

CONSTITUYENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ocimum micranthum* W. Y ESTUDIO ANTIMICROBIANO

CÉSAR M. FUERTE RUITÓN*, MIRTHA ROQUE ALCARRAZ**,
CLADIS SOSA TANANTA y NIZA TRUJILLO PANTAJA

* Instituto de Química Orgánica Aplicada a la Farmacia. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM.

** Instituto de Microbiología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM

RESUMEN

El estudio de la composición química del aceite volátil de *Ocimum micranthum* Wild, se determinó por medios cromatográficos y espectroscópicos obteniendo como componente principal al metil-eugenol (52.20%) además del cariofileno (15,67%) y β -elemento (5,15%). El aceite esencial de *Ocimum micranthum* Wild mostró actividad bacterial frente a microorganismos (mayor sensibilidad frente a hongos), la determinación de esta actividad se realizó por el método de excavación placa-cultivo, frente a diferentes bacterias y hongos tales como: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Shigella* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* y *Penicillium* sp.

SUMMARY

The study of the chemistry composition of the volatil oil of *Ocimum micranthum* Wild was determinatged by chromatographies and spectronics methods, metil-eugenol (52.20%) was gottern like the principal component, in addition to cariofileno (15.67%), β -elemento (5,15%). The essential oil of *Ocimum micranthum* Wild were screened for antimicrobial activities (more sensibility over fungus), the agar overlay technique was applied over differents bacterials and fungus like this; *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Shigella* sp., *Aspergillus niger*, *aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium* sp.,

INTRODUCCIÓN

El *Ocimum micranthum* Wild (Labiatae) conocida como sanialbahaca, crece en la región amazónica de América del Sur y en regiones tropicales de México y el Caribe, el extracto de las hojas es utilizado para el tratamiento de diversas infecciones respiratorias.

La planta se recolectó en la provincia de Tarapoto (San Martín), se obtuvo el aceite esencial de las hojas de *Ocimum micranthum* Wild por el método de hidro-destilación, adaptado para laboratorio, cuya factibilidad fue confirmada con la extracción del aceite esencial de Menta y Eucalipto, cuya composición química y constantes fisicoquímicas son conocidos.

En estudios recientes, el uso de los aceites esenciales está difundido por sus propiedades farmacológicas así como por su acción antimicrobiana y como repelente de mosquitos e insecticidas para los agro cultivos.

En el presente trabajo, se ha determinado la composición química del aceite volátil de las hojas de *Ocimum micranthum* Wild, haciendo uso de la cromatografía de gases-espectro de masas (GC-MS) para formular las bases químicas que permitan explicar la actividad biológica de la planta, probándose la actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial obtenido.

Parte Experimental

La planta que crece en Tarapoto fue recolectada en los meses de junio - julio 1998, fue clasificada en el Museo de Historia Natural Javier Prado de la UNMSM de Lima-Perú.

Las hojas frescas de la planta fueron sometidas a una hidrodestilación usando la autoclave como hidrodestilador. El rendimiento fue de 0.25% p/v.

Se realizaron las determinaciones fisicoquímicas, espectroscópicas y cromatográficas. El GC-MS fue realizado en un Cromatógrafo de Gases con detector de Masas Shimadzu 5050, conectado a un procesador de datos equipado con un software Class 5000, los picos eluidos fueron confrontados con un banco de datos de la librería NIST 62 del equipo bajo las siguientes condiciones:

Condiciones de la muestra	:	0,1 mL en 10 mL de etanol (1%)
Columna	:	Supelcowax 10,30 mm x 0,53 mm, 0,5 mm film
Temperatura del Inyector	:	190°C
Temperatura del horno	:	70°C - 160°C (4°/min)
Carrier gas	:	Helio
Temperatura detector	:	230°C

Los espectros infrarrojos se obtuvieron teniendo en cuenta las siguientes condiciones:

Equipo	:	Nicolet - Impact 400 (OMNIC)
Condiciones de la muestra	:	Aceite esencial sin diluir
Rango	:	4000 - 650 cm ⁻¹
Temperatura	:	20°C

La actividad microbiológica se determinó por el método de excavación-placa-cultivo, para lo cual se hizo una suspensión hasta alcanzar la turbidez del tubo N° 2 de la escala de Mac Farlan con las siguientes bacterias: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Bacillus cereus* (muestra alimentaria), *Shigella id.* Los hongos de prueba comprendieron *Aspergillus niger*, *Aspergillus favus*, *Penicillium sp*, *Aspergillus fumigatus*. Estas últimas provenientes de muestras alimentarias.

