

COMPOSICIÓN QUÍMICA VOLÁTIL Y TOXICIDAD AGUDA (CL₅₀) FRENTE a *Artemia salina* DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Croton malambo* COLECTADO EN LA COSTA NORTE COLOMBIANA

RESUMEN

El *Croton malambo*, pertenece a la familia *Euphorbiaceae*, es un árbol pequeño que crece en la costa norte colombiana y en la región oriental venezolana. Para la extracción del aceite esencial fue utilizada la corteza usando el método de hidrodestilación, la composición química volátil fue analizada por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. Los componentes mayoritarios fueron: Z-metil isoeugenol (53.6%), α -bergamoteno (7.4%), metil eugenol (3.0%), E-metil-isoeugenol (3.5%), 2,4-diterbutil fenol (3.0%), β -pineno (2.7%), y linalol (2.2%). Los aceites obtenidos fueron utilizados para la determinación de su efecto toxicológico frente a *Artemia salina* dando como resultado una CL₅₀ de 15,32 y 3,20 $\mu\text{g/mL}$ después de ser expuestas por 24 y 48 horas respectivamente. La presencia de múltiples compuestos de interés farmacológico en el aceite esencial sugiere que esta especie es de interés promisorio como fuente de metabolitos secundarios, y por su bajo nivel de toxicidad puede ser utilizado en la industria farmacéutica, cosmética, entre otras.

PALABRAS CLAVES: *Croton malambo*, hidrodestilación, metil- isoeugenol, aceites esenciales, *Artemia salina*, toxicidad.

ABSTRACT

The *Croton malambo*, belongs to the *Euphorbiaceae* family, is a small tree that grows in the Colombian North coast and in the Venezuelan Eastern region. For the extraction of the essential oil was used the tree bark by hydrodistillation method, the volatile chemical composition was analyzed by gas chromatography accopled to spectrometry of masses. The majority components were: Z-methyl isoeugenol (53,6%), α -bergamotene (7,4%), methyl eugenol (3,0%), E-methyl-isoeugenol (3,5%), 2,4-di-tert-butylphenol (3,0%), β -pinene (2,7%), and linalool (2,2%). The obtained oils were used for the determination of their toxicological effect front to *Artemia salina* giving like result a CL₅₀ 15.32 and 3.20 $\mu\text{g/mL}$ after being exposed by 24 and 48 hours respectively. The manifold presence composed of pharmacologic interest in the essential oil suggests this species is of promissory interest like source of secondary metabolites, and by his low level of toxicity can be used in the pharmaceutical, cosmetic industry, among others.

KEY WORDS: *Croton malambo*, hydrodistillation, methylisoeugenol, essential oils, *Artemia salina*, toxicity.

1. INTRODUCCIÓN

El *Croton malambo* es un pequeño árbol o arbusto perteneciente a la familia *Euphorbiaceae* que crece en las costas venezolanas y colombianas, usado popularmente contra la fiebre, dispepsia y como diurético (García, 1992; Bracho, 1996) [1,2]. Esta especie presenta actividad citotóxica, proapoptótica (Morales et al., 2005) [3] y actividad antiinflamatoria (Suárez et al., 2003) [4]. En otras especies de *Croton* también ha sido reportada la actividad antimicrobiana y antimalárica (Thongtan et al., 2003) [5]. La corteza del *Croton malambo* presenta un agradable olor aromático de la que se obtiene aceite

esencial, El valor comercial y el uso de los aceites dependen básicamente de su composición química, la cual a su vez está condicionada por diversos factores de tipo botánico, agrícola y método de extracción. La clasificación de los constituyentes en función del contenido presente en cada esencia es fundamental tanto para determinar la calidad de la esencia, como para precisar sus características organolépticas, sus efectos fisiológicos y/o de actividad biológica (Bandoni, 2000; Itir, 2004; Kordali, 2005) [6-8].

La *Artemia salina* es ampliamente utilizada para la realización de ensayos de toxicidad, tales como,

BEATRIZ EUGENIA JARAMILLO
Química, Ph.D, docente universidad de Cartagena, Laboratorio de Investigaciones Agroquímicas. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.

