

COMPOSICIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *LIPPIA JUNELIANA*, *LIPPIA INTEGRIFOLIA* Y *LIPPIA TURBINATA* DE LA PROVINCIA DE SAN LUIS (ARGENTINA)

Claudia Duschatzky*, Pedro Bailac, Norberto Firpo** y Marta Ponzi

Recibido Octubre 16/97 - Aprobado Agosto 14/98

Keywords: *Lippia juneliana*, *Lippia integrifolia*, *Lippia turbinata*, Verbenaceae, terpenes, essential oil composition, limonene, piperitenone oxide.

RESUMEN

Se estudiaron los aceites esenciales extraídos de las partes aéreas de *Lippia juneliana* (Mold.) Tronc. (n.v.salvialora), *L. integrifolia* (Gris.) Hier. (n.v. inca yuyo) y *L. turbinata* Gris. (n.v. poleo) de la provincia de San Luis (Argentina). Se identificaron los componentes mayoritarios por índices de retención, índices de Kovats, por CG y CG/E.M. Los componentes mayoritarios encontrados son: óxido de piperitona 36,5%, limoneno 23,1%, alcanfor 7,9%, espatulenol 6,5% en *L. juneliana*; β -cariofileno 18,4%, α -humuleno 9,7%, limoneno 8,2%, espatulenol 6,6%, borneol 5,7% en *L. integrifolia*; y limoneno 43,3%, óxido de piperitona 24,8%, 1,8-cineol 14,7%, en *L. turbinata*. (porcentaje relativo expresado con base en las áreas de pico)

ABSTRACT

The essential oil composition from the aerial parts of *Lippia juneliana* (Mold.)

Tronc. (v.n. salvialora), *L. integrifolia* (Gris.) Hier. (v.n.inca yuyo) y *L. turbinata* Gris. (v.n.poleo) from San Luis (Argentina) has been examined by means GC, GC/MS together with retention and Kovats indexes. The major compounds found were: piperitenone oxide 36.6%, limonene 23.1%, camphor 7.9%, spathulenol 6.5% in *L. juneliana*; β -caryophyllene 18.4%, α -humulene 9.7%, limonene 8.2%, spathulenol 6.6%, borneol 5.7% in *L. integrifolia*; and limonene 43.3%, piperitenone oxide 24.8%, 1,8-cineol 14.7% in *L. turbinata*.

INTRODUCCIÓN

El género *Lippia* Houst. pertenece a la familia de las Verbenaceae Juss.(1), existen cerca de 200 especies de hierbas, arbustos y árboles pequeños, en su mayoría aromáticos. En la provincia de San Luis existen dos cordones montañosos, uno correspondiente a la Sierras de Comechingones (que se encuentran en el límite con la provincia de Córdoba), y otro correspondiente a las Sierras de San Luis, próximo a la ciudad de San Luis. Algunas de estas especies crecen al pie de las sierras. El material aquí analizado se recolectó: *L. turbinata*, al pie de

* Facultad de Ingeniería y Ciencias Económico Sociales, Universidad Nacional de San Luis, INTEQUI-CONICET 25 de Mayo 384. (CP5730) V. Mercedes (SL). Argentina. e mail: eduscha@fics.unsl.edu.ar

** CINDECA-CONICET. Calle 47 N° 257 La Plata Bs. As. Argentina.

Comechingones, y *L. juneliana* y *L. integrifolia* al pie de las Sierras de San Luis.

En nuestro país hay una abundante flora aromática que ha sido estudiada hace muchos años mediante cromatografía gaseosa usando para la separación columnas rellenas. Con el advenimiento de los equipos de espectrometría de masas y las posibilidades de usar columnas capilares en la separación cromatográfica, se puede llevar a cabo mejores separaciones e identificaciones más precisas. Se estudió la composición de los aceites esenciales de plantas aromáticas silvestres de la provincia de San Luis al encontrar diferencias en la composición con trabajos anteriores (4-6) que usan similares metodologías de identificación.

