

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Erythroxylum coca* Lam var. *coca* (COCA) Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Chemical composition of essential oil *Erythroxylum coca* Lam var. *coca* (Coca) and evaluation of its antibacterial activity

Ventura G.¹, Castro A.¹, Roque M.², Ruiz J.²

¹Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" - Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. ²Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo" - Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

RESUMEN

El estudio consistió en evaluar el aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. *coca* (Coca) – proveniente de la provincia de Quillabamba, región Cusco y determinar su actividad antibacteriana; así mismo, elucidar su composición química por Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masa (CG/EM). La parte usada de la planta fueron las hojas secas proporcionadas por la Empresa Nacional de la Coca ENACO S.A., las que se trataron con un sistema de destilación por arrastre con vapor de agua. El rendimiento del aceite esencial fue de 0,08% v/p y en éste se practicaron los ensayos fisicoquímicos: miscibilidad, densidad e índice de refracción. En la composición química se encontraron los siguientes componentes: Guaia-1(5),(11)-diene, t-cadinene, (2E,7R,11R)-3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecan-1-ol, eudesm-4(14)-en-11-ol, hexahidrofarnesil cetona, ácido hexadecanoico, fitol, ácido cis-9-octadecenoico y ácido octadecanoico. El estudio de la actividad antibacteriana *in vitro*, utilizando el método de excavación placa cultivo a concentraciones de 10 y 50% del aceite, mostró mayor actividad a *Staphylococcus aureus* cepa ATCC 25923, que frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Pseudomonas aeruginosa* cepa ATCC 27853. Se determinó que los componentes químicos del aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. Var *coca* (Coca) poseen actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: *Erythroxylum coca*, actividad antibacteriana, *Staphylococcus aureus*.

SUMMARY

The study was to evaluate the essential oil of *Erythroxylum coca* Lam. var. *coca* (Coca) - from Quillabamba province, Cusco region and determine its antibacterial activity, and elucidate the same chemical composition by Gas Chromatography / Mass Spectrometry (GC / MS). The plant part used the dried leaves were provided by the National Coca Company ENACO SA, which dealt with a system by steam distillation of water. The essential oil yield was 0.08% v/p and on that physico-chemical tests were performed: Miscibility, density and refractive index. In the chemical composition found the following components: Guai-1(5),(11)-diene, t-cadinene, (2E,7R,11R)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecan-1-ol, eudesm-4(14)-en-11-ol, hexahydrofarnesil ketone, hexadecanoic acid, phytol, cis-9-octadecenoic and octadecanoic acid. The study of antibacterial activity *in vitro*, using the method of excavation culture plate at concentrations of 10 and 50% of the oil showed greater activity to *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923, than against strains of *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 strain. It was determined that the chemical components of essential oil of *Erythroxylum coca* Lam. Var *coca* (Coca) have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: *Erythroxylum coca*, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

El Perú posee una flora autóctona cuyas especies han llegado a trascender a nivel mundial desde un punto de vista social, económico, científico y cultural; una de éstas es la planta *Erythroxylum coca* Lam var. *coca*, de la familia Erythroxylaceae. Es una especie cultivada y conocida por el contenido de su principal metabolito secundario, el alcaloide cocaína.

Es una planta de hoja perenne, originaria de América del Sur, sobre todo de Perú, Bolivia, Brasil y Colombia. El género *Erythroxylum* está formado por unas 250 especies que proliferan en la zona tropical del continente americano. Especies de éste género fueron introducidas en la isla de Java, las Indias Occidentales, India y Australia. Es un arbusto muy ramificado que mide hasta 3 metros de altura. Su corteza rugosa es de color pardo rojizo. Sus hojas son simples alternas con peciolo corto de borde entero y de forma elíptica u

oblongo elíptica, ápice agudo, base aguda, de 2-7 cm de largo por 1-4cm de ancho, de color verde lustroso en la parte superior, más claras o amarillentas en la inferior, provistas de dos líneas longitudinales conniventes en ambas extremidades, las cuales le dan una característica original y el modo de identificarlas. Las flores son pequeñas, amarillentas o blanco marfil, pedunculadas, perfumadas, solitarias, en cimas o fascículos axilares. El fruto es una drupa oblonga de color rojo de 6-8mm de largo y 3-5mm de diámetro. Las condiciones idóneas para ésta planta son los valles calientes de la vertiente oriental de la Cordillera de los Andes, entre 600 y 2000 metros de altitud con una temperatura media de 20 °C con humedad de 90 por ciento y suelos arcillosos ricos en nitrógeno^(1,2).

