

“Año del Dialogo y la Reconciliación nacional”

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA



UNAP

FACULTAD DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

TESIS

“DETERMINACIÓN DE LOS CONSTITUYENTES QUÍMICOS DEL
ACEITE ESENCIAL DE *Ocotea aciphylla* Y EVALUACIÓN DE LA
ACTIVIDAD REPELENTE FRENTE A *Aedes aegypti*”

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

BACH. KEWIN RIBETH GUZMAN RAMIREZ

BACH. ENRIQUE LÓPEZ TUESTA

ASESORES:

Ing. GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.

Q.F. FRIGGENS VELA GARCÍA, MSc.

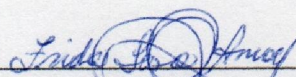
IQUITOS – PERÚ

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

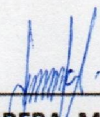
Facultad de Farmacia y Bioquímica

**“DETERMINACIÓN DE LOS CONSTITUYENTES QUÍMICOS DEL
ACEITE ESENCIAL DE *Ocotea aciphylla* Y EVALUACIÓN DE LA
ACTIVIDAD REPELENTE FRENTE A *Aedes aegypti*”**



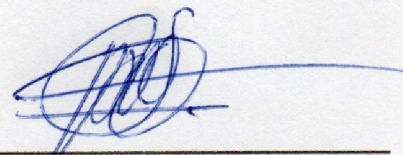
Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.

PRESIDENTE



Ing. CLETO JARA HERRERA, Mgr.

MIEMBRO



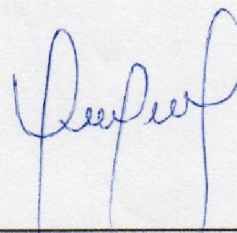
Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG

MIEMBRO



Ing. GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.

ASESORA



Q.F. FRIGGENS VELA GARCÍA, MSc.

ASESOR



UNAP

Facultad de
Farmacia y Bioquímica

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Iquitos, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto, a los ²⁹ días del mes de ^{Diciembre} del dos mil diecisiete, siendo las ^{12:30} Horas, los Miembros del Jurado Calificador de Tesis designado según Resolución Decanal Nº 230-FFyBQ-UNAP-2017, integrados por los señores docentes que a continuación se detalla:

- | | | |
|---|--|-------------------|
| ➤ | Q.F.FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra. | PRESIDENTA |
| ➤ | ING.CLETO JARA HERRERA, Mgr. | MIEMBRO |
| ➤ | Q.F.HENRY VLADIMIR DELGADO WONG | MIEMBRO |



Se constituyeron en el Auditorio del Comedor Universitario-UNAP, para proceder a dar inicio al Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis Titulada : "DETERMINACIÓN DE LOS CONSTITUYENTES QUÍMICOS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ocotea aciphylla* Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD REPELENTE FRENTE A *Aedes aegypti*", presentado por los Bachilleres KEWIN RIBETH GUZMAN RAMIREZ y ENRIQUE LÓPEZ TUESTA, para optar el TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO, que otorga la UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, de acuerdo a la Ley Nº 30220 y el Estatuto General de la UNAP vigente.

Luego de haber escuchado con atención la exposición de los sustentantes, y habiéndose formulado las preguntas respectivas, las cuales fueron respondidas:

Satisfactoriamente

Los miembros del Jurado Calificador llegaron a las siguientes conclusiones:

- 1.- La Tesis ha sido..... *Aprobada por Unanimidad*
- 2.- Observaciones..... *Ninguna*



Siendo las ^{13:40} horas se dio por concluido el Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis, felicitándose a los sustentantes por su *certada exposición*

Frída Sosa Amay
.....
Q.F.FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.
PRESIDENTA

Cleto Jara Herrera
.....
ING.CLETO JARA HERRERA, Mgr
MIEMBRO

Henry Delgado Wong
.....
Q.F.HENRY VLADIMIR DELGADO WONG
MIEMBRO

**“DETERMINACIÓN DE LOS CONSTITUYENTES QUÍMICOS DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Ocotea aciphylla* Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
REPELENTE FRENTE A *Aedes aegypti*”**

Bachilleres: Guzman Ramirez Kewin Ribeth; López Tuesta Enrique

RESUMEN

En el presente estudio, se determinó los constituyentes químicos del aceite esencial de *Ocotea aciphylla* y se evaluó la actividad repelente frente al *Aedes aegypti*. La especie vegetal fue identificada en el Herbarium Amazonense AMAZ-UNAP. El aceite esencial de *Ocotea aciphylla* se obtuvo por arrastre de vapor y la identificación de los constituyentes químicos se realizó por Cromatografía de gases acoplado a Espectrometría de masas. La actividad repelente se determinó por el método de Talukder y Howse. Se prepararon soluciones al 5, 10, 15 y 20 % de aceite esencial con Vaselina líquida. Como control positivo se empleó fórmula comercial que contiene N, N-dietil-3-metilbenzamida (DEET al 15 %) y vaselina líquida como control negativo. Se identificaron 51 constituyentes químicos, de los cuales 28 son sesquiterpenoides (78,17 %) y 15 son monoterpenoide (18,59 %). Los constituyentes en mayor abundancia fueron: δ -cadineno (19,45%); β -selineno (16,29 %); γ -Muuroleno (14,05 %); Benzoato de bencilo (9,93 %); Linalol (6,04 %); Eucaliptol (6,19 %) y 3-careno (4,73 %). Se determinó que el aceite esencial de *Ocotea aciphylla* en una solución al 20 % ostenta un grado de repelencia clase IV, con un 73,3 % de repelencia.

Palabras Claves: Aceite esencial, *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez, *Aedes aegypti*, Talukder y Howse, repelente, DEET.

**DETERMINATION OF THE CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE ESSENTIAL
OIL OF *Ocotea aciphylla* AND EVALUATION OF THE REPELLENT ACTIVITY
AGAINST *Aedes aegypti*"**

Bachelors: Guzman Ramirez Kewin Ribeth; López Tuesta Enrique

SUMMARY

In the present study, the chemical constituents of the essential oil of *Ocotea aciphylla* were determined and the repellent activity against *Aedes aegypti* was evaluated. The plant species was identified in the Herbarium Amazonense AMAZ-UNAP. The essential oil of *Ocotea aciphylla* was obtained by steam trapping and the identification of the chemical constituents was performed by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry. The repellent activity was determined by the method of Talukder and Howse. Solutions were prepared at 5, 10, 15 and 20% of essential oil with liquid Vaseline. As a positive control commercial Formula containing N, N-diethyl-3-methylbenzamide (15% DEET) and liquid vaseline was used as the negative control. We identified 51 chemical constituents, of which 28 are sesquiterpenoids (78.17%) and 15 are monoterpenoid (18.59%). The most abundant constituents were: δ -cadinene (19.45%); β -selinene (16.29%); γ -Muurolene (14.05%); Benzyl benzoate (9.93%); Linalool (6.04%); Eucalyptol (6.19%) and 3-carene (4.73%). The essential oil of *Ocotea aciphylla* in a 20% solution was determined to have a degree of class IV repellency, with a repellency of 73.3%.

Key words: Essential oil, *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez, *Aedes aegypti*, Talukder and Howse, repellent, DEET.

DEDICATORIA

Al Ser supremo, por ser el generador interminable de energía y voluntad para poder salir adelante.