Mediante la observación de la composición de los aceites esenciales de *L. juneliana*, *L. integrifolia*, *L. turbinata* extraídos de la bibliografía (2-7) se puede concluir que hay diferencias en dichos resultados, en aquellos casos en que las muestras corresponden a distintas zonas geográficas.

El objetivo de este trabajo es determinar los componentes mayoritarios en aceites esenciales de tres especies del género *Lippia* que crecen en la provincia de San Luis con el fin de estudiar en un futuro su potencial utilización como productos naturales. Realizando un estudio sistemático se podrá llegar a dilucidar si las diferencias encontradas en la composición de los aceites se deben a que se está en presencia de otro quemitipo, o a la influencia de las condiciones climáticas y el pertenecer a zonas geográficas diferentes.

PARTE EXPERIMENTAL

Material Vegetal

L. juneliana y *L. integrifolia* fueron cosechadas en Luján, departamento de Ayacucho, prov. San Luis en febrero de 1994 y un ejemplar de los mismos se encuentra en el herbario de la UNSL (Leg. 415. Ss (UNSL)). *L. turbinata* se cosechó en febrero de 1994 en Piedra Blanca, departamento de Junín, provincia de San Luis, un ejemplar del mismo se encuentra en el herbario de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Económico Sociales de la UNSL (VMA 1385). El material se secó a la sombra, para realizar luego la extracción de los aceites esenciales.

Extracción de los Aceites Esenciales

Los aceites esenciales se obtuvieron de las partes aéreas, se utilizó como único método la hidroddestilación, durante 3h., los aceites fueron separados en una trampa tipo Clevenger, posteriormente secados con sulfato de sodio anhidro y almacenados a -18°C en la oscuridad.

Análisis cromatográfico

El análisis por cromatografía gaseosa se realizó en un equipo Shimadzu GC-1RA, con detector FID. Se utilizó N_2 como gas de arrastre, con una velocidad de flujo de 0,9 ml/min. La columna capilar utilizada fue J&W DB-1 de sílice fundida (60 m x 0,248 mm x 0,25 μm). La temperatura del horno se programó del siguiente modo: 75°C (4min), 75° - 220°C ($3^{\circ}\text{C}/\text{min}$) y 220°C (15 minutos). Se inyectó un volumen de 0.1 μl de aceite puro.

La cantidad relativa de los componentes individuales está basada en las áreas

de pico obtenidas, sin corrección por factor de respuesta.

Análisis por CG-EM

El análisis se realizó en un equipo Perkin-Elmer, Q-Mass 910 GC Se utilizó para la separación cromatográfica una columna capilar Supelco SPB-1 (30 m x 0,32 mm) de sílice fundida, usando helio como gas de arrastre. Se operó a 70eV como energía de ionización. La temperatura del horno se programó del siguiente modo: 75°C (1min), 75-220°C (4°C/min) y 222°C (8 min). Se inyectó 0,1 µl de muestra diluida en metanol.

Identificación de los componentes

La identificación de los componentes se realizó en base a la comparación de sus espectros de masa con los reportados en la literatura (8, 9, 10) y por búsqueda en la biblioteca del equipo utilizado, así como por índices de retención y por índices de Kovats.(11)

Los índices de Kovats (IK) se determinaron por coinyección de una serie homóloga de hidrocarburos (C₆-C₁₈) con la muestra de aceite, y los índices de Retención (IR) se determinaron por coinyección de una serie homóloga de ésteres metílicos de ácidos grasos (C₄-C₂₀) con la muestra de aceite y se compararon estos índices con tablas propias y de la literatura.(12)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los componentes identificados de los aceites esenciales se muestran en la Tabla 1. En el aceite de *L. turbinata* se identificaron 16 compuestos que representan 91,3% del aceite esencial. Los componentes mayoritarios son: limoneno 43,3%, óxido de