Los aceites esenciales generalmente son fluidos, más livianos que el agua, de olor fuerte y penetrante que recuerdan a la planta de origen, incoloros o amarillentos, translúcidos, miscibles en solventes orgánicos e inmiscibles en agua^(3,4). Sólo dos especies son cultivadas en el Perú: *Erythroxylum coca* Lam var. coca, en el Sur y Centro del Perú, principalmente en la región de Huánuco y Cusco, y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) "coca" en el Norte del país, sobre todo en la región La Libertad^(5,6).

La actividad antibacteriana que presentan los aceites esenciales, frente a agentes patógenos, se debe a su composición química en sustancias terpénicas, sesquiterpénicas y aromáticas^(7,8). El objetivo de la investigación fue determinar la composición química del aceite esencial de la especie *Erythroxylum coca* Lam var. coca y su actividad antibacteriana.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio es de tipo analítico, experimental, prospectivo y longitudinal, habiéndose realizado en los laboratorios del Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" y en el Instituto de Microbiología y Parasitología "Simón Pérez Alva" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Material biológico

Las hojas secas, fueron proporcionadas por la Empresa Nacional de la Coca (ENACO), presentando la siguiente taxonomía según el Sistema Cronquist (1967).

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta

Clase : Dicotiledóneas
Orden : Rutales
Familia : Erythroylaceae
Género : *Erythroxylum*
Especie : *Erythroxylum coca* Lam.
var. coca
Nombre vulgar : "Coca"

Las cepas utilizadas para el análisis microbiológico fueron:

Gram Positivo

Bacillus subtilis : Cepa clínica
Staphylococcus aureus : ATCC 25923
Staphylococcus epidermidis : Cepa clínica

Gram Negativo

Escherichia coli : Cepa clínica
Pseudomonas aeruginosa : ATCC 27853

Extracción del aceite esencial

Para la obtención del aceite esencial se trabajó con 10 kg de hojas secas de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca, utilizando un sistema de hidrodestilación por arrastre con vapor de agua. El aceite esencial se conservó en un frasco de color ambar y en refrigeración, para su posterior análisis organoléptico y propiedades físicas y químicas.

Determinación de los componentes químicos del aceite esencial por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/EM)⁽⁹⁾

Se realizó en un Cromatógrafo de Gases acoplado a un Espectrómetro de Masas (CG/EM) Perkin Elmer, modelo GC: Autosystem. TemXL, MS: Turbo Mass en las siguientes condiciones: Columna capilar de silica-gel fundida 30 m de largo, diámetro 0,25 µ, temperatura inicial 10°C/min, temperatura final 110°C (1 min), inyección: 240°C, volumen de inyección: 5 µL. La detección y elucidación de los componentes químicos fue por comparación con los estándares de espectros de masas de las respectivas bibliotecas.

Determinación de la actividad antibacteriana

Cepa de estudio

Los medios de cultivo empleados para identificar

las características morfológicas de crecimiento de las cepas fueron: Agar Mac Conkey, Agar manitol salado, Agar Müeller Hinton y Agar sangre.

Preparación de la suspensión de los microorganismos (Inóculos)

Para la preparación del inóculo de prueba se tomó una asada de cada uno de los cultivos y se suspendió en 5 mL de solución salina fisiológica hasta alcanzar la turbidez de 0,5 de la escala de Mc Farland equivalente a $1 - 2 \times 10^{(6)}$ UFC/mL.

Método de excavación en placa agar

El método se fundamenta en la difusión del aceite esencial en medio sólido en zonas alrededor de la excavación a una extensión tal que permita inhibir el crecimiento de los organismos sensibles. El efecto antimicrobiano está dado por el diámetro de la zona de inhibición.

La dilución del aceite esencial de *Erythroxylum coca Lam. var. coca* fue preparado a concentraciones de 10 y 50%. Los resultados se interpretaron por la observación y medición de los diámetros presentes en los halos de inhibición de crecimiento.

RESULTADOS

Extracción del aceite esencial

Se hizo mediante el sistema de destilación por arrastre con vapor de agua, lográndose obtener un rendimiento de 0,08% v/p.

Características organolépticas

- Aspecto: Oleoso y móvil
- Color: Ámbar
- Olor: Sui generis
- Sabor: astringente

Ensayos físicos

Determinación de densidad

Se determinó mediante el método del picnómetro expresando un valor de 0,007.