RESULTADOS

Los resultados están expresados en los cuadros y figuras.

DISCUSIÓN

Obtenidos los aceites esenciales, se determinaron sus constantes físicas y composición química de los mismos, observando que en los aceites esenciales de menta

y eucalipto, los resultados coinciden con aquellos obtenidos y reportados por diferentes investigadores que nos sirvieron para comprobar la validez del método de extracción.

Las constantes físicas que muestra la Tabla 1 nos permite determinar parte de la composición química del aceite esencial de *Ocimum micranthum* Wild, (2); El índice de refracción 1,575 indica presencia de compuestos oxigenados aromáticos, lo cual confirmamos con el espectro infrarrojo (Fig. 1) que presenta una banda de absorción a 3081 cm^{-1} que indica la presencia de C-H aromático, además de las absorciones a apróx. 1605 cm^{-1} que corresponde al enlace insaturado C = C (Tabla 2). La gravedad específica 0,985, también es indicativo de la misma característica, además de la presencia de compuestos oxigenados alifáticos, confirmado con el espectro infrarrojo por la presencia de las bandas de absorción a 1700 cm^{-1} y 1577 cm^{-1} .

En la Tabla 3, se muestra la composición química del aceite volátil de *Ocimum micranthum* Wild, donde el metileugenol, un compuesto oxigenado aromático, es el principal componente. La configuración de la composición se obtiene según el T.R. que presenta cada producto en CG, a su vez cada producto es elucidado estructuralmente según su espectro de masas correspondientes (Fig. 2, Fig. 3).

El resultado de la investigación de la actividad microbiológica (tablas 4 y 5) confirma que el aceite esencial de *Ocimum micrathum* Wild. Es un agente antibacteriano y antifungico, esto puede explicar su uso para el tratamiento de infecciones respiratorias.

CONCLUSIONES

- Las hojas de *Ocimum micranthum* Wild contienen 0,25% de aceite esencial.
- Es espectro infrarrojo, la gravedad específica y el índice de refracción indican que el aceite esencial tiende hacia un contenido mayor de compuestos aromáticos.
- El contenido químico del aceite esencial es determinado con precisión utilizando el cromatógrafo de gases con detector de masas (GC-MS).
- El aceite esencial de *Ocimum micranthum* Wild contiene principalmente metileugenol (52,20%), cariofileno (15,67%, β -elemento (5,15%) y otros 30 compuestos.

AGRADECIMIENTOS

A la Ingeniera Química María Fernández del Instituto Nacional de Nutrición (CENAM), por su asistencia en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHOGO, J., CRANK, G. (1981). Chemical Composition and Biological Activity of the Tanzanian Plant *Ocimum Suave*. *Journal of Natural Products*. 44: 308 - 311.
2. DOMINGUEZ, X. (1985). Métodos de Investigación fitoquímica. 3ra. De. Editorial Limusa, S.A. México, pp. 229-238 (4).
3. EKUNDAYO, O., LAAKSC. J., HILTUNEN, R. (1989). Constituents of the Volatile Oil from Leaves of *Ocimum canum* Sims. *Flavour and Fragrance Journal*. 4: 17-18.
4. LOCK DE UGAZ, O. (1994). Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales. 2da. De. Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. Pp. 1-53, 281. (lock).
5. MASADA J. (1976). Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Editorial John Willey and Sons, Inc. New York. Pp. 12 - 19, 62 - 69, 132 - 137. (5).

6. MWANGI, J., LWANDE, W., HASSANALI, a. (1994). Composition of the Leaf Essential Oil of *Ocimum Keniense* Ayobangira. *Flavour and Fragrance Journal*. 9: 75 - 76.

