

Artículo original

Composición química del aceite esencial de las hojas de *Artemisia absinthium* L. colectada en Tovar Edo. Mérida, Venezuela.

Chemical composition of *Artemisia absinthium* L. essential oil collected from Tovar Mérida State, Venezuela

Rojas-Fermin Luis¹, Rojas-Vera Janne^{1*}, Cordero De Rojas Yndra², Handan Mager³, Carmona Juan⁴.

¹Instituto de Investigaciones, ²Departamento de Bioanálisis Clínico, ³Departamento de Análisis y Control, ⁴Herbario MERF. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida CP 5101, República Bolivariana de Venezuela.

Recibido mayo 2016 - Aceptado diciembre 2016

RESUMEN

El aceite esencial obtenido por hidrodestilación a partir de las hojas frescas de *Artemisia absinthium* L., se analizó mediante la técnica cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El rendimiento del aceite fue 0,3% m/v, del cual se identificaron 23 compuestos, lo que representa el 95,8%. Los componentes mayoritarios observados fueron: α -tuyona (55,1%), chamazuleno (10,4%) y una mezcla de isómeros del dehidrochamazuleno (14,6%). De acuerdo a los estudios previos sobre los diferentes quimiotipos reportados para la especie *A. absinthium* y al observar los compuestos encontrados en mayor proporción en el presente estudio, se podría opinar que la especie colectada en Tovar Edo Mérida-Venezuela es del quimiotipo α -tuyona/chamazuleno/dehidrochamazuleno. Sin embargo, para establecer concretamente este quimiotipo es necesario realizar colectas en diferentes épocas del año de la misma planta, en la misma ubicación. Los autores proponen esto como estudio posterior.

PALABRAS CLAVES

Artemisia absinthium, Asteraceae, aceite esencial, α -tuyona, chamazuleno.

ABSTRACT

Essential oil obtained by hydrodistillation from fresh leaves of *Artemisia absinthium* L., was analyzed by gas chromatography/mass spectrometry technique. The oil yield was 0.3% w/v and 23 components were identified from it, representing 95.8% of the total. The major components were α -tujone (55.1%), chamazulene (10.4%) and a mixture of dehydrochamazulene isomers (14.6%). According to previous investigations regarding different chemotypes reported for *A. absinthium* species and checking the main compounds identified in present study, it might be assumed that this species collected from Tovar, Mérida State-Venezuela could be as part of α -tuyona/ chamazuleno/dehydrochamazulene chemotype. However, to correctly establish this chemotype, additional assays carried out with collections of same species and

same location, several times in a year, are necessary. Thus, authors are suggesting this as a further study.

KEY WORDS

Artemisia absinthium, Asteraceae, essential oil, α -tujone, chamazulene.

INTRODUCCIÓN

El género *Artemisia* pertenece a la familia Compositae (Asteraceae) y está representado por aproximadamente 350 especies. La mayoría de estas han sido usadas en la medicina tradicional para aliviar diversas afecciones. En Irán, la especie *Artemisia dracunculus* L., es utilizada para tratar casos de epilepsia [1] mientras las hojas de *A. absinthium*, *A. biennis*, *A. frigida* y *A. ludoviciana* son usadas en Norte América para tratar heridas e infecciones bronquiales [2]. Por otro lado, las hojas de *A. frigida* y *A. dracunculus* han sido utilizadas en varios países europeos como condimento y para preservar alimentos como la carne [3].

Por su parte, la especie *Artemisia absinthium* L., conocida popularmente como Ajenjo, es usada como carminativo y para aliviar complicaciones gastrointestinales, además de emplearse como aperitivo en culinaria [4]. En relación a estudios fitoquímicos existe una variedad de reportes sobre la composición química del aceite esencial de diferentes especies del género *Artemisia*, presentando como compuestos mayoritarios, derivados de tipo fenólico como el timol, carvacrol y eugenol, para los cuales se han determinado actividades antibacterianas y antioxidantes en varias ocasiones [1,3,5-7]. Por otro lado, estudios de actividad antibacteriana han demostrado que el aceite de *A. biennis* es más activo contra *Cryptococcus neoformans*, *Fonsecaea pedrosoi* y *Aspergillus niger* mientras el aceite de *A. absinthium* presenta mayor actividad contra las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* [3]. Además, estudios *in Vitro* han reportado efecto acaricida contra la especie *Rhipicephalus annulatus* (garrapata) para el aceite esencial de *A. annua* [8], mientras el extracto etanólico de la especie *A. dracunculus* ha mostrado que posee efecto hipoglicemiante [9]. En el presente estudio se describe

