

CONTRIBUCIÓN A LA QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES PROVENIENTES DEL OREGANO

Juan A. Camus, Maritza A. Trujillo

Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química y Ciencias. Universidad de Playa Ancha, (UPLA), Valparaíso-Chile

Keywords: Natural products, *Origanum vulgare*, essential oil

ABSTRACT

It is very gratifying to use various classical techniques of the phytochemistry to isolation and identification of secondary metabolites providing from plants. Layer chromatography column chromatography fine preparative, liquid chromatography of high efficiency, together with the infrared spectroscopy and the ultraviolet-visible complement these techniques essential for the study of natural products. However, identification of compounds that this wonderful natural synthesis lab generously gives us, is only possible docking techniques NMR and the mass spectrometry, which allow to determine the molecular mass and functional groups, providing more refined information about the molecular structure of these complex products. *Origanum vulgare* (oregano) is a species accessible, economic and easy to obtain in our region. Using drag with vapour technique and extraction solvent (methanol-water and ethanol) essential oil is extracted and proceeded with column chromatography and thin layer to separate the active ingredients of essential oil. Then proceeded to perform analysis chromatographic and mass spectra in order to determine the main constituent present in the samples.

Corresponding author: jcamus@upla.cl

RESUMEN

Resulta muy gratificante utilizar diversas técnicas clásicas de la fitoquímica para el aislamiento e identificación de metabolitos secundarios provenientes de las plantas. La cromatografía de columna, la cromatografía de capa fina preparativa, cromatografía líquida de alta eficiencia, conjuntamente con la espectroscopía infrarroja y la ultravioleta-visible complementan estas técnicas esenciales para el estudio de los productos naturales. Sin embargo, la identificación de los compuestos que este maravilloso laboratorio de síntesis natural generosamente nos regala, sólo es posible acoplando técnicas de la RMN y la espectrometría de masas, que permiten determinar la masa molecular y los grupos funcionales, brindando información más refinada sobre la estructura molecular de estos complejos productos.

El *Origanum vulgare* (orégano) es una especie accesible, económica y de fácil reproducción en nuestra región. Utilizando la técnica de arrastre con vapor y la extracción por solvente (metanol-agua y etanol-agua) se extrajo el aceite esencial y se procedió con cromatografía de columna y en capa fina a separar los principios activos del aceite esencial. Posteriormente se procedió a realizar el análisis cromatográfico y espectros de masa, con el objeto de determinar los principales constituyentes presentes en las muestras.

INTRODUCCION

En la actualidad, el uso de especies vegetales constituye un sistema curativo de carácter universal, conocido ampliamente por nuestros antepasados en forma empírica. La utilización de diversas especies permiten producir una serie de compuestos que en condiciones de laboratorio sería imposible sintetizar. Estos maravillosos laboratorios naturales de biosíntesis. Una planta puede ser considerada un sistema biodinámico capaz de modificar o alterar en forma transitoria o permanente las funciones fisiológicas de los organismos [1,2]. Cuando se utiliza una planta medicinal o su preparado farmacéutico, se habla de un fitocomplejo, son entidades bioquímicas elaboradas en la estructura interna de los vegetales y que representan los llamados principios activos. Los aceites esenciales, son productos volátiles, aromáticos de amplia distribución en el reino vegetal, constituido por una mezcla de moléculas de una o varias sustancias derivadas, generalmente, del terpeno, que predominan por cantidad o intensidad de su

perfume, que se pueden ubicar en las flores, las hojas, el fruto, el tallo o las raíces de la planta, pueden ser atrayentes, repelentes o protectoras, son elaboradas por el plasma, vertidos en vacuolas y secretados por estas al exterior. Los vegetales en su metabolismo producen la excreción donde se eliminan los productos finales del metabolismo [2]. Con respecto a la composición química de los aceites esenciales, esta puede variar con la época de la recolección, el lugar geográfico o cambios genéticos, pueden estar constituidos por una mezcla de diferentes sustancias: hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, sus derivados oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, sustancias azufradas y nitrogenadas. Los compuestos más frecuentes provienen de los derivados terpenicos, formados por la vía del acetato-ácido mevalónico y compuestos aromáticos. La presencia de derivados terpenoides es frecuente, sin embargo es variable, en función del medio ambiente y la edad de la planta. La porción líquida de la esencia esta constituida por un eleopteno y la porción sólida por uno o más estearoptenos [3].

