

Trabajo científico

Métodos de extracción e identificación de los bioactivos de la *Lavandula officinalis* y su potencial uso como agente sedante

Methods of extraction and identification of bioactive agents of *Lavandula officinalis* and the potential use of sedative agent

Francisco López Naranjo,¹ Eduardo Meza Almazo,¹ Sujey Nallely Jiménez García,¹
Marina Altagracia Martínez,¹ Joaquín Manjarrez Marmolejo.²

¹Departamento de Sistemas Biológicos, División Ciencias Biológicas y de la Salud (DCBS),
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco

²Laboratorio de Fisiología de la Formación Reticular, Instituto Nacional de
Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”.

Resumen

México cuenta con una ancestral tradición en el uso de tratamientos naturales, como parte del repunte de la medicina tradicional herbolaria; se revisaron las características etnobotánicas de la *Lavandula officinalis* (Lavanda) y se diseñó una metodología para obtener e identificar varios de los diferentes agentes bioactivos y valorar su posible efecto sedante.

Abstract

Mexico has an ancestral tradition of treatments. As part of the recovery of herbal medicines we reviewed the ethnobotanic characterization of *Lavandula officinalis* and methodology was developed to extract and identify its different bioactive agents and to assess its sedative effect.

Palabras clave: plantas medicinales, *Lavandula officinalis*, lavanda, herbolaria, agentes bioactivos, efecto sedante.

Key words: medicinal plants, *Lavandula officinalis*, lavender, herbal, bioactive agents, sedative effect.

Correspondencia:

M. en C. Francisco López Naranjo
Departamento de Sistemas Biológicos
Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad
Xochimilco
Calzada del Hueso N°1100. Colonia Villa Quietud
Delegación Coyoacán.
Teléfono 5483 7375
E-mail: flopez@correo.xoc.uam.mx

Fecha de recepción: 18 de octubre de 2012

Fecha de recepción de modificaciones:
13 de enero de 2013

Fecha de aceptación: 16 de febrero de 2013

Introducción

A través de la historia de la humanidad y en cada una de las diferentes culturas, el ser humano ha utilizado los productos naturales desde tiempos inmemoriales para saciar su hambre, sanar enfermedades, cicatrizar heridas e incluso modificar su estado de ánimo. Por ejemplo en el estado de Coahuila, en México, se encontraron restos de plantas utilizadas con fines médicos, donde el ser humano habitó hace 8 000 años. El uso de las plantas con fines medicinales estaba más asociada a ritos mágicos y religiosos, por lo que su carácter curativo se le atribuían a fuerzas divinas.¹

Con el descubrimiento y la conquista del Nuevo Mundo hubo al paso del tiempo un intercambio cultural mutuo entre Europa y América sobre el uso y aplicación de los productos naturales y en particular de las plantas, dando lugar a los primeros herbarios americanos. Nuestro país cuenta con una importante y antigua gama de conocimientos en herbolaria terapéutica, cuyos orígenes se remontan a Martín de la Cruz con el Códice Badiano.²

Los productos naturales pueden contener una gran variedad de sustancias con posible actividad terapéutica, que se denominan *productos bioactivos*, los cuales varían en su proporción, pureza y concentración dependiendo de la especie, de la época del año en que se cultivó y recolectó la planta y de su parte utilizada, por lo que se necesitan extraer e identificar estas sustancias.

Debido a la gran variedad de plantas medicinales con que contamos en nuestro país, su uso como una terapia alternativa se ha extendido y aplicado por parte de curanderos, chamanes y médicos tradicionales, quienes cuentan con un gran conocimiento etnomedicinal.³ Las autoridades sanitarias se han visto en la necesidad de promover poco a poco la sistematización de esta enorme y rica información médica tradicional y complementaria a la que recurre un gran porcentaje de la población mexicana (60%), creando la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos.⁴