*Correspondencia al autor: janner@ula.ve

la composición química del aceite esencial de la especie *Artemisia absinthium* L. colectada en Tovar, Edo Mérida y se realiza una comparación de sus componentes mayoritarios con los reportados en diferentes especies del mismo género.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de material vegetal. Las hojas de *Artemisia absinthium* fueron recolectadas en la población de Tovar, municipio Tovar, Edo. Mérida, a una altitud de 952 metros sobre el nivel del mar. La muestra testigo, una vez identificada por el Ing. Juan Carmona, fue depositada en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes bajo el código JR55.

Extracción del aceite esencial. Las hojas frescas (500 g) se licuaron y colocaron en un equipo de hidroddestilación, empleando la trampa de Clevenger durante 4 horas. El aceite obtenido se secó con sulfato de sodio anhidro y se guardó en la oscuridad bajo refrigeración a 4 °C hasta su correspondiente análisis.

Cromatografía de gases (CG). El análisis por CG se realizó en un cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer modelo AutoSystem, provisto de una columna capilar AT-5 (60 m de longitud y 0,25 mm de diámetro interno). Se utilizó helio como gas portador a un flujo de 1 mL/min., con un volumen de inyección de la muestra a una relación de split de 1:100. La temperatura inicial fue de 60 °C (5 min.) y la temperatura final: 200 °C (20 min.) a un gradiente de 4 °C/min.; el tiempo total de análisis fue de 60 min con una temperatura del inyector de 250 °C, mientras que la interfase se mantuvo en 280 °C. Los Índices de Kovats (IK) fueron calculados en relación a una serie de *n*-alcanos (de C6 a C18) utilizados como estándares internos [10-11].

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM). El estudio por CG/EM se realizó en un cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 5973 serie II, equipado con columna capilar HP-5 MS (30 m de longitud, de 0,2 mm de diámetro interno, con un espesor de pared de 0,25 µm). La temperatura del puerto de inyección fue de 230 °C y la del cuadrupolo 150 °C. Se utilizó helio como gas portador, a un flujo de 0,9 mL/min ajustado a una velocidad lineal de 34 m/s. La energía de la fuente de ionización fue de 70 ev con un rango de barrido de 40-500 amu a 3.9 scans/s. Se inyectó 1,0 µL del aceite diluido en *n*-heptano con una relación de split de 1:100. La identificación de los componentes del aceite se realizó por comparación de sus espectros de masas con los reportados en la base de datos de la librería Wiley 6ta Edición y los índices de Kovats reportados en la literatura [10-11].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La extracción por hidroddestilación de las hojas frescas de *Artemisia absinthium* proporcionó 1,5 mL (0,3% m/v de rendimiento) de aceite esencial. El análisis por CG y CG-EM permitió identificar 23 componentes, los cuales representan el 95,8% de la mezcla (Tabla 1). Los componentes mayoritarios identificados fueron: α -tuyona (55,1%) y chamazuleno (10,4%). Sin embargo, tres compuestos no pudieron ser identificados en su totalidad. Por comparación de sus espectros de masas, EIMS [isómero 1^a]: 186 (95%), 171 (55%), 157 (100%), 142 (56%); EIMS [isómero 1^b]: 186 (93%), 171 (100%), 157 (40%), 129 (37%); EIMS [isómero 1^c]: 186 (92%), 171 (100%), 157 (39%), 143 (52%) con los datos reportados en la base de datos Wiley 6ta edición y NIST para el dehidrochamazuleno se puede deducir que dichos compuestos son isómeros de este derivado terpénico

Tabla 1.
Componentes identificados en las hojas de la especie *Artemisia absinthium*.