JESÚS TADEO OLIVERO
Q.F, Ph.D, docente Universidad de Cartagena, Grupo de Química Ambiental y Computacional, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, jesusolivero@yahoo.com

KAREN MUÑOZ
Estudiante Q.F, Universidad de Cartagena, Laboratorio de Investigaciones Agroquímicas. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, kmunozc@unicartagena.edu.co

determinación de CL_{50} . El objetivo de este trabajo fue conocer la composición química volátil del aceite esencial del *Croton malambo* y determinar la concentración letal media (CL_{50}) de este frente a *Artemia salina*.

2. CONTENIDO

2.1 Materiales y métodos.

Las cortezas de los árboles de *Croton malambo* fueron recolectadas manualmente en Puerto Colombia, Atlántico, Colombia, luego fueron almacenados y transportados al Laboratorio de Toxicología Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Cartagena para su análisis posterior. La corteza fue molida y luego se obtuvo el aceite esencial empleando la técnica de hidrodestilación, según el método descrito por Stashenko y colaboradores (Stashenko, 2004) [9-11]. Se prepararon 30 μ L del aceite esencial de *C. malambo* en 1 mL de diclorometano y se inyectó 1 μ L de esta solución en el cromatógrafo de gases. Los experimentos se realizaron por triplicado. Para la identificación de los compuestos se usaron algunos terpenos estándar, analizados bajo las mismas condiciones instrumentales, espectros de masas experimentales e índices de retención de Kovats (Davies, 1990; Adams, 1995) [12,13].

Para la evaluación de la CL_{50} del aceite esencial de *Croton malambo* sobre *Artemia salina*, fueron realizados ensayos preliminares con el fin de establecer el rango de concentración que permitió la determinación de la CL_{50} por el método de análisis Probit (Finney, 1971) [14]. Para realizar los bioensayos de letalidad fueron preparadas soluciones de 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 30, 40 μ g/mL, utilizando agua de mar. Por cada bioensayo fueron preparadas tres réplicas por concentración y en cada vial fueron colocadas 10 larvas en 10 mL de las soluciones a evaluar. La cantidad de DMSO escogido se tuvo en cuenta para preparar el control negativo con agua de mar artificial. El conteo de organismos muertos fue realizado a las 24 y 48 horas después de colocar las larvas en las diferentes soluciones sobre bioensayos efectuados por duplicado.

2.2 Resultados

Un total de 64 compuestos fueron separados e identificados del aceite esencial. Los componentes mayoritarios fueron: trans- β -metil isoeugenol (53.6%), α -bergamoteno (7.4%), α -santaleno (3.5%), metil eugenol (3.0%), 2,4-diterbutil fenol (3.0%), β -pineno (2.7%), y linalol (2.2%). Entre los compuestos minoritarios fueron encontrados el elemicin (1.7%), epoxilinalol (1.4%), δ -amorphene (1.4%), epóxido β -cariofileno (1.2%), α -copaene (1.2%), óxido del linalol (1.1%), β -farnesene (1%), α -pineno (0.7%), limoneno (0.2%) y β -mirceno (0.05%). La Tabla 1 muestra los principales compuestos encontrados en el aceite esencial de *Croton malambo*. La Figura 1 muestra los compuestos mayoritarios obtenidos

en el aceite esencial de *Croton malambo* identificados en la Tabla 1.

Varias investigaciones han reportado que compuestos fenólicos obtenidos de aceites esenciales han presentado marcada actividad antioxidante (Teissedre, 2000; Zheng, 2001) [15,16], por lo que en una etapa siguiente a este estudio se evaluará la actividad antioxidante del aceite esencial de *Croton malambo*, dada la significativa presencia de Z- metil-isoeugenol y el metil eugenol en él.

Para la determinación de la Concentración Letal Media (CL_{50}) del aceite esencial de *Croton malambo* frente a *Artemia salina* fue utilizado el análisis Probit. En la Figura 2 puede verse la gráfica que corresponde al porcentaje de mortalidad de *Artemia salina* contra las concentraciones del aceite esencial de *Croton malambo* a las 24 y 48 horas de exposición. La CL_{50} del aceite a las 24 y 48 horas fue determinada utilizando las gráficas de regresión mostradas en la Figura 3.