La Farmacopea incluye métodos generales de análisis, además ha definido los métodos de trabajo que avalen el trabajo científico adoptando métodos de análisis como los que incluye la Organización Mundial de la Salud (OMS) “Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials” (Ginebra 1998), además de trabajar conjuntamente con jardines botánicos como el de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y herbarios como el del Instituto Mexicano de Seguro Social (IMSS) y de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X.) que permite la identificación etnobotánica de las diversas plantas utilizadas para este fin.^{4,5}

En los últimos años se ha incrementado la difusión y el empleo de la medicina tradicional como una herramienta complementaria por parte de los pacientes insatisfechos con los tratamientos convencionales, a la necesidad de un autocontrol de las diversas situaciones cotidianas que alteran nuestro equilibrio emocional y fisiológico que se ve reflejado en nuestro estado de salud en general.

Los principios básicos en los que se basan las terapias alternativas medicinales son: el poder curativo de la naturaleza, tratar de producir un efecto benéfico y no causar daño al organismo, además de tratar al paciente como una persona, como un ser humano completo.^{6,7}

Dentro de los factores que se toman en cuenta para determinar el esquema de un tratamiento se encuentran el estilo de vida del paciente, sus hábitos, su estado nutricional, su estado fisiopatológico, su nivel socio-económico ya que de una u otra manera determinan los tratamientos a los cuales podrá o no acceder mientras perdure su padecimiento.⁸

Las alteraciones del estado de ánimo, así como las neuropatías (enfermedades del sistema nervioso periférico) suelen degenerar en situaciones de insensibilidad, sensaciones extrañas llamadas distesias y alodinas que ocurren espontáneamente o en reacción a un estímulo externo y un dolor muy característico llamado neuralgia (dolor neuropático), es muy diferente la sensación del dolor consciente que puede percibir una persona al acercar su dedo a una fuente calórica o al golpearlo con un martillo.

El dolor neuropático se percibe normalmente como una sensación de quemadura permanente, pinchadura con agujas o “shock eléctrico”.^{9,10} El tratamiento de las neuropatías incluyen una gran variedad de prácticas alternativas que coadyuvan en la búsqueda de la curación de los pacientes o proporcionan una mejor calidad de vida al dar la sensación de bienestar.¹¹

La ansiedad es un sentimiento de miedo, desasosiego y preocupación, su causa no siempre se encuentra bien definida pero puede ir aunada a situaciones de estrés, su fuente sintomatológica no siempre se conoce.

La sedación es una maniobra terapéutica, indicada médicamente para ayudar a disminuir el estado de excitación psicológico que producen diversos factores externos como el estrés, falta de sueño reparador e incluso en casos de dolor, ya que se disminuye el estado de conciencia del paciente y se puede aplicar de manera reversible por un periodo de tiempo limitado.¹

Cuando se presentan síntomas de ansiedad, como consecuencia se derivan diversas alteraciones conductuales, que pueden llegar a incapacitar al paciente, disminuyendo su calidad de vida y la de su familia.

Algunos tratamientos fitoterapéuticos son utilizados como sedantes anti-ansiolíticos, los cuales proporcionan mayor tranquilidad. Algunos de estos principios activos producen el sueño.¹²

Dentro de la Medicina complementaria o alternativa existe la posibilidad de tratamientos etnomedicamentosos. Una opción de ello es utilizar la Lavanda (*Lavandula officinalis*) que es un arbusto leñoso muy ramificado de la familia de las xerófilas, originario de Europa meridional y del norte de África.