| Componentes | % | IK * | IK ** |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| sabineno | 0,9 | 966 | 964 |
| β -pineno | 0,8 | 979 | 979 |
| β -felandreno | 0,3 | 1010 | 1025 |
| 1,8-cineol | 0,3 | 1012 | 1026 |
| γ -terpineno | 0,2 | 1042 | 1052 |
| β -tuyona | 2,4 | 1100 | 1106 |
| α-tuyona | 55,1 | 1116 | 1122 |
| camfeno | 2,6 | 1131 | 1134 |
| <i>trans</i> -sabinol | 0,9 | 1138 | 1137 |
| terpinen-4-ol | 0,7 | 1176 | 1174 |
| α -terpineol | 0,3 | 1189 | 1186 |
| nerol | 0,3 | 1224 | 1227 |
| acetato de nerilo | 0,5 | 1365 | 1359 |
| italiceno | 0,3 | 1403 | 1405 |
| γ -curcumeno | 2,0 | 1480 | 1484 |
| isobutanoato de nerilo | 0,7 | 1491 | 1666 |
| 2-metilbutanoato de nerilo | 1,0 | 1571 | 1575 |
| dehidrochamazuleno 1 ^a | 3,8 | 1606 | 1613 |
| dehidrochamazuleno 1 ^b | 6,0 | 1616 | 1627 |
| dehidrochamazuleno 1 ^c | 4,8 | 1643 | 1651 |
| chamazuleno | 10,4 | 1725 | 1730 |
| propionato de nuciferol | 0,6 | 1955 | |
| isobutirato de nuciferol | 0,9 | 2012 | |

1^a Isómero no determinado; EIMS: 186 (95%), 171 (55%), 157 (100%), 142 (56%). 1^b Isómero no determinado; EIMS: 186 (93%), 171 (100%), 157 (40%), 129 (37%). 1^c Isómero no determinado; EIMS: 186 (92%), 171 (100%), 157 (39%), 143 (52%). IK: índice de Kovats. *: índices de kovats calculados en el presente estudio; **: índice de kovats reportados en la bibliografía [10-11].

La composición química del aceite esencial fue establecida por comparación de los espectros de masas de cada compuesto con la base de datos Wiley 6^a edición y los datos de IK reportados en la literatura [10-11].

Al comparar los resultados obtenidos en la presente investigación con los reportados para la misma especie *A. absinthium* pero recolectada en otros países se puede observar que, el monoterpeno α -tuyona (17,9-20,9 %) y su isomero β -tuyona (40,7-59,9 %) han sido identificados en varias muestras procedentes de Francia, Croacia y Argentina, entre los componentes mayoritarios [12-13]. Sin embargo, una muestra de *A. absinthium* analizada en Canadá se caracterizó por presentar altas cantidades de acetato de *trans*-sabinilo (26,4%), mirceno (10,8 %) y *trans*-tuyona (10,1 %) [3]. Otro estudio realizado con la misma especie recolectada en Grecia determinó entre sus componentes principales el 1,8-cineol (18,9%), *p*-cimeno (16,8%), linalool (2,6%) y β -pineno (2,1%), observándose los compuestos α -tuyona y β -tuyona entre los minoritarios [14].

Por otro lado, existen diversos estudios que han revelado la composición química de diferentes especies de *Artemisia*. Para la especie *A. campestris* var. *glutinosa* han reportado α -curcumeno, óxido de cariofileno, *p*-cimeno, α -pineno, germacreno D, bicilogermacreno [15], γ -terpineno, capileno, 1-fenil-2,4-pentadieno, espatulenol, metileugenol, *p*-cimeno y α -pineno entre los componentes mayoritarios [16]. *Artemisia verlotiorum* reportó 1,8-cineol, germacreno D, β -tuyona, β -cariofileno, borneol, camfor y mirceno [7]. *Artemisia dracunculus*: *trans*-anetol (21,1%), α -*trans*-ocimeno (20,6%), limoneno (12,4%), α -pineno (5,1%), allo-ocimeno (4,8%), metil eugenol (2,2%), β -pineno (0,8%), α -terpinoleno (0,5%), acetato de bornilo (0,5%) y bicilogermacreno (0,5%) [1]. Para el aceite esencial de *Artemisia pedemontana* han reportado como componentes mayoritarios camfor (49,2%) y 1,8-cineol (12,6%) [17]. Un estudio comparativo realizado en Canadá con las especies *A. biennis*, *A. cana*, *A. dracunculus*, *A. frigida*, *A. longifolia* y *A. ludoviciana* reportó como componentes mayoritarios: 1,8-cineol (21,5-27,6%) y camfor (15,.-37,3%). En el aceite de *A. ludoviciana* se observó además davanona (11,5%) entre los compuestos en mayor proporción. *A. biennis* presenta una abundante concentración de β -ocimeno (34,7%) y β -farneseno (40,0%) mientras *A. dracunculus* contiene principalmente metil chavicol (16,2%) y metil eugenol (35,8%) [3]. Por su parte, *A. herba-alba* estudiada en España mostró entre sus componentes mayoritarios davanona, *p*-cimeno, 1,8-cineol, crisantenona, acetato de *cis*-crisantenil, γ -terpineno, mirceno y camfor [6].