*Pico N°	Compuesto	Ik HP-5	Área relativa del pico, % HD
A	β -Pineno	982	2.7
B	Linalol	1098	2.2
C	Metil eugenol	1404	3.0
D	α -Bergamoteno	1437	7.4
E	Z-metil-isoeugenol	1458	53.6
F	E-Metil-isoeugenol	1495	3.0
G	Óxido de cariofileno	1583	1.2

Tabla 1. Compuestos mayoritarios encontrados en el aceite esencial de *Croton malambo* colectado en la costa norte Colombiana. *Ver Figura 1.

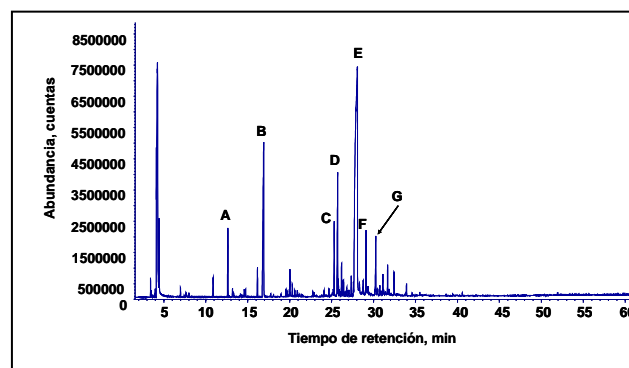


Figura 1. Perfil cromatográfico del aceite esencial de *Croton malambo* obtenido por hidrodestilación, HD. Columna HP-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m).

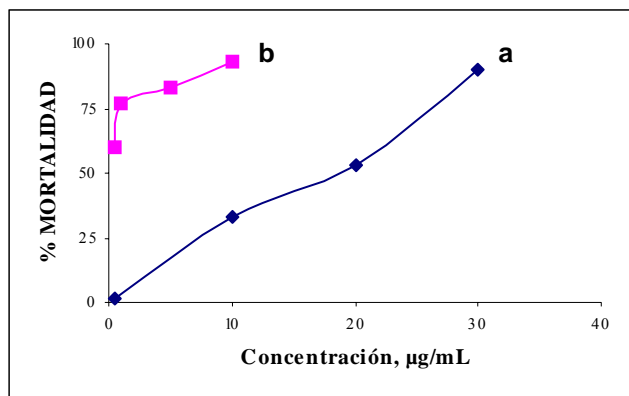


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de *Artemia salina* contra las concentraciones de aceite esencial de *Croton malambo* a las 24 (a) y 48 (b) horas de exposición.

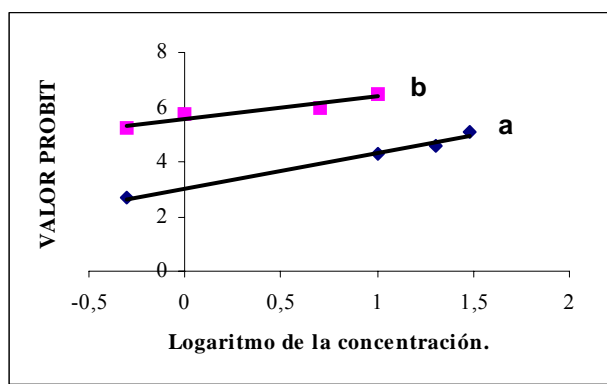


Figura 3. Función lineal que relaciona el valor Probit obtenido contra los logaritmos de las concentraciones del aceite esencial de *Croton malambo* a 24 (a) y 48 (b) horas de exposición.

3. CONCLUSIONES

El compuesto mayoritario encontrado en el aceite esencial *Croton malambo* fue el Z- metil-isoeugenol (53.6 %), seguido de α -bergamoteno (7.4%), metil eugenol (3.0%), E-metil-isoeugenol (3.5%), entre otros.

La CL_{50} del aceite esencial a las 24 horas fue de 119.710 $\mu\text{g/mL}$, con un intervalo de confianza del 95% entre 128.329 y 111.670 $\mu\text{g/mL}$ y a las 48 horas fue de 83.862 $\mu\text{g/mL}$, con un intervalo de confianza del 95% entre 90.739 y 77.506 $\mu\text{g/mL}$.