Para su desarrollo requiere de suelos ligeros, es una planta aromática popularmente utilizada, la cosecha de sus hojas y flores se lleva a cabo en primavera y a inicios del verano. Su aceite esencial se obtiene de la destilación al vapor de las flores, contiene derivados terpénicos, alcoholes terpénicos libres, alcanfor, nerol, linalol, α -pineno, β -pineno, borneol, eucaliptol, limoneno, taninos, saponinas, además de ácidos capríco e isobutírico.^{13,14,15,16}

Se puede utilizar en perfumería, aromaterapia para tratar diversas afecciones del Sistema Nervioso Central (SNC) tales como insomnio, ansiedad, epilepsia, y para el tratamiento de quemaduras y enfermedades cutáneas.^{4,17,18,19}

Otros usos que tradicionalmente se le atribuyen a la Lavanda son como relajante, sedante (agua de baño), repelente de mosquitos, para aromatizar el ambiente y la ropa, facilita el sueño, para embalsamar, como analgésico para disminuir dolores reumáticos, tortícolis, disminuir la ansiedad, ayuda al cuidado de la piel, también se preparan tinturas.^{19,20,21}

El presente trabajo tuvo los siguientes objetivos: identificar la *Lavandula officinalis*, obtener el extracto acuoso e identificar algunos de los agentes bioactivos de la lavanda, diseñar un modelo biológico preclínico para probar el posible efecto sedante en un modelo de estrés.

Material y método

Lavandula officinalis (producto natural adquirido en el mercado tradicional de plantas de Cuernavaca), aceite esencial de Lavanda (Sigma-Aldrich), hidróxido de sodio (Baker), hidróxido de potasio (Sigma), fenoltaleína (Sigma), ácido clorhídrico (JT Baker), etanol (Baker), metanol (Sigma), magnesio (Merck), disulfuro de carbono (Sigma), cristalería de laboratorio (Pyrex).

Se compró la *Lavandula officinalis*, que es la especie más abundante comercialmente hablando; se identificó etnobotánicamente por medio de la observación directa de la forma y color del tallo, hojas y flor de la planta¹⁸ en el lugar de la adquisición; se comparó con la información disponible en el Herbario de la UAM-X. Se obtuvo el extracto acuoso correspondiente por medio de la infusión de la planta deshidratada. Se identificó mediante reacciones coloridas correspondientes a la presencia de acetato de linalilo, cumarinas, flavonoides y xantatos.^{14, 18}

Se determina la densidad relativa por medio del método general de análisis referido en la farmacopea de los estados unidos mexicanos.²³

Reacciones coloridas: se determinó la presencia de alcoholes por la precipitación amarilla presentada en el tubo de ensayo.

Para determinar la presencia de acetato de linalilo: Se vertió en un matraz de bola de 250ml, 5ml de la muestra, se le agregaron 5ml de alcohol neutralizado y 0.1ml de solución 0.1N de hidróxido de sodio hasta que se observó una coloración rosa. Posteriormente se le agregó 50ml de solución alcohólica 0.5N de hidróxido de potasio, y se conectó el matraz a un condensador de reflujo calentando durante una hora, después se dejó enfriar la mezcla y se le agregaron 20ml de agua y fenoltaleína. Se valoró el exceso de álcali con solución 0.5N de ácido clorhídrico. Paralelo a este proceso se llevó a cabo la determinación en un blanco, sin agregar la solución 0.1N de hidróxido de sodio.²⁴

Presencia de cumarinas: Se colocaron 0.5 ml de solución etanólica del extracto acuoso de lavanda, en un tubo de ensayo y se añadió 0.5 ml de solución metanólica 2N de clorhidrato de hidroxilamina y 0.5 ml de solución metanólica 2N de hidróxido de potasio. Se mezcló y se calentó con un mechero durante 1min. Enseguida se enfrió y se aciduló con ácido clorhídrico 0.5N y se le añadió 0.5 ml de cloruro férrico. Se observó el vire de color.²⁴

Presencia de flavonoides: Se colocaron 5 ml del extracto acuoso de lavanda en un vaso de precipitados, y se trató con un trozo de magnesio y 0.5 ml de ácido clorhídrico concentrado y se observó inmediatamente el vire de color.²⁴

Presencia xantatos: Se colocaron en un tubo seco, 0.1ml del extracto acuoso de lavanda, 0.3 mL (8 gotas) de disulfuro de carbono y 100 mg de KOH triturado. La mezcla se agitó durante 5 minutos, y se observó el precipitado amarillento.²⁴

Para el desarrollo del modelo biológico se trabajó con varios lotes de ratones macho de la cepa CDI con un peso aproximado de 20 a 25g.