En la presente investigación se determinó que la mezcla de monoterpenos α y β -tuyona representa 71,3 % del total de los componentes presentes en el aceite esencial de la especie en estudio. Reportes previos realizados a este monoterpeno han determinado que posee actividad antibacteriana, antiparasitaria y estimulante del sistema inmune [18]. Sin embargo, también

presenta efectos secundarios indeseables tales como ansiedad, insomnio, espasmos musculares y convulsiones; por esta razón, la tuyona ha sido usada en estudios con animales de experimentación para probar fármacos anticonvulsivantes [18].

Es importante destacar que estudios anteriores han revelado la presencia de 17 quimiotipos para la especie *A. absinthium*, entre los que se cuentan: (a) (Z)-6,7-epoxiocimeno, (b) acetato de sabinilo, (c) β -tuyona, (d) butanoato de nerilo, (e) 1,8-cineol, (f) β -tuyona/(Z)-6,7-epoxicimeno, (g) β -tuyona/acetato de sabinilo, (h) (Z)-6,7-epoxicimeno/acetato de crisantenilo/acetato de sabinilo, (i) sabineno/mirceno, (j) mirceno/acetato de crisantenilo, (k) camfor/chamazuleno, (l) chamazuleno [19].

En especies recolectadas en Tunisia determinaron otros quimiotipos (m) α -tuyona/camfor/chamazuleno, (n) camfor/acetato de bornilo/chamazuleno, (ñ) hidrato de (Z)-sabineno/camfor, (o) acetato de bornilo y (p) (Z)-6,7 epoxicimeno/acetato de *cis*-crisantenilo, según sean los compuestos que se determinen en mayor proporción [19-26,]. Estos mismos estudios han revelado que las muestras analizadas en los países europeos difieren sustancialmente en su composición química de las muestras colectadas en Asia y América.

Al observar los compuestos determinados en mayor proporción en el presente estudio se podría predecir que la especie *A. absinthium* colectada en Tovar Edo Mérida-Venezuela podría ubicarse en un nuevo quimiotipo α -tuyona/chamazuleno/dehidrochamazuleno. Sin embargo, para establecer concretamente este quimiotipo es necesario realizar colectas en diferentes épocas del año de la misma planta, en la misma ubicación. Los autores proponen esto como estudio posterior.

CONCLUSIONES

El aceite esencial de *Artemisia absinthium* analizado por CG/EM mostró α -tuyona y chamazuleno como los componentes en mayor proporción. La alta concentración de α -tuyona sugiere a la especie bajo estudio como posible fuente de obtención de este monoterpeno.

AGRADECIMIENTOS

Los autores reconocen y agradecen el trabajo realizado por la Dra. Rosa Aparicio, adscrita al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, por la realización de los cromatogramas de gases mediante la técnica de CG/EM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Mohammad S, Nadjafniab L, Mohammad K. Anticonvulsant activity and chemical composition of *Artemisia dracunculus* L. essential oil. J Ethnopharmacol, 2004; 94: 283-287.
- [2] Kershaw L. Edible & Medicinal Plants of the Rockies. Lone Pine, Edmonton, Canada. 2000.

