número de enfermedades cuyo factor más preponderante sería el estrés oxidativo, producido cuando el ataque oxidativo de los radicales libres supera las defensas antioxidantes del cuerpo. Algunas patologías asignadas parcial o totalmente a dichos radicales libres son: el envejecimiento, dermatitis de contacto, gota, Alzheimer, esclerosis múltiple, pancreatitis, parkinson, demencia senil, colitis y cáncer.

Numerosas investigaciones han demostrado los efectos antioxidantes de compuestos fitoquímicos, estos incluyen vitaminas (A, C y E), minerales (zinc, selenio, calcio), isotiocianatos, esteroides, fenoles, cumarinas, indoles, clorofila y aceites esenciales.

Muchas investigaciones han demostrado la actividad antioxidante de los aceites esenciales, esta propiedad se debe a sus metabolitos bioactivos, como los compuestos fenólicos y terpénicos, considerándose a los aceites esenciales de la *S. pulchella* dentro de esta lista. La composición de los aceites esenciales de la *S. pulchella* está constituida por la presencia de los siguientes terpenos: pulegona, cimeno, carvacrol, acetato de bornilo y pineno.

Materiales y métodos

1.1 Métodos

1.1.1 Colecta de materia vegetal^[18]: la *S. pulchella* se colectó en la provincia de Pallasca, Ancash, cuyo clima es relativamente templado, a una altitud aproximada de 3500 msnm.

1.1.2 Procesamiento de la muestra^[18]: las hojas fueron sometidas a un proceso de secado bajo sombra a 21 °C y 0,72 atm, para luego obtener una muestra que fuera fácil de triturar al frotar con las manos, luego se guardó en bolsas de papel, hasta su utilización.

1.1.3 Extracción del aceite esencial^[2]: a partir de 5 kg de hojas secas se sometió a extracción, por el método de arrastre con vapor de agua. Una vez destilado se separó por diferencia de densidades, se trató

con sulfato de sodio anhidro, filtrándose y guardó en un frasco de vidrio de color ámbar bajo refrigeración (4 °C).

1.1.4 Rendimiento del aceite esencial (%RAE)^[4]: se determinó mediante la técnica gravimetría-volumétrico.

1.1.5 Constantes físicas^[4]: la densidad, por picnometría; índice de refracción, por refractometría.

1.1.6 Caracterización química del aceite esencial^[18]: por los estudios ya elaborados en otras especies del mismo género SATUREJA, se han caracterizado en sus aceites esenciales los siguientes componentes: carvacrol, pulegona, acetato de bornilo, entre otros. En ese trabajo se procedió a la caracterización de la PULEGONA, convirtiéndolo en un derivado binitrosado, mezclando 1 mL del aceite con 2 mL de éter de petróleo y 1 mL de nitrito de amilo, consiguiendo así una pasta de agujas finas y largas que son el derivado nitrosado; otro de los terpenos a caracterizar es el PINENO, a una muestra del aceite se le adicionó ácido pícrico y no reaccionó a temperatura ambiente pero hervida ocasionó una reacción muy vivaz, que después de enfriarse precipitó un compuesto cristalino amarillo pálido; para el CARVACROL se hizo uso de su propiedad de reaccionar con los compuestos de halógenos (yodo), a una pequeña cantidad de esencia en una cápsula se le añade Iodo N/10 en exceso, se formó un precipitado para luego ser acidificado con H₂SO₄ y el exceso valorado con Na₂S₂O₃ N/10. Para el caso del ACETATO DE BORNILLO, tratado con presencia de potasa diluida se desprende el borneol.

31.7. Actividad secuestradora de radicales libres usando DPPH^[10]: se utilizó el método de Joyeux et al. (1995), se adicionó 0,75 mL de aceite esencial a distintas concentraciones (µg/ml) por 1,5 mL de volumen de solución de DPPH (radical libre 1,1-difenil-2-picrihidrazil) (0,1mM en etanol al 95%). Luego de haber dejado la mezcla

a temperatura ambiente por cinco minutos, la absorbancia se registró a 517 nm. La actividad secuestradora de radicales libres es expresada como una concentración efectiva 50% (CE 50; la concentración de sustancia de prueba requerida para reducir la absorbancia de la solución blanco de DPPH en 50%). El TROLOX se utilizó como patrón de referencia.