Quiero dedicar este proyecto a mi madre Dolores Tuesta Soria, por su constancia y dedicación, responsabilidad y amor. Gracias madre mía.

A mis hermanos(as), por el apoyo incondicional de cada uno de ellos, a quienes admiro mucho y ser un ejemplo seguir.

A Milagros Raquel Macedo Gutiérrez, por estar ahí siempre, con su apoyo total y fuente de felicidad

A mis amigos de la infancia los cuales me traen hermosos recuerdos e inspiración para salir adelante.

Enrique López Tuesta

Al omnipotente y todo poderoso Dios, a quien debo todo lo que soy, por ser la esencia de mis logros y éxitos venideros.

A mis padres, Giovanna Ramirez y Javier Guzman por el amor desprendido, A quienes debo mi respeto, amor y eterna admiración.

A mi tío Pauner Portal por su inmensurable ayuda en todo los momentos y ejemplo de vida digno de admirar.

A mi prometida Laura Lizeth por darme todo su amor y apoyo incondicional, por ser mi gran incentivadora y brindarme su fiel compañía en todo momento.

A mis amigos Edward, Gregory, Fiorella y Enrique a quienes considero como mis hermanos.

Kewin Ribeth Guzman Ramirez

AGRADECIMIENTOS

A Dios, a quien nunca tendremos palabras para agradecer, pues no existe mayor expresión que pueda ser usada para expresar lo que siente el corazón y el espíritu cuando estos se llenan de alegría.

Un agradecimiento especial a nuestra asesora, Dra. Gladis Cárdenas por la orientación y principalmente por la entera dedicación en las enseñanzas transmitidas, paciencia y buena voluntad para siempre atendernos y quitar nuestras dudas.

A nuestro asesor, Dr. Friggens Vela por su valioso aporte en esta investigación, resaltando además su excelente profesionalismo.

Al Ing. Daniel Carrasco por su valiosa colaboración en la realización de este trabajo de investigación. Agradecemos enormemente su apoyo solidario y desinteresado.

A nuestro honorable jurado de tesis, Ing. Cleto Jara herrera, Dra. Q.F. Frida Sosa Amay y Q.F. Ivonne Navarro, por brindarnos su tiempo, críticas y sabios consejos, que fueron de gran importancia.

Al Ing. Juan Seledonio Ruiz y al Ing. Julio Arce Hidalgo, por los conocimientos compartidos y así mismo rescatar su admirable profesionalismo.

A todas las personas y Amigos que de manera directa o indirecta contribuyeron para la realización de este gran sueño.

Kewin Guzman y Enrique López

ÍNDICE DE CONTENIDO

Resumen

Summary

Dedicatoria

Agradecimientos

Pág.

CAPÍTULO I

1.1.	Introducción.....	2
1.2.	Objetivos.....	5
1.2.1	Objetivo general.....	5
1.2.2	Objetivos específicos.....	5

CAPITULO II

2.	Marco Teórico.....	7
2.1	Antecedentes.....	7
2.2	Marco Conceptual.....	9
2.2.1	Generalidades de la Familia Lauraceae.....	9
2.2.2	Generalidades del Género Ocotea.....	10
2.2.3	Usos y Constituyentes Químicos.....	10
2.3	Datos Generales de la Especie Vegetal en Estudio.....	12
2.3.1.	Clasificación Taxonómica.....	12
2.3.2.	Descripción Botánica.....	12
2.3.3.	Distribución y Ecología.....	13

2.3.4. Usos y Propiedades de la planta.....	13
2.4. Generalidades de los Aceites Esenciales.....	13
2.4.1. Aceite Esencial.....	13
2.4.2. Función de los Aceites Esenciales.....	13
2.4.3. Localización de los Aceites Esenciales en la Planta.....	14
2.4.4. Propiedades de los Aceites Esenciales.....	14
2.4.4.1 Propiedades Físicas.....	14
2.4.4.2 Propiedades Química.....	14
2.4.5. Clasificación de los Aceites Esenciales.....	15
2.4.6. Aplicaciones de los Aceites Esenciales.....	15
2.4.6.1. En la industria Perfumista.....	16
2.4.6.2. En la industria farmacológica.....	16
2.4.6.3. En la industria cosmetológica.....	17
2.4.6.4. Como aromatizante, saborizante en alimentos y licores.....	17
2.4.7. Biogénesis de los Aceites Esenciales.....	17
2.4.7.1. Biogénesis de los Constituyentes Monoterpenoides.....	17
2.4.7.2 Biogénesis de los Compuestos Sesquiterpenoides.....	18
2.4.7.3 Biogénesis de los Constituyentes de Naturaleza Fenólica.....	18
2.4.8. Clasificación de los Compuestos Terpenoides de los Aceites Esenciales.....	19
2.4.8.1. Monoterpenos.....	19
2.4.8.2. Sesquiterpenoides.....	19

2.4.8.3. Aceites Esenciales de Naturaleza Fenólica.....	20
2.4.9. Propiedades Farmacológicas de los Aceites Esenciales.....	20
2.4.10. Métodos de Obtención de los Aceites Esenciales.....	21
2.4.10.1. Destilación por Arrastre de Vapor de Agua.....	21
2.4.10.2. Por Expresión o Estrujado del Pericarpio.....	22
2.4.10.3. Obtención del Aceite Esencial mediante Fermentación de la parte Vegetal seguido por Destilación.....	22
2.4.10.4. Con solventes.....	23
2.4.10.5. Obtención con Gases Licuados o Métodos de Fluidos Supercríticos.....	23
2.4.10.6. Obtención Usando aceites y Grasas.....	23
2.4.10.7. Método Clevenger.....	24
2.4.11. Métodos de Identificación de los Constituyentes Presentes en los Aceites Esenciales.....	24
2.4.11.1. Por Cromatografía de Capa Fina.....	24
2.4.11.2. Por Cromatografía de Gases de Alta Resolución Acoplado con Espectrómetro de Masas (HRGC-MS).....	25
2.5. Generalidades de los Repelentes.....	26
2.5.1. Repelentes.....	26
2.5.2. Repelentes Botánicos.....	27
2.5.3. Repelentes Sintéticos.....	28

2.5.4. Prueba de Repelencia.....	28
2.6. Generalidades Sobre Dengue y su Vector.....	28
2.6.1. La Enfermedad del Dengue.....	28
2.6.2. Distribución Geográfica y Clasificación Sistemática.....	30
2.6.3. Ciclo de Vida.....	30
2.7. Hipótesis.....	32
2.8. Variables.....	32
2.8.1. Variables Independientes.....	32
2.8.2. Variables Dependientes.....	32
2.9. Operacionalización de variables.....	33

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN.....	36
3.1. Tipo de estudio.....	36
3.2. Diseño de investigación.....	36
3.3. Población y muestra.....	37
3.3.1. Población Vegetal.....	37
3.3.2. Muestra Vegetal.....	37
3.6. Población Entomológica.....	38
3.7. Muestra Entomológica.....	38
3.8. Materiales e Instrumentos.....	38
3.8.1. Materiales de Laboratorio.....	38
3.8.2. Materiales Químicos.....	39