piperitenona 24,8%, 1,8-cineol 14,7 %. Los resultados del presente trabajo coinciden con Fester y col.(2) que recolectaron esta especie en las Sierras Grandes de Córdoba (Argentina). También hay coincidencia con los resultados encontrados para *L. fissicalyx* Tronc. estudiada por Retamar y col.(7) quienes encontraron como componentes mayoritarios limoneno 43,4 % y óxido de piperitenona 30,0%. Según estos autores *L. fissicalyx* Tronc sería una variedad híbrida de *L. turbinata*. De los 16 compuestos identificados, 10 coinciden con Velasco-Negueruela y col.(4), en algunos hay coincidencia en los porcentajes y en otros no. No obstante la mayor diferencia se encuentra en los componentes componentes mayoritarios (α-tuyona 28,3% y carvona 7,4 %). El aceite de *L. juneliana* se caracteriza por la presencia de grandes cantidades de óxido de piperitenona 36,5% y limoneno 23,1%. En el se han identificado 23 compuestos que representan 88,8% del total. De los 23 compuestos, 19 fueron encontrados por Velasco- Negueruela y col. (4), pero con importantes diferencias en los porcentajes de los componentes, especialmente en sus componentes mayoritarios (cis-dihidrocarvona y mircenona). Los resultados difieren de los reportados por Retamar y col. (3), que encontraron α-pineno, geraniol, borneol y alcanfor como componentes mayoritarios, encontrándose solamente coincidencia en alcanfor.

El aceite esencial de *L. integrifolia* muestra 22 compuestos totalizando un 76,2% de la composición total.

Tabla 1. Composición de los aceites esenciales de *L. junetiana*, *L. integrifolia* y *L. turbinata* de San Luis (Argentina)

Componente ^a	LJ ^b	LI ^b	LT ^b	IK-exp.	IK-literatura	IR-exp	IR-literatura	E. Masa
tricitrieno	-	0,11	-	927	926	209	206	M ⁺ 136 m/e=93(100)
alfa-tuveno	-	-	0,05	932	931	210	209	M ⁺ 136 m/e=91(100)
alfa-pineno	0,22	0,27	0,30	940	939	213	213	M ⁺ 136 m/e=93(100)
canfeno	1,18	0,65	0,35	954	953	219	217	M ⁺ 136 m/e=93(100)
sabineno	-	-	1,19	965	976	228	228	M ⁺ 136 m/e=93(100)
beta-pineno	-	0,88	0,19	979	980	234	233	M ⁺ 136 m/e=93(100)
mirreno	0,10	-	-	984	991	237	238	M ⁺ 136 m/e=41(100)
alfa-felandreno	0,15	-	-	1000	1005	246	244	M ⁺ 136 m/e=93(100)
p-cimeno	0,09	0,52	-	1019	1026	253	252	M ⁺ 134 m/e=119(100)
limoneno	23,07	8,24	43,3	1034	1031	260	258	M ⁺ 136 m/e=67(100)
1,8 cineol	-	-	14,7	1036	1033	261	258	M ⁺ 154 m/e=43(100)
trans-beta-ocimeno	0,40	-	-	1045	1050	265	261	M ⁺ 136 m/e=93(100)
terpinoleno	0,12	0,17	-	1090	1088	286	286	M ⁺ 136 m/e=93(100)
linalol	-	0,17	-	1100	1098	288	291	M ⁺ 154 m/e=43(100)
trans-sabinol	0,37	-	0,32	1118	1140	300	-	M ⁺ 152 m/e=91(100)
alcanfor	7,91	-	-	1140	1143	313	314	M ⁺ 152 m/e=95(100)
óxido de beta-pineno	0,18	-	-	1153	1156	324	-	M ⁺ 152 m/e=67(100)
borneol	1,27	5,74	0,56	1163	1165	326	329	M ⁺ 154 m/e=95(100)
4-terpineol	-	1,85	-	1172	1177	331	333	M ⁺ 154 m/e=43(100)