FIGURA Nº 1

ESPECTRO INFRAROJO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ocimum micranthum* Wild
(Condiciones de la muestra: Aceite esencial sin diluir)

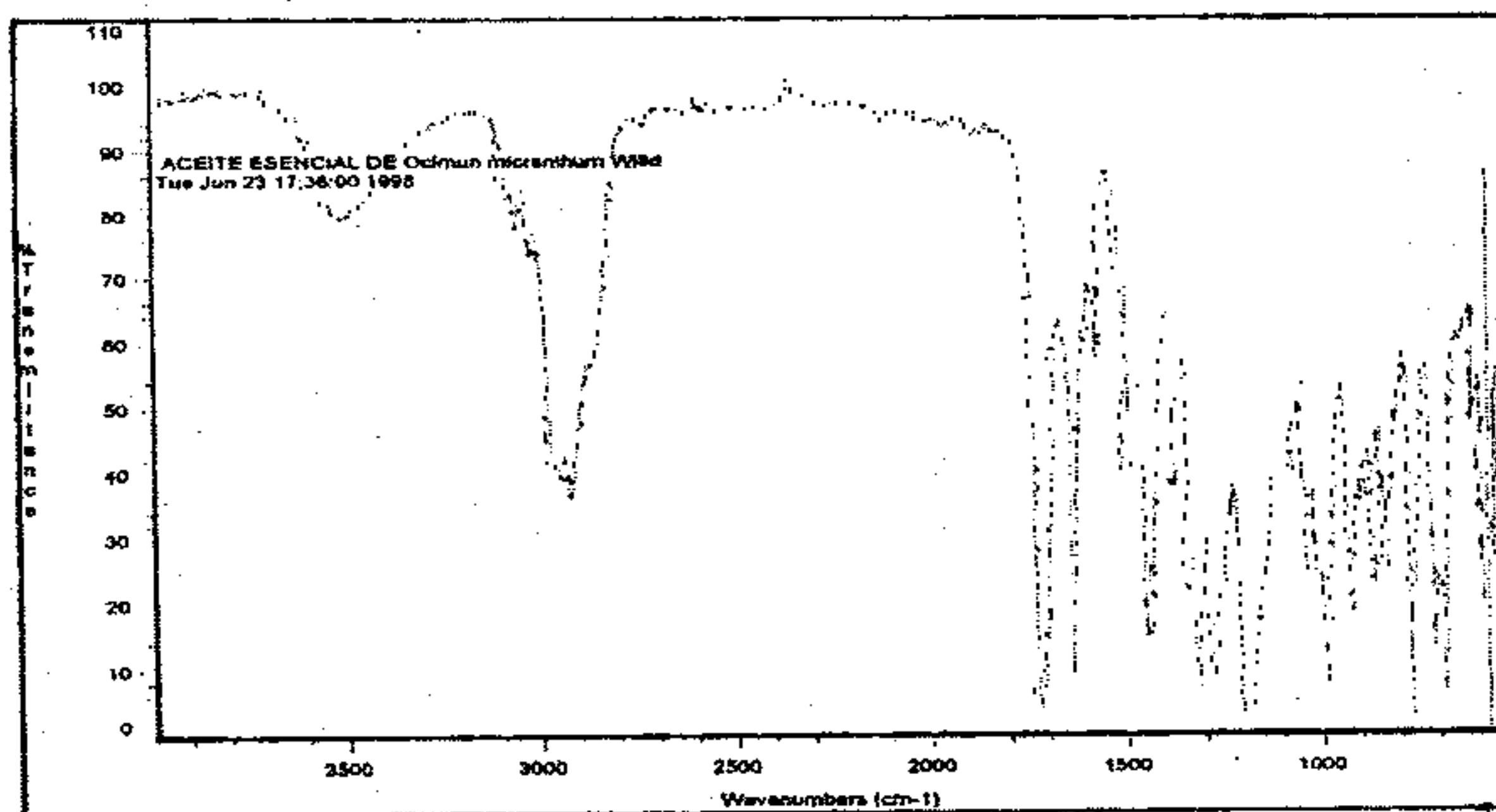


FIGURA Nº 2

CROMATOGRAMA DE GASES DEL ACEITE VOLÁTIL DE
***Ocimum micranthum* Wild (Sanialbahaca)**
(Condiciones de la muestra: 0,1 ml en 10 ml de etanol)