El aceite esencial del *Origanum Vulgare*, es un líquido de color amarillo de agradable aroma, que se puede observar en el interior de las flores y en las hojas y cuya composición química es bastante compleja y entre los más importantes constituyentes podemos numerar: timol, carvacrol, pineno, cymol, selineno, dipenteno, α -terpineno, terpenos varios, algunos ácidos polifenólicos como ácido rosmarínico, ácido cafeico, ácido ursólico, ácido clorogénico, taninos, principios amargos, algunos flavonoides como el lutenol, diosmetol, kaemferol y derivados de apigenol. Sin duda que el componente mayoritario es el carvacrol (80,2%), sobre sus bondades existe abundante información, en la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética, gastronómica, etc. Relevante es la importancia que se le ha encontrado en farmacología por su actividad antibacteriana, antimicótica, antiviral, y diurética suave[4]. El uso de diferentes técnicas de extracción y de diversos instrumentales nos ha permitido incursionar en la determinación de los componentes de los aceites esenciales de especies naturales de nuestra región. Resulta interesante observar, por ejemplo que las propiedades y usos de los aceites esenciales del *Origanum vulgare* y del Tomillo (*Thymus vulgaris*) se deben principalmente a sus composiciones químicas similares principalmente por la presencia de Timol, Carvacrol y Cimol, de aquí la importancia de estudiar métodos de determinación de la composición química de aceites esenciales [5].

SECCION EXPERIMENTAL

Los principios activos de las especies vegetales se encuentran en los aceites esenciales, por lo tanto para identificarlos procedemos a seleccionar una técnica adecuada de extracción y la materia prima que se utilizará. Se utilizó orégano fresco entero, orégano fresco molido, hojas de orégano fresco, hojas de orégano fresco molido, orégano seco molido. Se utilizó un equipo de arrastre de vapor a presión reducida, para obtener las primeras muestras que posteriormente debieron ser elaboradas mediante un rotavapor para eliminar lo máximo posible el agua que aun contiene el aceite de su primera fase de extracción. El rotavapor se controla de manera que la temperatura no sobrepase los 40°C y se trabaja en estas condiciones durante 15 minutos. En estas condiciones se observó que tomando 150 gramos de muestra se obtienen entre 0,3-0,5 ml de aceite esencial. En el caso del orégano seco molido se procesaron 250 gramos para obtener 0,8 ml de aceite esencial. También se utilizó la técnica de extracción con solvente. Para ello se utilizó el metanol (50% v/v) y etanol (50% V/V). En este caso se utilizaron 250 gramos de orégano seco molido en un litro de solvente y se dejó macerar durante 3 días bajo refrigeración (20°C). El tiempo de maceración se determinó utilizando espectroscopia UV-VIS (Figura N° 1).

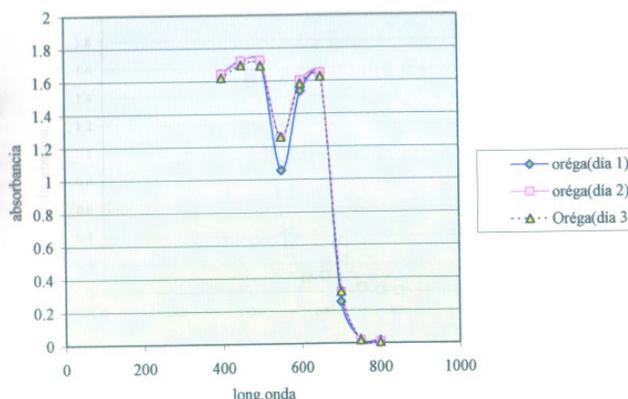


Figura N°1. Determinación del tiempo de maceración

El extracto alcohólico de color café oscuro se concentró en rotavapor (40°C a presión reducida) y posteriormente el concreto obtenido fue tratado por destilación fraccionada a presión reducida, con el objeto de separar los componentes principales. Se utilizó la columna de Hempel, para realizar la operación entre 38°C y 60°C. Se fraccionó el destilado en cabeza, cuerpo y cola, midiendo la temperatura de corte de cada fracción. Cada una de las fracciones obtenidas se analizaron por cromatografía de gases y espectros de masa.