Tabla I. Continuación

Componente ^a	L J ^b	L I ^b	L T ^b	IK-exp.	IK-literatura	IR-exp	IR-literatura	E. Masa
alfa-terpineol	-	-	1,7	1176	1189	339	332	M ⁺ 154 m/e=59(100)
cis-dihidrocarvona	0,18	-	-	1181	1193	340	341	M ⁺ 152 m/e=67(100)
trans-dihidrocarvona	0,26	-	-	1190	1200	342	-	M ⁺ 152 m/e=67(100)
cis-carveol	0,70	-	0,29	1211	1229	350	349	M ⁺ 152 m/e=41(100)
carvona	0,51	-	-	1225	1242	356	353	M ⁺ 150 m/e=54(100)
acetato de bornilo	-	0,27	-	1271	1285	378	385	M ⁺ 196 m/e=43(100)
eucarvona	4,26	-	-	1327	-	406	-	M ⁺ 150 m/e=107(100)
oxido de piperitenona	36,5	-	24,84	1360	1363	420	-	M ⁺ 166 m/e=43(100)
metil-eugenol	-	-	0,67	1368	1401	423	-	M ⁺ 178 m/e=178(100)
beta-elemeno	-	0,33	-	1385	1390	439	442	M ⁺ 204 m/e=67(100)
beta-cariofileno	-	18,39	-	1425	1418	451	455	M ⁺ 204 m/e=41(100)
gama-elemeno	1,7	-	-	1433	1433	462	-	M ⁺ 204 m/e=121(100)
alfa-humuleno	0,60	9,7	0,51	1461	1454	477	474	M ⁺ 204 m/e=93(100)
beta-bisaboleno+elixeno	-	5,05	-	1509	1509	487	499	M ⁺ 204 m/e=41(100)
biciclogermacreno	2,17	-	-	1511	1494	497	500	M ⁺ 204 m/e=121(100)
cis-alfa-bisaboleno	0,32	-	0,32	1520	1504	514	514	M ⁺ 204 m/e=93(100)
elemol	-	2,61	-	1564	1549	524	517	M ⁺ 222 m/e=59(100)
espatuleno	6,54	6,63	-	1580	1576	535	538	M ⁺ 220 m/e=43(100)

Tabla 1. continuación

Componente ^a	LJ ^b	LI ^b	LT ^b	IK-exp.	IK-literatura	IR-exp	IR-literatura	E. Masa
beta-cariofileno-óxido	-	4,42	2,34	1584	1581	540	547	M ⁺ 220 m/e=41 (100)
guaíol+cariofileno óxido	-	5,01	-	1596	1595	548	543-576	M ⁺ 222 m/e=161 (100)
humuleno-epóxido II	-	1,90	-	1618	1606	550	565	M ⁺ 220m/e=67 (100)
beta-eudesmol	-	1,60	0,32	1649	1649	559	-	M ⁺ 222 m/e=59 (100)
14-hidroxi-9-epi(E)- cariofileno	-	1,70	-	1666	1664	573	-	M ⁺ 220 m/e=41 (100)

a. Componentes según orden de elución de DB1

b. Porcentaje expresado en área relativa

LJ=L.*junelliana*LI=L.*integrifolia*LT=L.*turbinata*

De los 22 compuestos, 15 se encuentran presentes en las muestras de Velasco-Negueruela y Col. (4) con una distribución porcentual muy diferente y sin encontrarse los componentes mayoritarios por ellos mencionados (alcanfor 16,2%, lippifoli-1-(6)-ene-5-ona 16,7%).

Cabe destacar que los resultados hallados por Retamar y col. (3, 7) y Fester y col. (2) han sido obtenidos usando columnas rellenas que no tienen el mismo grado de eficiencia que las columnas capilares usadas por Velasco-Negueruela y col. (4), Zygadlo y col. (5) y los que se presentan en este trabajo.

Las muestras en estudio fueron recolectadas en zonas geográficas diferentes, una que corresponde a las Sierras de San Luis, Departamento de Ayacucho, donde se recolectó *L. juneliana* y *L. integrifolia* y en la Sierra de Comechingones donde se recolectó *L. turbinata*. Los estudios realizados por Velasco-Negueruela y col. (4), Zygadlo y col. (5) usan material recolectado en una zona próxima a la última zona geográfica descrita.