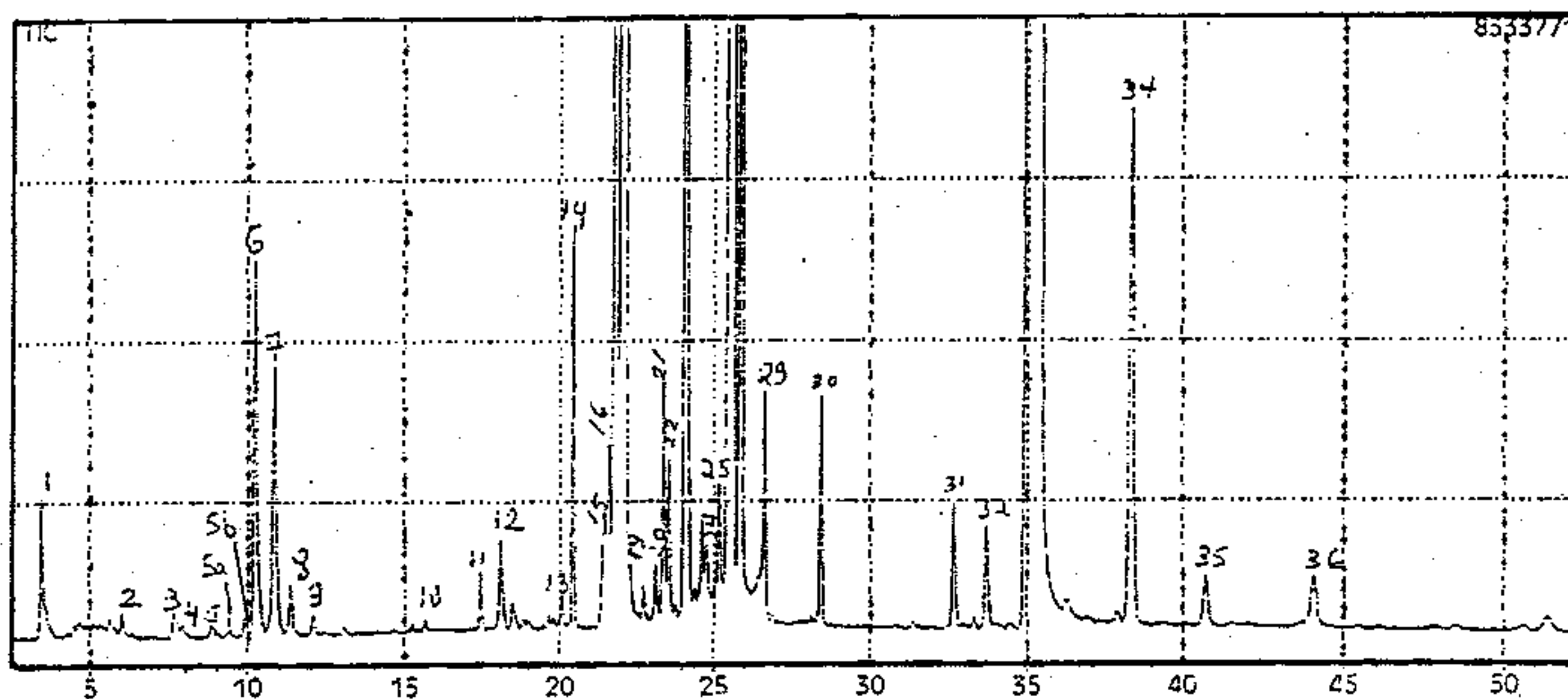


FIGURA Nº 3

**ELUCIDACIÓN DE LA ESTRUCTURA DEL METIL EUGENOL A PARTIR DEL CROMATOGRAMA
DE GASES CON DETECTOR DE MASAS (Pico Nº 33)**

Data : N15T62 LIB.
 Entry : 17255 CAS : 93-15-2 Mol. Wgt. : 178
 Mol. Form. : $C_{11}H_{14}O_2$
 Name : Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-Propenyl)- SS Benzene, 4-allyl-1,2-dime