3.8.3. Materiales Biológicos.....	39
3.8.4. Equipos.....	39
3.9. Procedimientos de Recolección de Datos.....	39
3.9.1. Identificación de la muestra vegetal.....	39
3.9.2. Recolección de la Muestra Vegetal.....	40
3.9.3. Obtención de Aceites Esenciales.....	40
3.9.4. Análisis de Cromatografía de Gases- Espectrometría de Masas.....	40
3.9.5. Bioensayo de la Actividad Repelente.....	41

CAPÍTULO IV

4.RESULTADOS.....	44
4.1. Resultados del aceite esencial.....	44
4.2. Constituyentes del Aceite Esencial.....	44
4.2.1. Interpretación del Análisis Cromatógrafo.....	47
4.3. Resultados de la Actividad Repelente.....	48
4.3.1. Interpretación de la Actividad Repelente.....	50
4.4. Discusión de los resultados.....	51
4.5. Conclusiones.....	53
4.6. Recomendaciones.....	54
4.7. Referencias bibliográficas.....	55
Anexos.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Usos y constituyentes químicos de especies del Género <i>Ocotea</i>	11
Tabla 2: Valoración de grado de repelencia.....	41
Tabla 3: Lista de Constituyentes Químicos.....	44
Tabla 4: Resultados de la Actividad Repelente.....	48
Tabla 5: Porcentaje y Grado de Repelencia.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Distribución mundial de la Familia Lauraceae.....	9
Figura 2: <i>Ocotea aciphylla</i> ; flores, corteza y hojas.....	12
Figura 3: Síntesis del Ácido Mevalónico.....	17
Figura 4: Biosíntesis de Sesquiterpenos.....	18
Figura 5: Componentes de Naturaleza Fenólica.....	20
Figura 6: Equipo de destilación por arrastre de vapor.....	21
Figura 7: Destilación Clevenger.....	24
Figura 8: <i>Aedes aegypti</i>	29
Figura 9: <i>Aedes aegypti</i> en sus diferentes etapas de vida.....	31
Figura 10: Flujograma de bloque de Procesos.....	42
Figura 11. Cromatograma GC-MS del aceite esencial CM-UNAP.....	46

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1: Constancia de Identificación Taxonómica de herbarium.....	61
Anexo 2: Informe de resultados de Análisis Cromatógrafo.....	62

FOTOGRAFIAS

Foto 1: Soluciones de Aceite esencial en Distintas concentraciones.....	63
Foto 2: Test de Repelencia al 20% de Concentración.....	63
Foto 3: Test de Repelencia al 5% de Concentración.....	64
Foto 4: Destilación del Aceite esencial en el laboratorio.....	64
Foto 5: Captura de zancudos <i>Aedes aegypti</i>	65
Foto 6: Serrín de Corteza de <i>Ocotea aciphylla</i>	65
Foto 7: Filtrado de Aceite Esencial.....	66
Foto 8: Extracción de Aceite esencial en el campo.....	66

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

Los mosquitos constituyen un grupo de estudio de gran importancia, debido a que muchas de sus especies, además de causar diversas molestias, son vectores de enfermedades de alta mortalidad como la malaria por el *Anopheles* o el dengue por el *Aedes aegypti*. Las estadísticas epidemiológicas indican que los mosquitos actúan como vectores que causan infecciones a más de 700 millones de personas por año ⁽¹⁾⁽²⁾.

Las enfermedades transmitidas por mosquitos representan un enorme problema en climas tropicales y sub tropicales, en ninguna parte del mundo está inmune a este riesgo, convirtiéndose en un tema relevante en salud pública, ya que por el momento no se dispone de una vacuna efectiva y solo puede ser prevenida evitando la picadura del mosquito ⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾.

El mosquito *Aedes aegypti* es vector de 4 dolencias importantes: Fiebre amarilla urbana, dengue, chikungunya y Zika, de ellas, en América, el dengue constituye uno de los principales problemas de salud pública, ya que esta dolencia continúa en aumento y apareciendo en nuevas áreas geográficas ⁽⁵⁾⁽⁶⁾. Una nueva invasión de *Aedes aegypti* en gran parte de la América Tropical ha traído como consecuencia la aparición del dengue, cuya proliferación ha sido favorecida por otras causas como: La falta de medidas ordinarias eficaces para combatir los mosquitos, crecimiento urbano desordenado, migraciones constantes de las zonas rurales a la ciudad, el cambio climático y el calentamiento global, el incremento de los viajes aéreos y marítimos ⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾.

El principal objetivo que busca la salud pública es controlar al vector *Aedes aegypti*; por tanto, la mejor forma de lograr reducir su incidencia es eliminando y evitando el contacto con este vector. Una de las alternativas para combatir el vector es el uso de repelentes ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾.

Los repelentes funcionan evitando que los humanos no sean atractivos a los mosquitos, obstruyendo los receptores olfatorios (OR) de atracción del insecto por lo cual los mosquitos no se acercan a las áreas del cuerpo cubiertas por repelente. En la actualidad el DEET (N, N-dietil-3-metilbenzamida) es el ingrediente activo más común en los repelentes sintéticos, presenta excelente repelencia contra varios artrópodos, sin embargo en algunos casos el DEET presenta alto grado de absorción cutánea, causado dermatitis por contacto y exacerbación de enfermedades cutáneas preexistentes, además

las reacciones de toxicidad dérmica en humanos después de las aplicaciones varían desde leves a severos ⁽¹²⁾.

Estos antecedentes han estimulado la búsqueda de nuevas alternativas, dirigiéndose la atención a componentes procedentes de plantas, idea que se refuerza con los antecedentes etnofarmacológicos que se tiene para ciertas especies.

Las plantas debido a su historia coevolucionaria con plagas, son un valioso arsenal de sustancias naturales producidos para la defensa contra esos organismos. Muchas plantas son ricas en metabolitos secundarios con actividades insecticidas y repelentes, constituyendo una fuente alternativa para las síntesis de un gran número de fitofármacos, con mayor enfoque sobre extractos de plantas o sustancias fitoquímicas como agentes potenciales en el control de mosquitos. En este contexto, los aceites esenciales (AE) han recibido mucha atención como compuestos volátiles bioactivos algunos de ellos con funciones repulsivas de efecto instantáneo sobre insectos voladores y no tóxicos para los mamíferos ⁽¹³⁾.

Los aceites esenciales son una compleja mezcla natural de metabolitos secundarios volátiles, aislados de plantas mediante métodos como: destilación, extracción con solventes, etc. Los principales constituyentes de los aceites esenciales son mono y sesquiterpenos, incluyendo carbohidratos, éteres, aldehídos y cetonas, los que son responsables de la fragancia y propiedades biológicas de las plantas medicinales. Los aceites esenciales cubren un amplio espectro de actividades farmacológicas, demostrando propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas. Otras cumplen actividad biocida contra una variedad de organismos como bacterias, hongos, virus, protozoos, insectos y plantas. Durante mucho tiempo han sido utilizados en el campo de la cosmética, en la elaboración de perfumes, la conservación de alimentos y aromaterapia ⁽¹⁴⁾.

El Perú siendo un país mego diverso por su amplia gama de ecosistemas, en donde se concentra una exorbitante variedad en especies vegetales, la convierte en una fuente de investigación de interés permanente, especialmente para el desarrollo de nuevas materias primas en el sector farmacéutico.

Ocotea aciphylla (Nees) Mez; planta nativa de la región amazónica, es conocida en nuestro medio por su utilidad en medicina tradicional por poseer propiedades

identificadas en cuanto a su madera se refiere, cuando está seca y se quema emana un humo oloroso que repele mosquitos ⁽¹⁵⁾.