Determinación del índice de refracción:

Se midió con el Refractómetro ABBE a 20°C, obteniéndose un resultado de 1,49.

Miscibilidad

El aceite esencial mostró ser miscible en alcohol absoluto, en n-hexano, éter etílico, cloroformo y no miscible en agua.

Determinación de la composición química del aceite esencial de *Erythroxylum coca Lam. var. coca*.

Se realizó por Cromatografía de Gases /

Espectrometría de Masas (CG/EM) lográndose caracterizar los componentes químicos que se presentan en la Tabla 1 y Figura 1.

Tabla 1. Composición química del aceite esencial de *Erythroxylum coca Lam. var. coca* realizado por Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (CG/EM).

Componentes	Tiempo de retención (Tr)
Guaia-1(5),(11)-diene	3,82
t-Cadinene	4,64
(2E,7R,11R)-3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	5,62
Eudesm-4(14)-en-11-ol	6,34
Hexahidrofarnesil cetona	7,96
Ácido hexadecanoico	9,71
Fitol	10,70
Ácido cis-9-octadecenoico	11,20
Ácido octadecanoico	11,35

Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de *Erythroxylum coca Lam. var. coca*

Los resultados se presentan en la Tabla 2 y Figuras 2-6.

Tabla 2. Actividad antimicrobiana mediante el método excavación placa-cultivo.

Microorganismo	Concentración	
	10%	50%
S. aureus	21 mm	25 mm
B. subtilis	14 mm	18 mm
S. epidermidis	15 mm	19 mm
P. aeruginosa	---	---
E. coli	---	---

DISCUSIÓN

El estudio preliminar de *Erythroxylum coca Lam. var. coca* reportó, con la aplicación del método de destilación por arrastre con vapor de agua, un rendimiento de 0,08% v/p de aceite esencial al que se le determinaron algunas constantes físicas y químicas: miscibilidad, densidad e índice de refracción y que responden a las propiedades indicadas para los aceites esenciales⁽³⁾.

La determinación de la composición química, realizada por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/EM), permitió identificar componen-

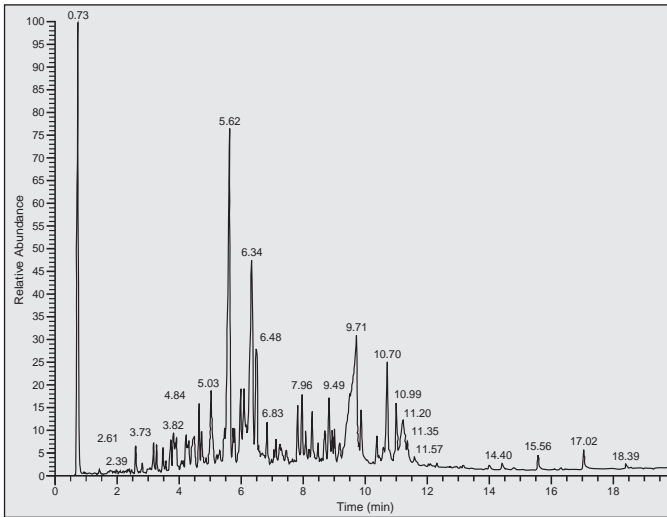


Figura 1. Cromatograma de Gas del aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca

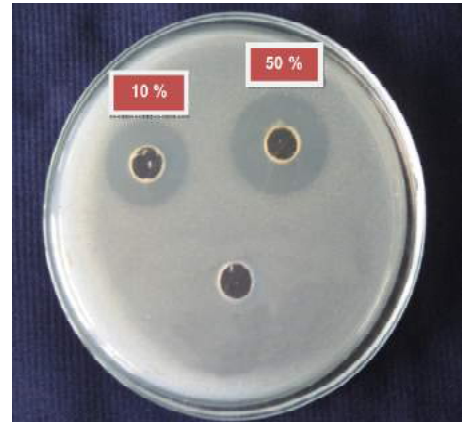


Figura 2. Actividad antibacteriana: Aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca - *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Figura 3. Actividad antibacteriana: Aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca - *Staphylococcus epidermidis* cepa clínica.



Figura 4. Actividad antibacteriana: Aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca - *Bacillus subtilis* cepa clínica.