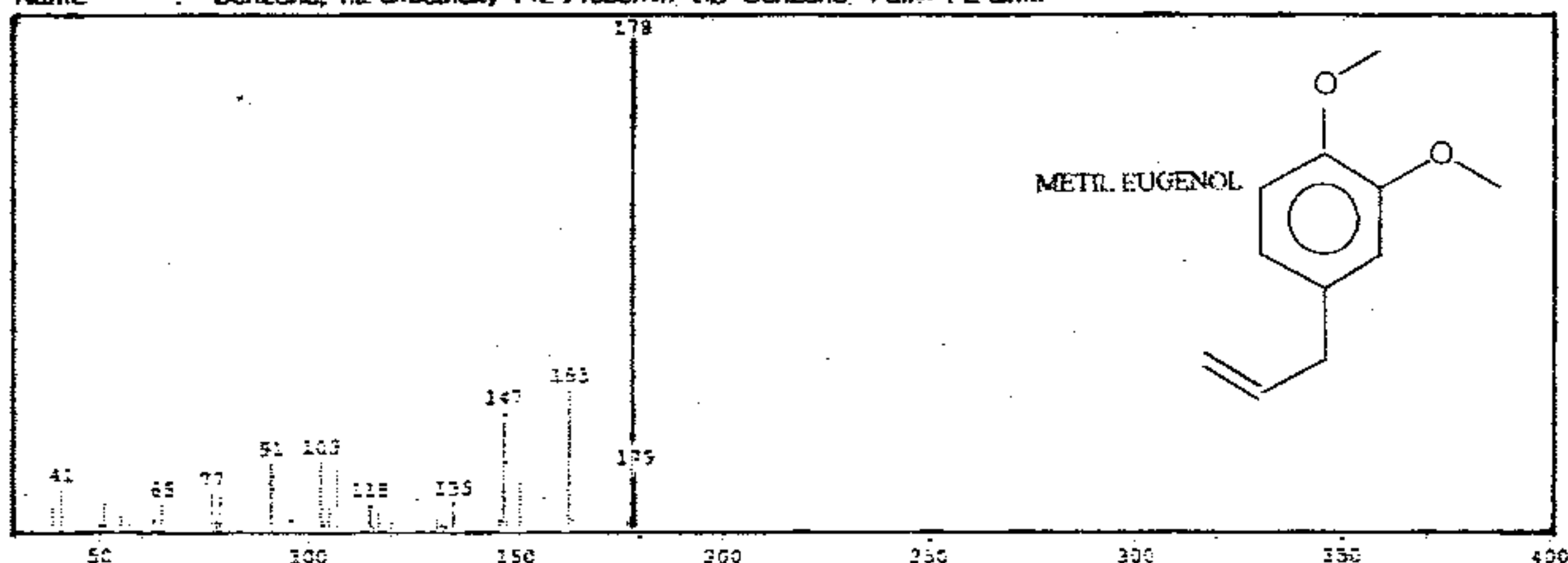


TABLA 1

ENSAYOS FÍSICOS

ACEITE ESENCIAL DE *Ocimum micranthum* Wild. (SANIALBAHACA)

PRUEBA	RESULTADOS
Aspecto	Líquido oleoso, amarillo verdoso ligeramente opalescente, y olor fuerte y penetrante que recuerda a planta
Solubilidad	Insoluble en agua, en alcohol al 50%, ligeramente soluble en alcohol al 70%, soluble en éter, cloroforno y tetracloruro de carbono
Gravedad específica (25°C)	0,985
Índice de Refracción	1,5175

TABLA 2

ESPECTRO INFRARROJO

RESULTADOS

ACEITE ESENCIAL DE *Ocimum micranthum* Wild. (SANIALBAHACA)