La especie *Ocotea aciphylla* solo ha sido objeto de estudios etnobotánicos debiéndose efectuarse estudios químicos más específicos para dicha especie, así en la literatura se encuentran identificados sus usos medicinales y como recursos maderables para construcción de viviendas y embarcaciones acuáticas. De otras especies de *Ocotea spp.* Se ha estudiado sus aceites esenciales y se encontraron los componentes responsables del aroma, cabe mencionar que una de esas especies muy estudiadas es *Ocotea quixos* ⁽¹⁶⁾.

A partir de estas investigaciones y con los antecedentes de su uso en forma empírica, se infiere que los componentes presentes en el aceite esencial de Canela Moena pueden producir actividad repelente. Del mismo modo, se espera contribuir al estudio químico y farmacológico de la flora aromática de la Amazonia Peruana, que íntegramente se llevara a cabo en los laboratorios de la facultad de farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonia peruana.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

- ✓ Determinar los constituyentes químicos del aceite esencial de *Ocotea aciphylla* y Evaluar la actividad repelente frente al *Aedes aegypti*.

1.2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Extraer el aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla* (Canela moena).
- ✓ Identificar los constituyentes químicos del aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla* (Canela moena), mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. (HRGC- MS).
- ✓ Evaluar la actividad repelente del aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla* (Canela moena) frente al *Aedes aegypti* adulto

CAPÍTULO II

2. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES

Calvenzi L, Yaguache B, Cabrera P, Guerrini A. (2016). Evaluaron la actividad antifúngica del aceite esencial de *Ocotea quixos* empleando el método de difusión en agar sobre los hongos fitopatógenos *Aspergillus orizae*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium solani*, *Rhizopus stolonifer*; *Moniliophthora roreri* y *Phytophthora sp.* El aceite esencial de *Ocotea quixos* usado en su máxima concentración (500 uL.mL^{-1}) inhibió el crecimiento de todas las cepas alcanzando el 94 % de inhibición promedio y registro un comportamiento similar al aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) el cual fue utilizado como patrón de comparación⁽¹⁷⁾.

Oliveira J, et al. (2014). En su trabajo concluyeron que La Burchellina aislada del tronco de *Ocotea cymbarum* presenta actividad ovicida y larvicida contra los huevos y larvas de *Aedes aegypti*⁽¹⁸⁾.

Noriega P, Dacarro C. (2013). Extrajeron el aceite foliar de *Ocotea quixos* (Lam) kosterm y probaron su actividad antimicrobiana y antifúngica. Los principales componentes identificados en el aceite esencial de las hojas de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. son: Cariofileno 19,029%, Humuleno 14,323% y Eremofileno 11,407%, aclarándose que éstos sobresalen de un total de 62 compuestos⁽¹⁹⁾.

Prieto J, Pabón L, Patino O, Delgado W, Cuca L. (2010). Determinaron la composición química de los aceites esenciales de hojas de *Ocotea longifolia* y *O. macrophylla* obtenidos mediante destilación por arrastre con vapor, y evaluaron la actividad antifúngica e insecticida de los aceites esenciales para estimar su uso como posibles plaguicidas. El rendimiento del aceite esencial de *O. longifolia* fue superior al 0,2%, mientras que el rendimiento del aceite esencial de *O. macrophylla* fue inferior al 0,1%. El análisis de los aceites por CG/EM permitió la identificación de α -terpinoleno (80,91%) y α -felandreno (4,74%) como componentes principales del aceite *O. longifolia*, y espatulenol (15,91%), γ -muuroleno (15,4%) y bicilogermacreno (14,58%) como los principales componentes de *O. macrophylla*. El aceite esencial de *O. longifolia* mostró actividad fumigante significativa contra *Sitophilus zeamais*⁽²²⁾.

Garcez W, Garcez F, da Silva L, Hamerski L. (2009). Determinaron que el compuesto (+)-dicentrina de la especie vegetal *Ocotea velloziana* (corteza) presenta actividad larvicida frente a larvas de *Aedes aegypti*.⁽⁴⁾ Un total de 42 extractos etanólicos de 30 especies diferentes de plantas nativas, del Pantanal y el Cerrado de la región Centro-Oeste de Brasil, han sido evaluadas por su actividad larvicida contra las larvas de *Aedes aegypti*, vector del dengue y dengue hemorrágico. Entre los extractos probados, que obtienen de la corteza de *Ocotea velloziana* fue el más activo. El uso de un fraccionamiento bioensayo dirigida de este extracto, el constituyente activo fue aislado y caracterizado como el alcaloide aporfina (+) - dicentrina. Su estructura se determinó sobre la base de (1) H y (13) los espectros de RMN de C, rotación óptica y por comparación con una muestra auténtica. Este es el primer informe sobre la actividad larvicida contra el *A. aegypti* de este alcaloide. Los resultados sugieren que (+) – dicentrina puede considerarse como un agente larvicida natural de mosquitos prometedora⁽²⁴⁾.

Ortiz F, Silva Y, Galeano P, González. (2005). Estudiaron la composición química de los aceites esenciales de hojas y tallos de *Ocotea quixos*, por hidrodestilación mediante un montaje Cleavenger y analizados por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM). En el aceite esencial de hojas predominó *trans*-metil-isoeugenol (21,73%), acetato de *trans*-cinamilo (12,2%), α -Humuleno (11,3%), mientras que en el de tallos prevaleció *trans*-cinamaldehído (36,7%) y *trans*-cinamato de metilo (43,8%)⁽²⁶⁾.

Chaverri C, Ciccio F. (2005). En su trabajo de investigación estudiaron la composición química de los aceites esenciales de hojas y madera de *Ocotea brenesii* Standl. que crece de forma silvestre en Costa Rica, lograron determinar por GC- SM la composición química del aceite esencial; De las hojas, se identificaron 4 compuestos, que corresponde a 85,9% del aceite, y de la madera se identificaron 57 compuestos que corresponde a 69,0% del aceite. Los principales constituyentes identificados en el aceite esencial de las hojas fueron: copaeno (21,1%), -cadineno (9,2%), spathulenol (7,3%), globulol (5,6%) y -caryophylleno (5,2%).

Los constituyentes principales del aceite de madera eran: copaeno (6,6%), óxido de cariofileno (6,3%), -caryophylleno (6,1%) y el epóxido de humuleno (4,6%)⁽²⁷⁾.

2.2 MARCO CONCEPTUAL

2.2.1 Generalidades de la Familia Lauraceae

La familia Lauraceae forma una gran familia de plantas leñosas, con cerca de 50 géneros y 2500 a 3000 especies distribuidos ampliamente en latitudes tropicales y subtropicales. ⁽²⁸⁾ Las especies de la familia tienen una alta importancia a nivel económico, ya que a esta pertenecen especies como la *Persea americana* (aguacate), *Laurus nobilis* (laurel) y *Cinnamomum zeylanicum* (Canela de Ceilán) importantes en la industria alimenticia y así mismo tiene especies como la *Aniba rosaedora* (palo de rosa) utilizado ampliamente en perfumería y aromaterapia.