Los resultados de la cromatografía gaseosa se presentan en la Tabla N°1 en la que se indican los tiempos de retención, a partir de los estándares inyectados.

Tabla N°1. Determinación de tiempos de retención

Extracto alcohólico	Compuestos identificados	Tiempos de retención, min.
Orégano	Limoneno	6,95
	Nerol	13,32
	Citral (Neral)	13,7
	Geraniol	14,05
	Timol/Carvacrol	16,0

RESULTADOS, DISCUSION

En el cromatograma del orégano (Figura N° 2) se observan 21 señales, de las cuales se analizaron sólo 11, de interés para nuestra investigación, que aparecen a diferentes tiempos de retención (t_r):

La señal N°1 aparece con un t_r 9,493 y corresponde a un compuesto de peso molecular 136. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al β -pineno o biciclo-3,1,1- hepteno- 6,6-dimetil-2- metileno.

La señal N°2 aparece al t_r 9,830 y corresponde a un compuesto de peso molecular 134. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al β -mirceno o benceno-1-metil-3-(1-metiletil).

La señal N°3 aparece al t_r 10,459 y corresponde a un compuesto de peso molecular 136. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al espectro estándar del 2-careno o 1,6-octadieno-7-metil-3-metileno.

La señal N°4 aparece al t_r 10,532 y corresponde a un compuesto de peso molecular 136. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al espectro estándar del m-cimeno.

La señal N°5 aparece al t_r 10,805 y corresponde a un compuesto de peso molecular 136. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al espectro estándar del α -cis-ocimeno o 1,3,6-octatrieno-3,7-dimetil.

La señal N°6 aparece al t_r 12,003 y corresponde a un compuesto de peso molecular 136. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al espectro estándar del α -terpinen o 1,3-ciclohexadien-1-metil-4-(1-metiletil).

La señal N°7 aparece al t_r 12,077 y corresponde a un compuesto de peso molecular 154. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al espectro estándar del α -linalol o 1,6-octadieno-3-ol-3,7-dimetil.

La señal N°8 aparece al t_r 15,748 y corresponde a un compuesto de peso molecular 150. El espectro de masa (Fig.3 y 4) a ese t_r nos indica que corresponde al espectro estándar del Carvacrol o fenol-2-metil-5-(1-metiletil).

La señal N°9 aparece al t_r 15,957 y corresponde a un compuesto de peso molecular 150. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al espectro estándar del Timol o fenol-5-metil-2- (1-metiletil).

La señal N°10 aparece al t_r 18,720 y corresponde a un compuesto de peso molecular 204. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al espectro estándar del cariofileno.

La señal N°11 aparece al t_r 19,959 y corresponde a un compuesto de peso molecular 204. El espectro de masa a ese t_r nos indica que corresponde al espectro estándar del Germagreno o 1,5-ciclododecadieno-1,5-dimetil-8-(1-metiletilideno).