BANDA DE ABSORCIÓN	GRUPOS FUNCIONALES
3500 cm^{-1}	Presencia de alcoholes, estiramiento OH
3081 cm^{-1}	Presencia de C-H aromático
2900 cm^{-1}	Estiramiento C-H
1700 cm^{-1}	Estiramiento C = O (cetona)
1577 cm^{-1}	Presencia de grupo carboxilo -COO-
1448 cm^{-1}	Presencia de iso-propil

Las alteraciones entre 1200 - 950 cm^{-1} indican la presencia de alcoholes primarios, secundarios y terciarios.
 Entre 1670 - 1550 cm^{-1} indican la presencia de insaturaciones o anillos aromáticos

TABLA Nº 3
COMPOSICIÓN QUÍMICA del aceite volátil de *Ocimum micranthum* Wild
de acuerdo a los T.R. en CG-MS

Nº Pico (principal)	NOMBRE (común)	T.R. (min)	Porcentaje
1	Eter	3,400	0,18%
2	α - Pineno	6,009	0,02%
3	β - Pineno	7,636	0,03%
4	β - Pineno (1S)	7,869	0,01%
5	β - Mirceno	8,810	0,02%
5a	α - Terpineno	9,017	0,01%
5b	Limoneno	9,902	0,04%
6	Eucaliptol (Cineol)	10,213	0,69%
7	β - Trans - Ocimeno	10,827	0,50%
8	Ocimeno	11,348	0,06%
9	Orto - Cimeno	12,049	0,02%
10	Amiletilcarbinol	15,661	0,02%
11	7 - Octen - 4 - Ol	17,454	0,07%
13	Benzaldehido	20,078	0,03%
14	Linalol (β - linalol)	20,418	0,43%
15	β - Elemento (levo)	21,444	0,18%
16	α - Bergamoteno	21,583	0,25%
17	β - Elemeno	21,831	5,15%
18	Cariofileno	22,125	15,67%
19	Componente 19	22,311	0,01%
20	Germacremp B	23,122	0,07%
21	Componente 21	23,379	0,31%
22	Pulegona	23,548	0,18%
23	α - Cariofileno	24,086	3,05%
24	Componente 24	24,759	0,09%
25	Componente 25	25,158	0,14%
26	Componente 26	25,477	4,17%
27	Componente 27	25,588	1,89%
28	Germacreno B (comp. 28)	25,858	3,39%
29	Patchulane	33,680	0,19%
33	Metil Eugenol	35,321	52,20%
34	Cinamato de metilo	38,337	1,19%
36	Acetato Eugenol	44,041	0,13%
TOTAL			90,39%

T.R. = Tiempo de retención

TABLA N° 4

**RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE
Ocimum micranthum Wild**

<input type="checkbox"/> aceite <i>Ocimum micranthum</i> Microorganismos	T.C.	50%	20%	5%	1%	BL
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	36 mm*	30 mm*	31mm*	26 mm*	24 mm*	0 mm*
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			20 mm	15 mm	10 mm	0 mm
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		26 mm	34 mm	11 mm	10 mm	0 mm
<i>Bacillus cereus</i>	31 mm	38 mm	34 mm	10 mm	13 mm	0 mm
<i>Shigella sp</i>	30 mm	35 mm	17 mm	13 mm	12 mm	0 mm
<i>Salmonella tiphy</i>	RESISTENTE					
<i>Salmonella paratiphy</i>	RESISTENTE					
<i>Pseudomona</i>	RESISTENTE					

* Diámetros (zonas de Inhibición)

TABLA N° 5

**RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE
Ocimum micranthum Wild**

<input type="checkbox"/> aceite <i>Ocimum micranthum</i> Microorganismos	T.C.	50%	20%	10%	5%	1%	BL
<i>Aspergillus niger</i>	50 mm*	50 mm*	50 mm*	50 mm*	50 mm*	50 mm*	0 mm*
<i>Aspergillus flavus</i>	50 mm*	50 mm	50 mm*	50 mm*	50 mm*	50 mm*	0 mm*
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	50 mm*	50 mm*	50 mm*	50 mm*	0 mm*
<i>Penicillium sp.</i>	50 mm*	50 mm	50 mm*	50 mm*	50 mm*	50 mm*	0 mm*

* Diámetros (zonas de inhibición)