En la **Figura 1** se muestra la distribución de la familia Lauraceae a nivel mundial. Las especies de esta familia se distribuyen ampliamente en Centro y Sur América, y Oceanía. En Sur América en la región norte, existen un gran número de estas especies en países como Colombia, Brasil, Venezuela, Ecuador y Perú.



Figura 1. Distribución mundial de la familia Lauraceae ⁽²⁹⁾.

2.2.2 Generalidades del Género *Ocotea*

Este género pertenece a la familia Lauraceae, el cual se caracteriza por sus especies de naturaleza arbórea o arbustiva, con cortezas casi siempre aromáticas, de olores agradables y penetrantes, y algunos desagradables; son arboles utilizado como maderas de excepcional duración.

El género *Ocotea* fue identificado por Fusée Aublet en 1775 y fue descrito con la especie *Ocotea guianensis*. Hasta 1962 las especies de este género sumaban 697 entre los cuales podemos mencionar las siguientes: *O. cymbarum*, *O. reflexa*, *O. zulianensis*, *O. auriculata*, *O. fasciculata*, *O. macropoda*, *O. tubulosa*, *O. acutangula*, *O. caparrapi*, *O. cuprea*, *O. aciphylla*, *O. catharinensis*, *O. porosa*, *O. minarum*, *O. puberula*, *O. leucoxylon*, *O. glaziovii*, *O. variabilis*, *O. macrophylla*, *O. cantareirae*, *Obrachybotra*, *O. kulmanii*, *O. venenosa*, *O. rodiaei*, *O. veraguensis*, *O. usambarensis*, *O. pretiosa*, *O. teleiandra* y *O. quixos* ⁽³⁰⁾.

2.2.3 Usos y Constituyentes Químicos

Numerosas especies del genero *Ocotea* le han servido al hombre, sobretodo, en el campo de la medicina popular; una revisión hecha al respecto, revela que para 26 especies de este género los usos han sido muy variados; sus extractos se han utilizado como astringentes, antirreumáticos, ansiolíticos, carminativos, diuréticos, aromáticos o como antidiarreico.

Los compuestos químicos responsables de tales actividades pertenecen a diferentes grupos, pero sobresalen por su número los aceites esenciales y los alcaloides.

En la **tabla 1** se describen los usos y los fitoconstituyentes caracterizados de algunas especies del genero *Ocotea* ⁽³⁰⁾.

Tabla 1. Usos y constituyentes químicos de algunas especies del Género *Ocotea* ⁽³⁰⁾.

NOMBRE CIENTÍFICOS DE LA ESPECIE	USOS EN MEDICINA POPULAR	CONSTITUYENTES QUIMICOS
<i>O. caparrapi</i>	El “aceite de caparrapi” es usado en afecciones gono y leucorreicas, úlceras y afecciones de la piel	O-metileugenol, Miristicina Eugenol, Safrol y Alcoholes sesquiterpenicos
<i>O. teleiandra</i>	Antirreumático, carminativo	Benzoato de Bencilo Salicilato de Bencilo
<i>O. globosa</i>	Afrodisiaco, tónico y carminativo	Arilpropanos, Terpenos, Acidos grasos
<i>O. guyanensis</i> Aublet.	Afrodisiaco, antirreumático	Arilpropanos, Terpenos, Acidos grasos
<i>O. pretiosa</i> (Nees) Mez	Diurético, aceite esencial	1-nitro-2-feniletano, Safrol Alcanfor
<i>O. puberula</i>	Carminativo y aromático	Alcaloides aporfínicos como: Thalicminina, Ocoteína
<i>O. venenosa</i>	Utilizados en flechas venenosas y contra afecciones de la piel	Rodiasina Dimetilrodiasina
<i>O. quixos</i>	Usado como antiséptico	Cinamaldehido
<i>O. glaziovii</i> Mez	Ansiolítico, sin efectos depresores, anticonvulsivantes ni curarizantes	Alcaloides aporfínicos y proaporfínicos como: Glaziovina
<i>O. cymbarum</i>	Contra reumatismos y picaduras venenosas	α -Pino, α -Felandreno, eugenol , Dehidroeugenol, O-metil dehidroeugenol, Dehidroeugenol- B.

2.3. DATOS GENERALES DE LA ESPECIE VEGETAL EN ESTUDIO

2.3.1. Clasificación Taxonómica

Reino	: Plantae
División	: Tracheophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Laurales
Familia	: Lauraceae
Género	: <i>Ocotea</i>
Especie	: <i>Ocotea aciphylla</i> (Nees) Mez



Figura 2. *Ocotea aciphylla*. A) Flores. B) Corteza. C) Hojas. ⁽³¹⁾

2.3.2. Descripción Botánica

Sinónimos: “muena amarilla”, “canela muena”, “alcanfor muena”

Ocotea aciphylla (Nees) Mez pertenece a la familia Lauraceae cuya característica es un árbol de hasta 28 metros de altura, posee nodos unicelulares con células esféricas diseminadas conteniendo aceites esenciales (terpenoidales), donde además están presentes taninos, bencilisoquinoleínas y alcaloides aporfínicos ⁽³¹⁾.

Hojas alternas y en espiral ocasionalmente opuestas, con venación pinnada lanceoladas ricas en aceites esenciales.

Las flores son bisexuales o unisexuales dioicas, radial con distintos receptáculos cóncavos usualmente pequeños, verde pálido, blanco o amarillo, usualmente posee 6 pétalos, estambres con 3 - 12 filamentos enteros abriéndose en 2 - 4 aletas, los granos de polen no se abren, el ovario es súpero con placentación apical. El androceo puede tener hasta 4 verticilos pero a veces reducido hasta estaminodios. El fruto es una drupa ⁽³¹⁾.

2.3.3. Distribución y Ecología

Ampliamente distribuido en regiones tropicales y subtropicales del sureste asiático, norte y Sudamérica. *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez se encuentran en Sudamérica: Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana Francesa y Perú. Su distribución en trópicos húmedos es característico. Hay especies de *Ocotea* como: *Ocotea fragans* que se conocen en Brasil mas no en la Amazonía Peruana.

En la Amazonía Peruana la especie *Ocotea aciphylla* existen en las regiones de Loreto y Ucayali, asimismo en las zonas de selva alta de San Martín ⁽³²⁾.

2.3.4. Usos y Propiedades de la planta

Se le atribuyen propiedades medicinales como: Carminativo, antipirético, fungicida, bactericida, estimulante, tratamiento de dermatosis, repelente.

Utilizada para curar diversas infecciones, gripe, dolor de cabeza, sinusitis, cansancio. También como Antidiarreico por su contenido de taninos ⁽³³⁾.

2.4. GENERALIDADES DE LOS ACEITES ESENCIALES

2.4.1. Aceite Esencial.

Los aceites esenciales (esencias o aceites volátiles) son productos de composición generalmente muy compleja que contienen principios volátiles que se encuentran en los vegetales, más o menos modificados durante su preparación.

Se les llama aceites por su apariencia física y consistencia que es bastante parecida a los aceites grasos, pero se distinguen de ellos porque al dejar caer unas gotas de esencia sobre el papel, éstas se volatilizan fácilmente sin dejar ninguna huella ni mancha grasosa ⁽³⁴⁾.

2.4.2. Función de los Aceites Esenciales

En general, la función biológica de los aceites esenciales sigue siendo poco clara. Es probable que tengan un papel ecológico; como apoyo a ésta hipótesis se ha establecido experimentalmente el papel de alguno de ellos como inhibidores de la germinación, protección contra los depredadores y atracción de polinizadores ⁽³⁵⁾.