En el modelo de estrés se colocó un par de ratones bajo un embudo de vidrio, en un espacio reducido y sobre una tabla de madera que lleva enrollado un hilo conductor, que se conecta a los electrodos de un estimulador eléctrico y se aplicó el paso de corriente (30 volts) con una frecuencia de 5 estímulos por segundo y una duración de 5 milisegundos. Los ratones desarrollaron un comportamiento agresivo. Se colocaron los ratones dentro de una campana de cristal, dentro de la misma se introduce una torunda de algodón impregnada con el aceite esencial¹⁴, cuidando que los ratones no tengan contacto directo con la misma, durante 5 a 10 minutos. Teniendo una variación en el tiempo de exposición al aceite esencial entre lote y lote de 10, 15, 20 y 25 min.²⁵

Se observa y evalúa el comportamiento conductual de los ratones durante la exposición al estímulo eléctrico, antes de la aplicación del extracto de la lavanda, y después del uso de la lavanda.

Discusión

Se obtuvo el aceite esencial.

Se determinó la densidad relativa del aceite esencial de lavanda, obtenida por destilación y el resultado fue de 0.87659

Se determinó la presencia de algunos de los bioactivos de la *Lavandula officinalis* por medio de reacciones Coloridas:

Determinación de la presencia de acetato de linalilo.

Teniendo en cuenta que cada ml de solución alcohólica de KOH 0.5N consumido en la saponificación equivale a 98.15mg de acetato de Linalilo,¹³ en 5ml del extracto acuoso de *Lavandula officinalis* se obtuvieron 137.6 mg de acetato de Linalilo.

Tabla 1. Determinación del acetato de linalilo

Ácido clorhídrico 0.5N consumido en el blanco (ml)	Ácido clorhídrico 0.5N consumido en la muestra de extracto acuoso de <i>Lavandula officinalis</i> . (ml)
107	104

Resultados de la titulación en la determinación de acetato de linalilo

Estos resultados fueron obtenidos con 5ml de extracto acuoso de *Lavandula officinalis* a una concentración de 133.33 mg/ml de planta seca.

Determinación de la presencia de cumarinas: Al término de la reacción se obtuvo una coloración violácea, y de acuerdo a lo establecido teóricamente este vire de color nos indica la presencia de cumarinas.

Determinación de la presencia de flavonoides: Al término de la reacción se obtuvo una coloración roja, y de acuerdo a lo establecido teóricamente este vire de color nos indica la presencia de flavonoides.

Determinación de la presencia de xantatos: Al término de la reacción se obtuvo un precipitado amarillo que de acuerdo con lo establecido teóricamente este precipitado se debe a la presencia de xantatos.

En el modelo biológico encontramos en la prueba de estrés y exposición a la lavanda que los animales presentaron cambios en su comportamiento.

Tabla 2. Tiempo de exposición a la esencia de lavanda

Lote (N=6)	voltaje	Observaciones	Tiempo de reposo	Observaciones	voltaje	Observaciones
1	30	respiración agitada, agresividad, chillidos, saltos pronunciados	10	respiración normal, somnolencia	30	Somnolencia, tolerancia al voltaje, respiración normal, fácil manipulación
2	30	respiración agitada, agresividad, chillidos, saltos pronunciados, pelaje erizado	15	respiración normal, somnolencia	30	Somnolencia, tolerancia al voltaje, respiración normal, fácil manipulación, se durmieron
3	30	respiración agitada, agresividad, chillidos, saltos pronunciados, pelaje erizado, defecaron	20	respiración normal, somnolencia	30	Somnolencia, tolerancia al voltaje, respiración normal, fácil manipulación, movimientos lentos
4	30	Respiración agitada, agresividad, chillidos, saltos pronunciados, pelaje erizado erección de la cola	25	respiración normal, somnolencia	30	Somnolencia, tolerancia al voltaje, respiración normal, fácil manipulación
control	30	Respiración agitada, agresividad, chillidos, saltos pronunciados, pelaje erizado erección de la cola	25	Tratan de escapar, agresividad, respiración agitada	30	Respiración agitada, agresividad, chillidos, saltos pronunciados, pelaje erizado erección de la cola