La variedad de compuestos encontrados sugiere el potencial de metabolitos secundarios volátiles encontrados en esta especie y que podrían ser usados en productos cosméticos, farmacéuticos, aseo, odontológicos, entre otros.

4. AGRADECIMIENTOS

Alveiro Hernández, Q.F, Propilco S.A, Jorge Guette, Q.F, La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Cartagena.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] GARCÍA, B.H., 1992. Flora Medicinal de Colombia, Tercer Mundo, Bogotá.
- [2] BRACHO, R. and CROWLEY, K., 1996. The essential oils of some Venezuelan *Croton* species. *Phytochemistry* 5 (5): 921-926.
- [3] MORALES, A., PÉREZ, P., MENDOZA, R., COMPAGNONE, R., SUAREZ, A., ARVELO, F., RAMÍREZ, J. and GALINDO I., 2005. Cytotoxic and proapoptotic activity of ent-16 β -17 α -dihydroxykaurane on human mammary carcinoma cell line MCF-7. *Cancer Letters*. 218 (1):109-116.
- [4] SUÁREZ, A., COMPAGNONE, R., SALAZAR-BOOKAMAN, M., TILLET, S., MONACHE, F., DI GIULIO, C. and BRUGES, G. (2003). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton malambo* bark aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*. 88 (1): 11-14.
- [5] THONGTAN, J., KITTAKOOP, P., RUANGRUNGSI, N., SAENBOONRUENG, J. and THEBTARANONTH, Y., 2003. New Antimycobacterial and Antimalarial 8, 9-Secokaurane Diterpenes from *Croton kongensis*. *Journal of Natural Products*. 66: 868-870.
- [6] BANDONI, A., 2000. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. CYTED. La Plata: Editorial de la Universidad de La Plata. 410 p.
- [7] ITIR DADALIOG, L AND GULSUN AKDEMIR E. 2004. "Chemical Compositions and Antibacterial Effects of Essential Oils of Turkish Oregano (*Origanum minutiflorum*), Bay Laurel (*Laurus nobilis*), Spanish Lavender (*Lavandula stoechas* L.), and Fennel (*Foeniculum vulgare*) on Common Foodborne Pathogens". *J. Agric. Food Chem.* 52: 8255-8260.
- [8] KORDALI, S.; CAKIR, A.; MAVI, A., YILDIRIM, A., et al., 2005. "Screening of Chemical Composition and Antifungal and Antioxidant Activities of the Essential Oils from Three Turkish *Artemisia* Species". *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1408-1416.
- [9] STASHENKO, E.E., JARAMILLO, B.E. y MARTÍNEZ, J.R., 2003. "Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in

vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae”. Rev. Acad. Colomb. Cienc., 27 (105): 579-597.

- [10] STASHENKO, E.E., MARTÍNEZ, J.R. and JARAMILLO, B.E., 2004a. “Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity”. J. Chromatogr. A, 1025: 93-103.
- [11] STASHENKO, E.E., MARTÍNEZ, J.R. and JARAMILLO, B.E., 2004b. “Analysis of volatile secondary metabolites from colombian *Xylopia aromatica* (Lamarck) by different extractive and headspace methods and gas chromatography”. J. Chromatogr. A., 1025: 105-113.
- [12] DAVIES, N.W., 1990. “Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases”. J. Chromatogr., 503: 1-24.
- [13] ADAMS, R.P., 1995. “Identification of essential oil components by gas chromatography / spectrometry. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 469 p.
- [14] FINNEY, D., 1971. Probit analysis. 3rd Ed., Cambridge University Press, UK. 76-80 p.
- [15] TEISSEDRE, P.L. and WATERHOUSE, A.L., 2000. “Inhibition of Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins by Phenolic Substances in Different Essential Oils Varieties”. J Agric. Food Chem., 48: 3801-3805.
- [16] ZHENG, W. and WANG, S., 2001. “Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs”. J. Agric. Food Chem, 49: 5165-5170.