2.4.3. Localización de los Aceites Esenciales en la Planta

Los aceites esenciales se pueden encontrar localizados en diferentes partes de la planta, por ejemplo: en las hojas (albahaca, menta, romero, etc.), en las raíces (valeriana, cálamo, etc.), en la corteza (canela, sándalo, etc.), en las flores (jazmín, rosa, etc.), en la cáscara del fruto (limón, mandarina, naranja, etc.), en los frutos (anís, cardamomo, hinojo, etc.)⁽³⁵⁾.

2.4.4. Propiedades de los Aceites Esenciales.

2.4.4.1 Propiedades Físicas

Son líquidos volátiles a temperatura ambiental, poseen olor intenso y característico según los componentes terpenoides y/o fenólicos que lo constituyen. Tienen una densidad inferior a la del agua, que oscila entre 0,7 a 0,8, a excepción de los aceites esenciales de naturaleza fenólica como la esencia de safrán (Safrol) y de clavo (Eugenol). Todos poseen poder rotatorio e índice de refracción elevado; la mayoría de ellos son ópticamente activos, son solubles en alcohol de alta graduación y en disolventes orgánicos; son muy pocos solubles en agua⁽³⁶⁾.

Son arrastrados por el vapor de agua en sistemas de destilación. La mayoría de los aceites esenciales son hidrocarburos de naturaleza terpenoide: mono y sesquiterpenoides de cadena abierta, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos, tetracíclicos; pero también existen en forma de alcoholes, aldehídos y fenoles. Cuando se oxidan cambian de olor y suelen ser desagradables⁽³⁷⁾.

2.4.4.2 Propiedades Química

Actualmente se han identificado alrededor de cuatrocientos constituyentes químicos de los aceites esenciales. La mezcla compleja que integra los aceites esenciales pertenecen de manera casi exclusiva a grupos característicos distintos: el grupo de los terpenos, el grupo de los compuestos derivados del fenilpropano, los terpenos originarios del ácido acético, los terpenos provenientes del ácido shiquímico (aromáticos) y otros como los compuestos procedentes de la degradación de terpenos⁽³⁸⁾.

Los monoterpenos y sesquiterpenos son terpenos de 10 y 15 átomos de carbonos. De acuerdo con su estructura se les clasifica según el número de ciclos como acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, etc. Algunos ejemplos de monoterpenos y sesquiterpenos, son:

- Monoterpenos acíclicos: linalol, nerol, geraniol.
- Monoterpenos monocíclicos: *p*-mentano, 1,4- cineol, 1,8-cineol, ascaridol.
- Monoterpenoides bicíclicos: carano, *cis*-carano y *trans*-carano.
- Sesquiterpenos: Farnesol, nerolidol.

2.4.5. Clasificación de los Aceites Esenciales

Los aceites esenciales se clasifican en base a diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza de los compuestos mayoritarios ⁽³⁹⁾.

Según la consistencia, se dividen en:

- Esencias fluidas: líquidos muy volátiles a temperatura ambiente.
- Bálsamos: líquidos de consistencia espesa, poco volátiles y propensos a polimerizarse.
- Oleorresinas: líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas.

Según su origen, pueden ser:

- Naturales: Se obtienen directamente de la planta y no se somete a ninguna modificación posterior.
- Artificiales: Se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de las esencias con uno de sus constituyentes.
- Sintéticas: Mezcla de compuestos obtenidos sintéticamente.

Según la naturaleza de los compuestos mayoritarios, pueden ser:

- Monoterpenoides.
- Sesquiterpenoides
- Compuestos oxigenados.

2.4.6. Aplicaciones de los Aceites Esenciales

De los más de tres mil aceites esenciales analizados, se ha encontrado que más de doscientos tienen un alto valor comercial y se utilizan ampliamente en diferentes ramas

de la industria: alimentos, jabones, ambientadores, perfumes, cosméticos, licores, insecticidas, fármacos, etc.

Son empleados como aromatizantes y/o saborizantes, como ingredientes de algunos preparados farmacéuticos o son base de perfumes y productos cosméticos finos, desodorantes, lociones, jabones líquidos, pastas dentífricas. Algunos de los aceites esenciales poseen propiedades insecticidas y funguicidas ⁽⁴⁰⁾ ⁽⁴¹⁾.

2.4.6.1. En la industria Perfumista.

La industria de perfumes requiere aceites esenciales ya sea como concreta, es decir la extracción de la esencia en solventes orgánicos, o ya sea como esencia absoluta cuando se refiere a la extracción que se hace de los olores de la concreta con alcohol a baja temperatura o con otros métodos.

El mejor aceite esencial es aquel que contiene los cinco terpenos claves:

- Geraniol – nerol da un olor a rosa.
- Linalol da un olor floral y a madera.
- Citronelol da un olor a rosa.
- Citronelal da un olor a lirio.
- Citral da un olor a naranja

Por esta misma razón, geraniol – nerol y sus ésteres se utilizan aproximadamente 6,000 TM/año, Linalol aproximadamente 4,000 TM/año; Citronelol y ésteres 6,000 TM/año; Citronelal 1,000 TM/año.

Los terpenos, además de constituirse en el grupo más grande de olores naturales, también constituyen el grupo más grande en cuanto a constituir los ingredientes obligados de las fragancias modernas ⁽⁴⁰⁾ ⁽⁴¹⁾.

2.4.6.2. En la industria farmacológica

Los constituyentes de los aceites esenciales se utilizan en la industria farmacológica en función de su poder antiséptico, carminativo, estimulante, correctivo del sabor, aromatizante; como anestésico suave (caso de eugenol) y como antihelmíntico (caso de santonina).

2.4.6.3. En la industria cosmetológica

En la industria cosmetológica, los aceites esenciales se utilizan en cremas, lápices labiales, tintes, champús, jabones, polvos, humectantes, lociones. Se usa el aceite esencial para aromatizarlos y darles un atractivo que es aprovechado por el sentido del olfato, del gusto y del tacto; por ejemplo, la sensación refrescante que se siente cuando se usan cremas a base de mentol.

2.4.6.4. Como aromatizante, saborizante en alimentos y licores.

Especies y aromas se utilizan para hacer agradable los alimentos y aromatizarlos:

- El anetol del anís se usa como aromatizante y corrector del sabor.
- El acetato de linalilo y linalol, el benzaldehído de las almendras amargas, cineol y pineno se usan como correctivos del sabor y aromatizantes.
- El antranilato de metilo, linalol y limoneno de naranja se usan como correctivos del sabor ⁽⁴²⁾.