Los resultados experimentales en el modelo de estrés mostraron tolerancia al voltaje de prueba, fácil manipulación, respiración normal, lo que nos indica una relajación en su conducta y un efecto de sedación.

La presencia de los bioactivos en el extracto acuoso experimental de la Lavanda se identificó satisfactoriamente por medio de las reacciones coloridas correspondientes descritas en los métodos de investigación fitoquímica y se demostró que la muestra contiene: acetato de linalilo, cumarinas, flavonoides y xantatos,²² los cuales en su conjunto producen una disminución de la actividad excitatoria del Sistema Nervioso Central por medio de los efectos sedantes y contra la ansiedad como describió farmacológicamente Yoshi Umezu.²⁶

Por el interés y crecimiento que se está teniendo en este campo reciente desarrollamos el modelo biológico en la prueba de estrés y la exposición al extracto de lavanda.

La Medicina Complementaria (MC) está siendo utilizada por un creciente número de pacientes en todo el Mundo. El tipo de patologías por las cuales se acude a la MC son muy variadas, pero principalmente se trata de padecimientos crónicos y para mejorar la calidad de vida.²⁷

Considerando los resultados experimentales de la presente investigación se sugiere corroborar electrofisiológicamente el posible efecto biológico del extracto de Lavanda en un modelo en ratas.

Conclusiones

La *Lavandula officinalis* presentó las características teóricas morfológicas correspondientes, que permitieron la satisfactoria identificación, además con la metodología planteada se logró identificar la presencia de los agentes bioactivos: cumarinas, xantatos y linalilo característicos de la planta.²²

Los resultados obtenidos en el modelo biológico de estrés demostraron un efecto potencial de relajación conductual y sedación.

En los aspectos aromaterapéuticos existe evidencia de su efecto sedante, relajante, somnífero que contribuye a disminuir la ansiedad.

Referencias:

1. Sagrera Fernández J. Enciclopedia de Medicina Natural. Editorial del Valle de México S. A. de C.V.; 2000, p.7-10.
2. Islas Pérez V, Sánchez Ruiz J F. Breve historia de la Farmacia en México y en el mundo. AFM.; 1992, p.63-66.