3.1.8. Toxicidad aguda oral del aceite esencial[13]: se determinó por el método de dosis límite, empleando seis ratones albinos suizos, por cada grupo de tratamiento, con una masa corporal comprendida entre 21,50 a 25,30 g, los cuales fueron mantenidos a una temperatura controlada de 20 + 2 °C con un ciclo de luz/oscuridad de 12-12 horas. La alimentación consistió en ratonina peletizada y agua a voluntad. Se confeccionaron grupos de seis ratones, identificados individualmente para su dosificación exacta mediante un sistema de marcaje con ácido pícrico o violeta de genciana. Se administró el aceite esencial por vía oral mediante cánula intragástrica, con previo ayuno de cuatro horas; se ensayaron tres niveles de dosis: 50 mg/kg(mínima), 200 mg/kg(media) y 2000 mg/kg(máxima), con el propósito de determinar la dosis letal media (DL50). Los animales fueron observados constantemente durante las primeras 24 horas, continuando la misma diariamente durante un periodo de 14 días, registrando cualquier síntoma tóxico. Después de los 14 días se sacrificaron por tracción de la nuca para realizarles la necropsia, y se efectuó un examen macroscópico de órganos y tejidos principalmente corazón, riñón, pulmón, bazo e hígado. El peso corporal se controló al inicio y al final del experimento.

El valor de la DL50 se estimó mediante el método estadístico de los Probits.

Resultados

Tabla 1. Principales constantes físicas del aceite esencial de *Satureja pulchella* "panizara"

CONSTANTES FÍSICAS	VALORES
Rendimiento	1,% v/p
Densidad	0,98 g/ml
Índice de refracción	1,494

Tabla 2. Principales componentes químicos del aceite esencial de *Satureja pulchella*.

COMPONENTES QUÍMICOS
Pulegona
Cimeno
Carvacrol
Acetato de bornilo
Pineno

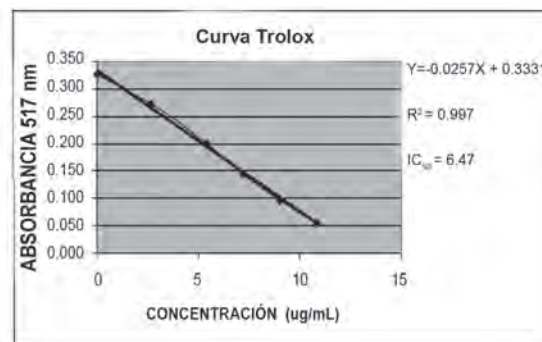


Figura 1. Concentración de inhibición media del TROLOX frente al DPPH.

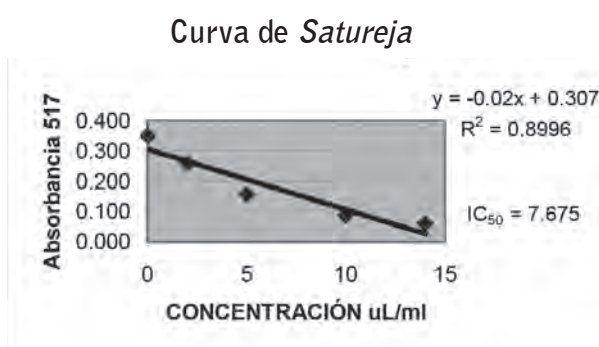


Figura 2. Concentración de inhibición media del aceite esencial de la *Satureja pulchella* frente al DPPH.

Tabla 3. Ensayo de toxicidad oral del aceite esencial de *Satureja pulchella* en ratones albinos.

DOSIS (mg/kg)	SÍNTOMAS	DL ₅₀ (mg/kg)
2000, 200 y 50	Depresión profunda, incoordinación motora, respiración acelerada, piloerección, arrastra el tren posterior, sedación, reestablecimiento y muerte de un número parcial.	777,19 mg/kg

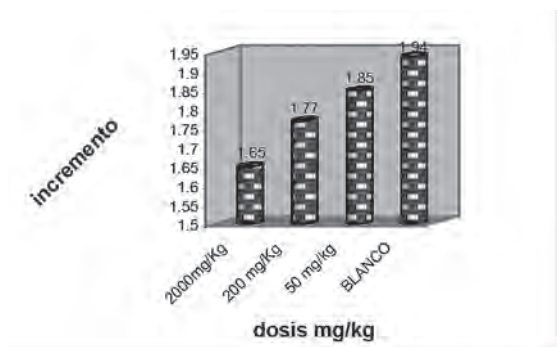


Figura 3. Variación en el incremento de peso corporal a diferentes concentraciones del aceite esencial de *S. pulchella* según la prueba de Tukey.