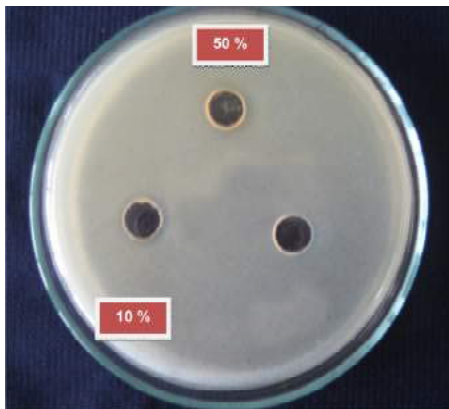


Figura 5. Actividad antibacteriana: Aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



Figura 6. Actividad antibacteriana: Aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca - *Escherichia coli* cepa clínica.

tes químicos hidrocarbonados, oxigenados y ácidos orgánicos, destacándose entre ellos a las siguientes sustancias: Guaia-1(5),(11)-diene, t-cadinene, (2E,7R,11R)-3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol, eudesm-4(14)-en-11-ol, hexahydrofarnesil cetona, ácido hexadecanoico, fitol, ácido cis-9-octadecenoico y ácido octadecanoico.

Los resultados obtenidos en el análisis microbiológico del aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca, demuestran la presencia de mayor actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas *Bacillus subtilis* cepa clínica, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* cepa clínica; con mayor actividad contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y menor frente a bacterias a Gram negativas: (*Escherichia coli* cepa clínica y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). En un estudio realizado con el extracto de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca se evidenció su propiedad inhibitoria de crecimiento in vitro frente a Enterobacterias, Cocos y *Bacillus*⁽¹⁰⁾. Así mismo, en otro estudio realizado con el extracto acuoso de *Erythroxylum novogranatense* (Morris), se observó efecto inhibitorio frente a bacterias y hongos⁽¹¹⁾, siendo de similar resultado con el nuestro.

En el aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca, se identificaron los siguientes componentes químicos: Guaia-1(5), (11)-diene, t-cadinene, guaicol, eudesm-4(14)-en-11-ol, hexahydrofarnesil cetona, ácido hexadecanoico, (2E, 7R, 11R)-3,7,11,15- tetrametil-2-hexadecen-1-ol, ácido cis-9-octadecenoico y ácido octadecanoico. Se determinó que el aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam. var. coca, evidencia actividad antibacteriana a los microorganismos Gram positivo: *Bacillus subtilis* cepa clínica, *Staphylococcus epidermidis* cepa clínica y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, destacándose sobre este último una mayor actividad antibacteriana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bruneton J. Plantas medicinales, fitoquímica y farmacognosia. 2da edición. Editorial Acribia. Zaragoza 2001.
- Machado E. El género *Erythroxylum* en el Perú, las cocas silvestres y cultivadas en el Perú. Editorial. Raymondiana. Lima 1972.
- Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima 1994.
- Domínguez X. Métodos investigación fitoquímica. 3ra edición. Editorial Limusa S.A. México D.F. 1985.
- Plowman T. Aspectos botánicos de la hoja de coca. 3ra edición. Edit. Pacific Press. Lima 1980: 100-116.
- Machado E. Determinación de variedades y cultivares en cocas peruanas. Edit. Pacific Press. Lima. 1980.
- Botelho MA. et al. Antimicrobial activity essential oil from *Lipia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. J. Med Biol Res. 2007; 40(3):349-56.
- Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K, Kato T. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. Oral Microbiol Immunol. 2004; 19(1):61-4.
- Inga B, Guerra B. Efecto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), contra algunas bacterias y hongos de interés en la Salud. Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. 2001.
- Mertz M, Reyes E. Propiedades inhibitorias del crecimiento in vitro de Enterobacterias, Cocos y Bacillus, de *Erythroxylum coca* var. Lam y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) var. *Truxillense* "mate de coca". Trabajo de Aptitud Profesional para optar el Título de Químico Farmacéutico. UNMSM. Lima 1996.
- Bazalar V. y col. Acción inhibitoria de crecimiento de la asociación de los extractos acuosos de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) var. *truxillense* (rusby) y *Plantago major* L. frente a bacterias y hongos. Ciencia e Investigación UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM versión impresa 1998; 1(2): 561 – 861.

Manuscrito recibido el: 30/11/2009

Aceptado para su publicación el: 08/01/2010

Correspondencia:

Q.F. Geraldine Ventura Yahuana
Mz. E Lote 5 Urb. Río Santa, Lima 39 - Perú
E-mail: geraldinevy@hotmail.com