3. Rojas Alba Mario. Tratado de medicina tradicional mexicana. Bases históricas y práctica dinámica terapéutica. 3ra edición electrónica: Cuernavaca, Morelos México, 2009. Acceso 29 de Agosto 2012.
4. Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, México 2001.
5. Luna A. Luis M., Rojas Alba Mario. Tesina del Diplomado de Tlahui-Educa "Medicina Tradicional de México y sus Plantas Medicinales". Tlahui-Medic., 2004, No. 18, II. Acceso 9 de Enero 2013.
6. Atlas de Medicina Naturista y Alternativas. Terapias y consejos para la Salud. Romagosa José, Rosales Santiago. Cultural S.A., 1997.
7. Bown Deni. Enciclopedia de las hierbas y sus usos. Editorial Grijalbo; 1995, p. 148.
8. Hernández Castro J. J., Moreno Benavides C. Medicina del dolor. Universidad del Rosario. Facultad de Medicina; 2005, p.97-111.
9. R. Palencia Luaces. Manifestaciones Neurológicas en la enfermedad Celíaca (Departamento de Pediatría. Neuropediatría. Facultad de Medicina. Hospital Universitario. Valladolid) Boletín de la Sociedad de Pediatría de Asturias,. Cantabria, Castilla y León. 1999; 39(170).
10. Todd Andrew J. Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn. Nature Reviews Neuroscience December. 2010; 11:823-836.
11. Nitzche A, Tokalov S. V, Gutzeit H. O, Ludwig-Müller J. Chemical and Biological characterization of cinnamic acid derivatives from cell cultures of lavender (*Lavandula officinalis*) induced by stress and jasmonic acid. J Agric Food Chem. 2004; 52:2915-2923.
12. Martindale. The complemente drug reference. 36a Edition Pharmaceutical Press; 2009. p.2556.
13. Pérez León D. FITOTERAPIA www.institutobiologico.com/.../Manual%20de%20Fitoterapia.pdf. Acceso 31 de Agosto 2012.
14. Meftahizade, H., Moradkhani, H., Barjin, A.F., Naseri, B. Application of *lavandula officinalis* l. antioxidant of essential oils in shelf life of confectionary. African Journal of Biotechnology, 2011; 10 (2), pp. 196-200. Cited 2 times. <http://www.academicjournals.org/AJB/PDF/pdf2011/10Jan/Meftahizade%20et%20al.pdf>. Acceso 31 de Agosto 2012.
15. Berdonces J. L. Gran Diccionario Ilustrado de las plantas medicinales descripción y aplicaciones. Editorial Oceano; 2009, p.662-663.
16. Takahasi M, Satou T, Ohashi M, Hayashi S, Sadamoto K, Koike K. Interspecies comparison of chemical composition and anxiolytic-like effects of lavender oils upon inhalation. Nat Prod Commun. 2011; 6(11):1769-74.

- 17.Arteche A. Fitoterapia, Vademécum de prescripción. Editorial Masson. Barcelona 1998, p.23-30 y 285-286.
- 18.Alnamer R, Alaoui K, Boudida el H, Benjouad A, Cherrah Y. Sedative and Hypnotic Activities of the Methanolic and Aqueous Extracts of *Lavandulaofficinalis* from Morocco. *AdvPharmacol Sci.* 2012;2012:270824. Epub 2011 Nov 20.
- 19.Hongratanaworakit T. Source Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University, Thailand. Aroma-therapeutic effects of massage blended essential oils on humans. *Nat Prod Commun.* 2011; Aug 6(8):1199-204.
- 20.Avello Lorca Marcia, Fernández Rocca Pola, Faundez Curiente Benjamín, Zagal Montecinos Ana María, Gordon Martí Jenny, Valenzuela Zambrano Bárbara. Fitoaromaterapia como complemento para mejorar la salud laboral. *Rev Cubana Plant Med.* 2011, 16(3): 279-295.
- 21.Grunebaum LD, Murdock J, Castanedo-Tardan MP, Baumann LS. Effects of lavender olfactory input on cosmetic procedures. *J Cosmet Dermatol.* 2011; Jun 10(2): 89-93. doi: 10.1111/j. 1473-2165.2011.00554.x.
- 22.Kim E.K., Ze K.R., Seong R:S., Lee J.P., Park J.Y., Kang I.H., Lee H.Y. Kim J.S., Heo M.H., Chang S.Y. Preparation of official reference standards from herbal medicines. *Planta Med.* traducción: 10.1055/s-2006-950119. 2006; 72:319.
- 23.Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 5ta Edición; 198, p.121.
- 24.Domínguez X. A. Método de investigación fitoquímica. Editorial Limusa; 1980, p.14-52.
- 25.Tsang HW, Ho TY. A systematic review on the anxiolytic effects of aromatherapy on rodents under experimentally induced anxiety models. *Rev Neurosci.* 2010; 21(2):141-152.
- 26.Umezu T., Nagano K., Ito H., Ksakai K., Sakaniwa M., Morita M. Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents. *Pharmaco Biochem Behavior.* 2006; 85(4):713-721.
- 27.Aedo Santos Francisco Javier, Granados Sánchez Juan Carlos. La medicina complementaria en el mundo. *Revista Mexicana de Medicina Física y Rehabilitación.* 2000; 12:91-99.