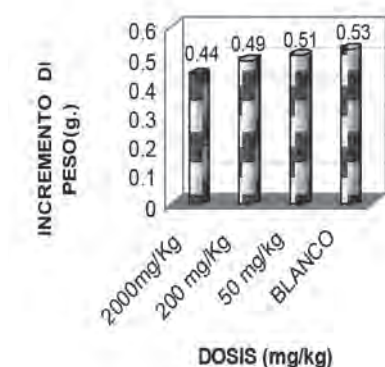


Figura 4. Variación en el incremento de peso de hígado a diferentes concentraciones del aceite esencial de *S. pulchella* según la prueba de Tukey.



Figura 5. Variación en el incremento de peso de riñones a diferentes concentraciones del acei-

te esencial de *S. pulchella* según la prueba de Tukey.

Discusión

Esta especie fue coleccionada por primera vez por Humboldt y Bonpland, cerca de Contumazá (Cajamarca), desde entonces ha sido recolectada también por otros estudiosos en distintos lugares del mismo departamento. Dentro de las variadas formas de uso popular se encuentran sus propiedades antisépticas, antiespasmódicas, analgésicos, antiulcerosos, entre otros. Han existido estudios acerca de este género entre ellos encontramos la realizada por Vargas[1], donde se reportan algunas de las características físicas, reportadas en la Tabla 1.

En el análisis cualitativo (Tabla 2), se muestra la composición química del aceite esencial de *S. pulchella*, caracterizando componentes como: pulegona, cimeno, carvacrol, acetato de bornilo y pineno.

El aceite esencial de *S. pulchella* presenta actividad antioxidante en el modelo del radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hidrazyl) comparado con el Trolox. De esta manera estaría justificándose la estructura y actividad antioxidante del aceite esencial de *S. pulchella*. En este modelo todas las moléculas del aceite esencial actuarían en sinergismo, potenciando su capacidad antirradicalaria, dando una protección a las macromoléculas biológicas, como las proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos.

Como parte complementaria, se ensayó la toxicidad aguda oral del aceite esencial. En ratones albinos, Tabla 4, el aceite esencial demostró efectos fisiológicos de depresión profunda, incoordinación motora, respiración acelerada, piloerección, arrastre del tren posterior, sedación y reestablecimiento de la mayoría de los animales tratados. Murieron seis ratones tratados a 2000 mg/kg, en la observación macroscópica de los principales órganos: corazón, riñón, bazo, hígado, no se apreciaron diferencias significativas de toxicidad frente al control.

La DL50 determinada para el aceite de "panizara" ha sido 777,19 mg/kg, siendo ligeramente tóxica según la tabla de Williams[8], que indicaría que dicha concentración mata al 50% de los

ratones en un experimento farmacológico; se justificaría porque todo aceite esencial purificado es un concentrado potente que contiene componentes de distintas funciones orgánicas; es más, el uso de un aceite esencial solo es en gotas. Existen pocos estudios de la toxicidad aguda de los aceites esenciales. Suárez et al. (2003) determinaron la DL50 para el aceite esencial de *Satureja viminea*, que resultó en 556,8 mg/kg[16].

En el Figura 3, se aprecia que a diferentes concentraciones de esencia los ratones varían de peso corporal, es así que a 2000mg/kg de concentración, solo incrementa en 1,05g, frente al control que incrementa en 5,13 g. A 200 mg/kg y 50mg/kg incrementa en 3,3392 y 4,20 g, respectivamente. Dicho resultado indicaría que el aceite esencial de *S. pulchella* inhibe el incremento de peso corporal proporcionalmente al incrementar su concentración. Podría estar relacionado con su actividad hipocolesterolemica de sus extractos, como lo demuestra Carhuapoma (2006)[4].

Se puede afirmar que *Satureja pulchella* "panizara", es una especie nativa de los Andes peruanos, con actividad antioxidante y que dicha actividad se debe a la concentración y propiedad de sus estructuras moleculares.