En principio las diferencias encontradas entre los resultados del presente trabajo y los de los otros autores puede ser atribuido a que las muestras corresponden a zonas geográficas diferentes, donde el clima, el suelo y el régimen pluvial pueden influir en la composición del aceite esencial.

Haciendo una comparación entre las tres especies estudiadas, se puede observar que presentan en común limoneno como componente mayoritario y alfa-pineno, canfeno, borneol, alfa-humuleno, como componentes minoritarios, además entre *L. juneliana* y *L. turbinata* el óxido de pi-

peritenona se encuentra como componente mayoritario. Esta información es útil para posteriores estudios sobre actividades biológicas ya que existe una correlación entre composición química y actividad biológica. (13). Se prevee en un futuro estudiar actividad antifúngica y antimicrobiana.

En *L. turbinata* el 68,1% y en *L. juneliana* el 59,5% de la composición corresponden a dos componentes mayoritarios, lo que los hace interesantes desde el punto de vista de la posible fuente de obtención de estos compuestos; mientras que en *L. integrifolia* hay mas componentes en menor proporción.

El porcentaje de compuestos identificados es 88,8% en *L. juneliana*, 76,2% en *L. integrifolia* y 91,3% en *L. turbinata*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el aporte financiero provisto por la Universidad Nacional de San Luis y CONICET para este trabajo y la determinación del material vegetal realizados por el Ing. Luis Del Vitto y la Prof. Elena Rosa de Mercado Ocampo, ambos de la Universidad Nacional de San Luis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Troncoso, N.S. Los géneros de verbenaceas de Sudamérica extratropical (Argentina, Chile, Paraguay, Uruguay y Sur de Brasil). *Darwiniana*, 1974, 18, 295.
2. Fester, G. A.; Martinuzzi, F. A.; Retamar, J. A.; Ricciardi, A. I. Aceites esenciales de la República Argentina. *Academia Nacional de Ciencias. Córdoba. (R.A.)* 1961.

3. Retamar, J.A. Essential oils from aromatic species. In. On Essential Oils. Ed. J. Verghese. *Synthite Inds. Chem. Pvt. Ltd. Kolenchery* 1986, 123.
4. Velasco-Neguereuela, J.A.; Perez-Alonso, M.J.; Guzman, C. A.; Zygadlo, J. A.; Espinar, L.A.; Sanz, J.; Garcia Vallejo, M.C. Volatile constituents of four Lippia species from Córdoba (Argentina). *J. Essent. Oil Res.*, 1993, 5, 513.
5. Zygadlo, J. A.; Lamarque, A. L.; Guzman, C.A.; Grosso, N.R.. Composition of the Flower Oils of Some Lippia and Aloysia Species from Argentina. *J. Essent. Oil Res.*, 1995, 7, 593.
6. Terblanché, F. C.; Kornelius, G. Essential Oil Constituents of the Genus Lippia (Verbenaceae) - A Literature Review. *J. Essent. Oil Res.* 1996, 8, 471.
7. Retamar, J.A.; Talenti, E.L.J.; Delfini, A. A. Aceite esencial de *L. fissicalyx* (2º comunicación) *Essenze Deriv. Agrum.*, 1975, 45, 31.
8. Stenhagen, E.; Abrahamson, S.; McLafferty, F.H. *Archives of mass spectral data.*, 1970, 1, N° 3, July-September.
9. Swigar, A.A.; Silverstein, R.M. *Monoterpenes*. Aldrich Chemical Co., Inc. Milwaukee, Wisconsin 1981
10. Adams, R.P. *Identification of essential oil components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy*. Allured Publishing Corporation Carol Stream, Illinois USA 1995.
11. Grob, R. L. *Modern practice of gas chromatography*. John Wiley & Sons, 1985, 365.
12. N.W. Davies. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *J. of Chromatogr.*, 1990, 1, 503.365
13. Jean-Claude Chalchat, Raymond Philippe Garry, Chantal Menut, Gerard Lamaty, Robert Malhuret, Jean Chopineau. Correlation Between Chemical Composition and Antimicrobial Activity VI. Activity of some African Essential Oils. *J. Essent. Oil Res.* 1997, 9, 67.