- [3] Lopes-Lutz D, Alviano D, Alviano C, Kilodziejczyk P. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 2008; 69: 1732-1738.
- [4] Carnat A, Madesclaire M, Chavignon O, Lamaison J. Cis-Chrysanthenol, a main component in essential oil of *Artemisia absinthium* L. growing in Auvergne (Masif Central) France. *J Essent Oil Res.* 1992; 4: 487-490.
- [5] Lawrence B. Antimicrobial/biological activity of essential oils. Allured Publishing Corporation, Illinois, USA. 2005.
- [6] Salido S, Valenzuela L, Altarejos J, Nogueras M, Sánchez A, Cano E. Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochem Syst Ecol.* 2004; 32: 265-277.
- [7] Chericoni S, Flamini G, Campeol E, Cioni P, Morelli I. GC-MS analyses of the essential oil from the aerial parts of *Artemisia verlotiorum*: variability during the year. *Biochem Syst Ecol.* 2004; 32: 423-429.
- [8] Piralí-Kheirabadi K, Teixeira da Silva J. *In-Vitro* Assessment of the acaricidal properties of *Artemisia annua* and *Zataria multiflora* essential oils to control cattle ticks. *Iranian J parasitol.* 2011; 6: 58-65.
- [9] Noorizadeh H, Farmany A. QSPR studies of *Artemisia* essential oil by the combination of genetic algorithms and PLS analysis. *WASJ.* 2011; 14: 603-606.
- [10] Adams R. Identification of essential oils components by gas chromatography/ mass spectroscopy. 4th edition. Allured Publishing Corporation. Carol Stream, Illinois. USA. 2007; pp 1-469.
- [11] Davies N. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methylsilicone and carbowax 20M phases. *J Chromatogr.* 1990; 503: 1-24.
- [12] Juteau F, Masotti V, Bessiere J. Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Biochem Syst Ecol.* 2002; 30: 1065-1070.
- [13] Sacco T, Chialva F. Chemical characteristics of the oil from *Artemisia absinthium* collected in Patagony (Argentina). *Planta Med.* 1988; 54-96.
- [14] Basta A, Tzakou O, Couladis M. Chemical Composition of *Artemisia absinthium* L. from Greece. *J Essent Oil Res.* 2007; 19: 316-318.
- [15] Bellomaria B, Valentini G, Biondi E. Chemotaxonomy of *Artemisia variabilis* Ten. and *A. campestris* L. spp. *glutinosa* (Ten.) Briq. et Cavill. (Asteraceae) from Italy. *J Essent Oil Res.* 2001; 13: 90-94.
- [16] Juteau F, Jerlovic I, Masotti V, Milos M, Mastelic J, Bessière J, Viao J. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France. *Planta Med.* 2003; 69: 158-161.
- [17] Pérez-Alonso M, Velasco-Negueruela A, Pala-Paul J, Sanz J. Variations in the essential oil composition of *Artemisia pedemontana* gathered in Spain: chemotype camphor-1,8-cineole and chemotype davanone. *Biochem Syst Ecol.* 2003; 31: 77-84.
- [18] Bauer K, Garbe D, Surburg H. Common fragrance and flavor materials. 4th edition. Wiley VCH. Alemania. 2001; 282 p.
- [19] Kordali S, Cakir A, Mavi A, Kilic H, Yildirim A. Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species, *J Agric Food Chem.* 2005; 53: 1408-1416.
- [20] Chialva F, Liddle P, Doglia G. Chemotaxonomy of wormwood (*Artemisia absinthium* L.). *Z Lebensm Unters Forsch.* 1983; 176: 363-366.
- [21] Orav A, Raal A, Arak E, Müürisepp M, Kailas T. Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. of different geographical origin. *Proc Estonian Acad Sci Chem.* 2006; 55: 155-165.
- [22] Sharopov F, Sulaimonova V, Setzer W. Composition of the Essential oil of *Artemisia absinthium* from Tajikistan. *Rec Nat Prod.* 2012; 6: 127-134.
- [23] Riahi L, Ghazghazi H, Ayari B, Aouadhi C, Klay I, Chograni H, Cherif A, Zoghalmi N. Effect of environmental conditions on chemical polymorphism and biological activities among *Artemisia absinthium* L. essential oil provenances grown in Tunisia. *Ind Crop Prod.* 2015; 66: 96-102.
- [24] Pino J, Rosado A, Fuentes V. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. from Cuba, *J Essent Oil Res.* 1997; 9: 87-89.
- [25] Mucciarelli M, Caramiello R, Maffei M, Chialva F. Essential oils from some *Artemisia* species growing spontaneously in north-west Italy, *Flavour Fragr J.* 2005; 10: 25-32.
- [26] Ariño A, Arberas I, Renobales G, Arriaga S, Domínguez J. Seasonal variation in wormwood (*Artemisia absinthium* L.) essential oil composition, *J Essent Oil Res.* 1999; 11: 619-622.