Conclusiones

Los resultados indican que el aceite esencial de *S. pulchella* posee actividad antioxidante y una ligera toxicidad aguda, dichas actividades se deben a la estructura química del aceite esencial que posee.

Agradecimiento: A la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, por todas las facilidades.

Referencias bibliográficas

1. Attar F, Einollahi N, Keyhani E, Keyhani J. Study on superoxide dismutase in *Satureja hortensis* L. roots. Acta Hort. (ISHS).2006 Nov 30;723:215-220.
2. Bandoni, A. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Bs.As.;2000
3. Bandoniené D, Venskutonis PR, Gruzdiené D, Murkovic M. Antioxidative activity of sage (*Salvia officinalis* L.), savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borago officinalis* L.) extracts in rapeseed oil. Eur. J. Lipid Sci. Technol.2002 May 15;104(5):286-2.
4. Carhuapoma M, Soria R, López S, Acosta A, García J, Arce J. Caracterización Morfoanatómica y Screening Fitoquímica de la Hoja y Tallo de la *Satureja pulchella* "panizara". Lima (PE): Laboratorio de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNMSM.
5. Choi H, Song SH, Ukeda H, Sawamura M. Radical -Scavenging actives of Citrus essential oils and components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyd. J Agric Food Chem 2000;48:4156-4161.
6. Chorianopoulos N, Evergetis E, Mallouchos A, Kalpoutzakis E, Nychas GJ, Haroutounian SA. Characterization of the essential oil volatiles of *Satureja thymbra* and *Satureja parnassica*: influence of harvesting time and antimicrobial activity. J Agricult Food Chem 2006 Apr 19;54(8):3139-45.
7. CYTED. Manual de técnicas de investigación. Sub programa X. Química Fina Farmaceutica. Panama;1995
8. Dorman HJD., Hiltunen R. Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions. Food Chem.2004 Nov;88(2):193-9
9. Güllüce M, Sökmen M, Daferera D, Açar G, Ozkan H, Kartal N, Polissiou M, Sökmen A, Sahin F. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. J Agricult Food Chem 2003 JUL 2;51(14):3958-65.
10. Joyeux M, Lobstein A, Antón R., Mortier F. Comparative antilipoperoxidant, antinecrotic and scavenging properties of terpenes and biflavones from Gingo and some flavonoids. Planta Med. 1995;61:126-129.
11. Keyhani J, Keyhani E. Peroxidase activity in *Satureja hortensis* L. roots. Acta Hort. (ISHS).2006 Nov 30;723:209-4.

12. Klein SM, Cohen G, Cederbaum AI. Production of formaldehyde during metabolism of dimethyl sulfoxide by hydroxyl radical generating systems. *Biochemistry* 1981; 20:6006-6012.
13. Lagarto PA, Tillan CJ, Vega MR, Cabrera GY. Toxicidad aguda oral de extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales. *Rev. Cubana Plant Med* 1999;1(4):26-310.
14. Rekka EA, Kourounakis AP. Kourounakis PN. Investigation of the effect of chamazulene on lipid peroxidation and free radical processes. *Rev. Commun Mol Pahtol Pharmacol* 1996;92(3):361-4.
15. Suárez A, Echandi MM, Ulate G, Cicció JF. Pharmacological activity of the essential oil of *Satureja viminea* (Lamiaceae). *Rev. Biol Trop.* 2003 Mar;51(1): 247-52.
16. Suárez S, Shimabuku R, Ota A, Aguilar E, Toma J. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Satureja brevicalyx* 'Wayra muña' sobre el cerebro de ratas Holtzman recién nacidas en un modelo de hipoxia isquémica. *An Fac Med Lima* 2007; 68 Supl 1:23-24.
17. Urrunaga R, Urrunaga E, Acurio L. Investigación de la *Satureja boliviana* Planta Medicinal Andina. *SITUA* 1995 Feb;(5)
18. Vargas R. Estudio Botánico y Químico de la *Satureja pulchella* (Panizara) [Tesis]. Lima (PE): Escuela de Farmacia y Química Aplicada de la Facultad de Ciencias Médicas UNMSM; 1942.
19. Wayne D. Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 4ta. edición. Edit. Limusa Wiley. México; 2002.