2.4.7. Biogénesis de los Aceites Esenciales.

2.4.7.1. Biogénesis de los Constituyentes Monoterpenoides

Éstos se forman siguiendo la ruta del ácido mevalónico que es el precursor en la formación de los monoterpenos ⁽⁴¹⁾ ⁽⁴³⁾. El ácido mevalónico se forma a partir de acetil coenzima A (Acetil-CoA), según el esquema siguiente:

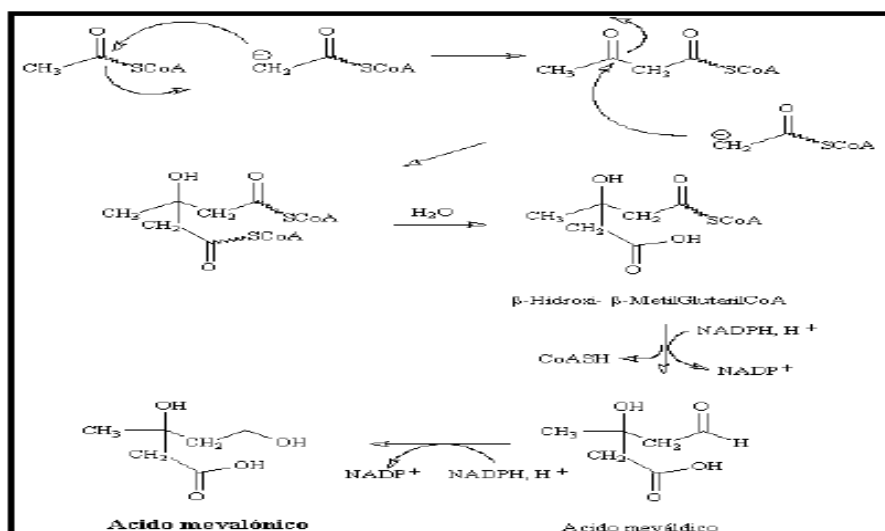


Figura 3. Síntesis del ácido mevalónico.

2.4.7.2. Biogénesis de los Compuestos Sesquiterpenoides.

Los sesquiterpenoides son estructuras C15 que parten del geranilpirofosfato (C10) que reacciona con el pirofosfato de isopentenilo (C5) para formar el pirofosfato de farnesilo (C15), dando origen a los sesquiterpenos: acíclicos, monocíclicos y bicíclicos ⁽⁴³⁾.

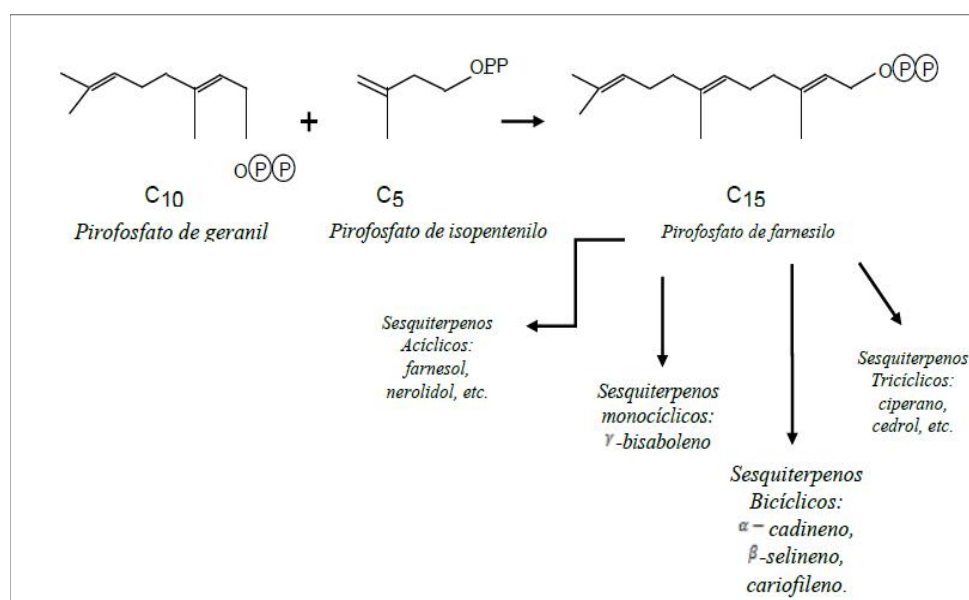


Figura 4. Biosíntesis de Sesquiterpenos.

2.4.7.3 Biogénesis de los Constituyentes de Naturaleza Fenólica

Los fenilpropanos presentes en los aceites esenciales se originan biosintéticamente a partir del ácido shikímico. El ácido shikímico se aisló inicialmente de la planta asiática *Illicium* sp. (Fam. Illiciaceae) y es reconocido como un compuesto que es el punto de partida para un vasto número de compuestos naturales de muchas clases. Aunque es un discreto constituyente vegetal, es un metabolito universal de las plantas superiores. El ácido shikímico es el precursor de los constituyentes vegetales que contienen anillos aromáticos diferentes a los formados por la ruta de la malonilcoenzima-A.

Hay en muchos casos dos patrones estructurales claros que permiten reconocer los compuestos aromáticos derivados biosintéticamente desde el ácido shikímico, y son: el patrón de oxigenación, y la presencia de anillos aromáticos ligados a cadenas de tres átomos de carbono (patrón C6-C3).

Mientras que en los metabolitos aromáticos originados por la vía de la malonilcoenzima-A, los grupos oxigenados se hallan en disposición *meta* entre sí; en el caso de los originados a partir del ácido shikímico, los grupos oxigenados están en disposición *orto* o *diorto* entre sí ⁽⁴³⁾.

2.4.8. Clasificación de los Compuestos Terpenoides de los Aceites Esenciales.

Los compuestos terpenoides que se encuentran presentes en los aceites esenciales son: Monoterpenos y sesquiterpenos.

2.4.8.1. Monoterpenos.

Poseen estructuras C10 y pueden ser: cíclicas, monocíclicas, bicíclicas y tricíclicas; también existen monoterpenos irregulares como criptona y geranil. ⁽⁴³⁾

Dentro de cada grupo los monoterpenos pueden ser insaturados simples, pueden tener grupos funcionales -OH (alcoholes), -CHO (aldehídos) o C=O (cetonas).

Harborne J.B (1978) menciona la presencia de monoterpenos conocidos como iridoides (monoterpenolactonas), como por ejemplo nepetalactona, el principal componente de *Nepeta cataria*, una Lamiacea cuyo olor tiene la particularidad de atraer al gato doméstico ⁽⁴³⁾.

Los monoterpenos simples tienden a ser los constituyentes mayoritarios de los aceites esenciales. Pueden ser:

- Acíclicos: Geraniol, linalol, mirceno, etc.
- Monocíclicos: α -terpineol, limoneno, *p*-mentano (mentol), terpinoleno, mentona, carvona, etc.
- Bicíclicos como: α -pineno, 3-tuyona, careno, canfor, fenchona, etc.
- Tricíclicos como: triciclano.

2.4.8.2. Sesquiterpenoides

Tiene esqueleto C15. Pueden ser:

- Acíclicos: Farnesol, nerolidol, etc.
- Monocíclicos: Bisaboleno, elemeno, zingibereno, etc.
- Bicíclicos: Guaiol, eudesmol, α -cadineno, β -seleneno, cariofileno, caratal, etc.
- Tricíclicos: Tuyopsano, cedrol, ciperano.
- Tetracíclicos: Ishwarano.