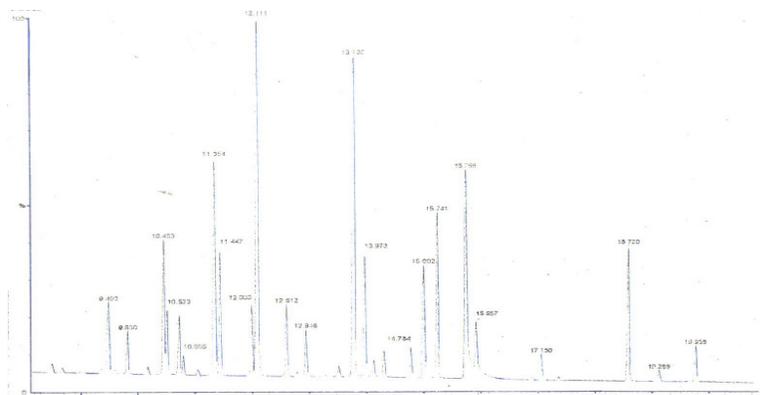


Figura N° 2. Cromatograma del orégano

Las señales N°8 y N° 9 resultaron ser las más interesantes de analizar en detalle, porque corresponde a los componentes mas importantes del orégano y porque corresponde a compuestos que la cromatografía gaseosa no es capaz de diferenciar y de ahí la importancia del uso del espectro de masas que nos permitió diferenciar, mediante estándares bibliográficos el carvacrol del timol (Figura N° 3 y N°4). Las bondades de la espectrometría de masas también es manifiesta al poder analizar en detalle y hacer una extracción de masas para el fragmento 135 específicos para el timol y carvacrol (Figura N°5).

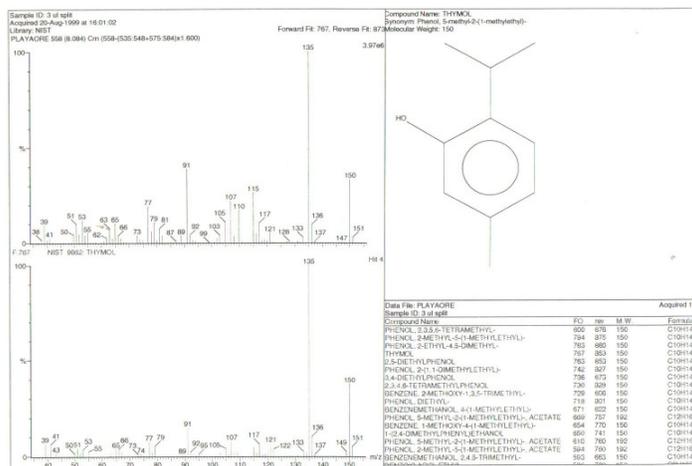
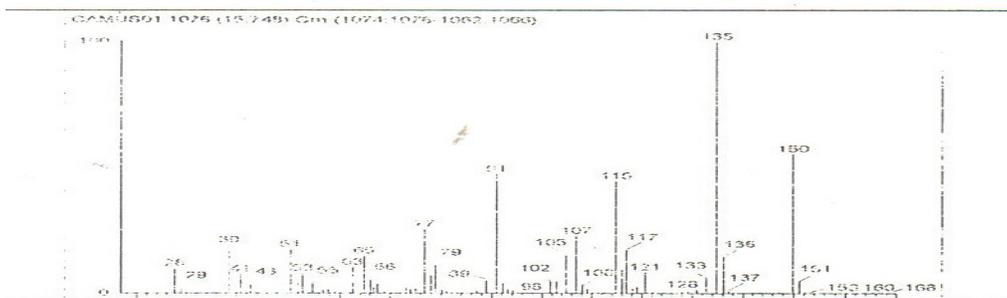


Figura N° 3 Espectro de masa del carvacrol



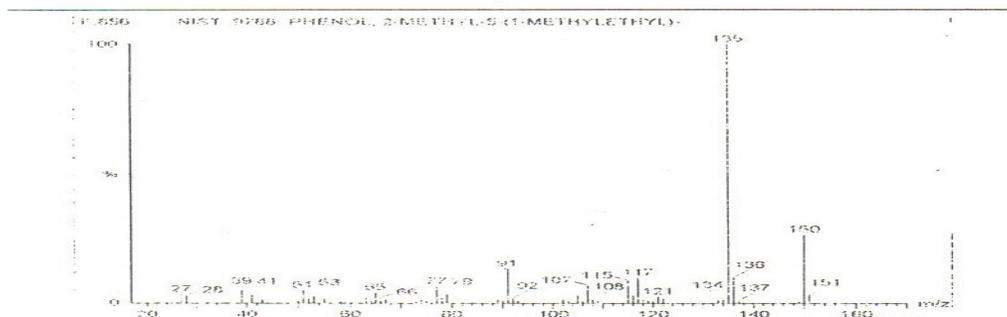


Figura N°4 Estándar bibliográfico específico de masas del carvacrol

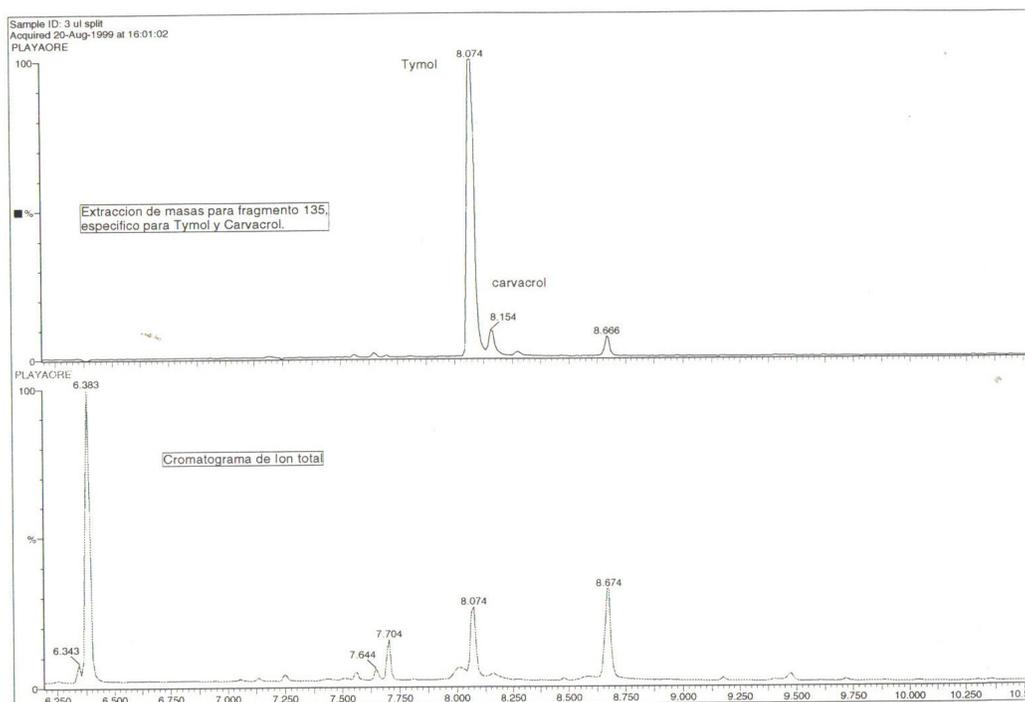


Figura N°5 Extracción de masas para fragmento 135.

CONCLUSIONES

A pesar de que las técnicas más utilizadas actualmente para identificar, determinar la masa molecular y los grupos funcionales de los complejos compuestos de productos naturales son, indiscutiblemente la RMN acoplada a la espectrometría de masas, hemos logrado determinar los principales componentes del orégano, utilizando la cromatografía gaseosa y la espectrometría de masas en forma separada obteniendo resultados similares.

REFERENCIAS

1. L. Acosta de la Luz, Proporciónese salud, cultive plantas medicinales. Edit. Científico-Técnica. La Habana, Cuba. 1993.
2. B. Bross, Las plantas y sus aceites esenciales. Edit. Omega S.A. 1994.
3. M. Montes, L. Valenzuela, T. Wilkomirsky, Aceite esencial de Origanum vulgare, composición y actividad antimicrobiana. Anales de la Real Academia de Francia. 1992, 58, 4, 509-518.
4. B. Fábrega, Plantas medicinales y drogas vegetales: El orégano. Farmacia profesional. 1991.
5. M. Trujillo, "Extracción de sustancias bioactivas de especies vegetales presentes en la V región, Chile". Tesis para optar al título de Profesora de Química, Licenciada en Educación, UPLA, 2002
<http://www.organumoil.com/carvacrol.html>
<http://www.zonaverde.net/origanumvulgare.html>