2.4.8.3. Aceites Esenciales de Naturaleza Fenólica

Los aceites esenciales fenólicos (serie aromática) son mucho menos frecuentes que los mono y sesquiterpenos; derivan en su mayoría de estructuras C6 - C3 (fenilpropano)

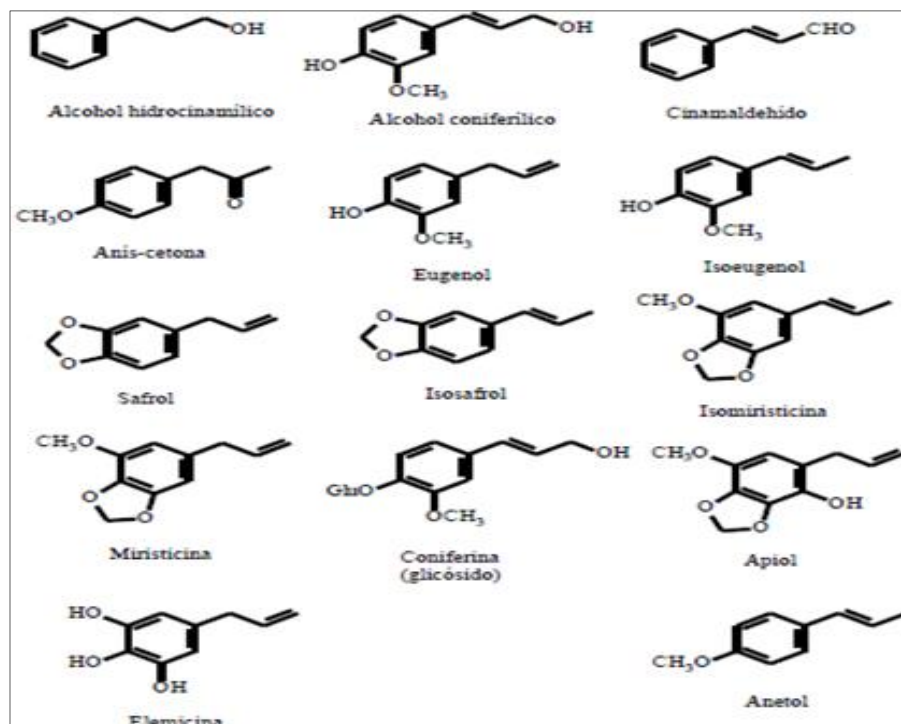


Figura 5. Componentes de los aceites esenciales de naturaleza fenólica ⁽³⁷⁾.

2.4.9. Propiedades Farmacológicas de los Aceites Esenciales.

Tienen poder antiséptico que se manifiesta frente a varias bacterias patógenas e incluye ciertas cepas antibiótico-resistentes; son también activas frente a hongos inferiores responsables de micosis e incluso frente a levaduras (*Candida*). Utilizadas por vía externa provocan aumento de la microcirculación (como el caso de la esencia de trementina), rubefacción, sensación de calor y ligera acción anestésica local (mentol). En la actualidad son numerosas las pomadas, cremas o geles preparados a base de aceites esenciales destinados al tratamiento de algias articulares o musculares para aliviar esguinces, distensiones ⁽³⁵⁾. Otros aceites tienen propiedades espasmolíticas y sedativas. Algunos aceites esenciales presentan tropismo neurovegetativo y ejercen acción neurosedativa; los hay que tienen actividad colerético, colagoga, antiinflamatoria y cicatrizante ⁽³⁷⁾.

2. 4.10. Métodos de Obtención de los Aceites Esenciales.

Para obtener estos principios volátiles existen diversos procedimientos. Únicamente se utilizan dos en la preparación de esencias oficiales: destilación por arrastre con vapor de agua de las plantas con esencia, o de algunos de sus órganos, y por expresión” (34).

2.4.10.1. Destilación por Arrastre de Vapor de Agua.

La mayoría de los aceites esenciales se obtienen por este método muy económico, dependiendo de las características de la materia prima. Se prepara la parte vegetal a utilizar: hierbas, flores, hojas, semillas, corteza, tallo, etc.; mediante las operaciones de picado, molido, deshojado o marchitado para que se abran las células oleíferas.

En esta presentación la materia prima se pasa al destilador que en el laboratorio es un equipo de Karlsruhe compuesto de un balón de fondo redondo, una columna de ascenso del aceite esencial, un condensador, un tubo abierto compensador de presión interna y externa, un tubo de recojo del aceite esencial donde se separa la fase acuosa del aceite esencial mediante una llave de salida de las 2 fases líquida; al abrir la llave primero se separa el agua (más densa) y luego el aceite esencial, más liviano.

Si el balón donde se pone la muestra tiene 2 L, la proporción es la siguiente: Por 250 g de muestra se debe añadir 1,50 L de agua (37).

El aceite esencial separado se seca con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se obtiene el aceite esencial puro (37). El aceite esencial puro va permitir determinar su rendimiento, su densidad, su índice de refracción y su dispersión óptica, así como el número de sus constituyentes químicos cuando se pasa por HRGC – MS (38).

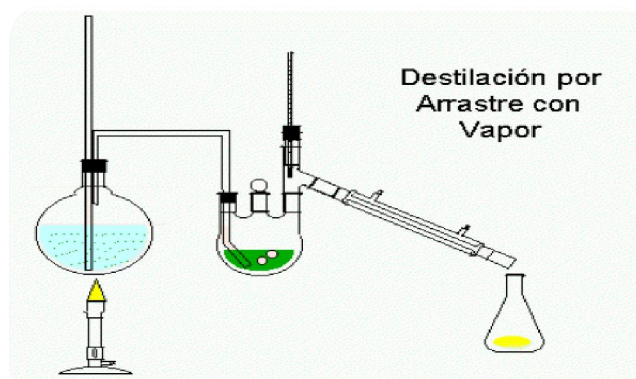


Figura 6. Equipo de destilación por arrastre de vapor.

2.4.10.2. Por Expresión o Estrujado del Pericarpio.

Este procedimiento se aplica a los aceites esenciales que se encuentra en gotitas en las células del pericarpio (parte externa del fruto). Es aplicable a los aceites esenciales presentes en Rutáceas, como ciertos cítricos: Naranja, mandarina, limón, bergamota.

La experiencia señala que este procedimiento también puede ser utilizado para extraer el aceite esencial de frutos de *Xylopi* sp.

Al escarificar los pericarpios se rompen las cavidades secretoras y el aceite esencial se desprende y se recoge manual o mecánicamente ⁽³⁷⁾.

Existen diferentes variantes en la aplicación de este método, tales como:

a) Rallado de las pieles en corriente de agua y consiguiente separación del aceite esencial de la fase acuosa por centrifugación.

b) Aplastamiento de las frutas enteras entre 2 rodillos metálicos. Separación del aceite esencial de los desechos sólidos, en el que se halla mezclado con los zumos de la fruta, mediante centrifugación o por decantación. Una fracción del aceite esencial se obtiene de la destilación de los residuos sólidos por arrastre de vapor aunque no resulta ser de buena calidad.

c) Por expresión de las frutas partidas previamente privadas del zumo. Este método luego sigue los pasos señalados en (a) y (b) ⁽³⁷⁾.

2.4.10.3. Obtención del Aceite Esencial de la parte Vegetal mediante Fermentación seguida por Destilación.

Los aceites esenciales en algunas plantas como Miristicáceas, Umbelíferas e inclusive Leguminosas, se forman por hidrólisis enzimática de los glicósidos que acompañan a la fracción de aceite esencial, tal es el caso de las esencias de gaulteria, mostaza, almendras amargas, bubinzana, etc.

Por ejemplo, la semilla de mostaza contiene el glicósido sinigrina. Aquí primero se priva las semillas del aceite fijo (graso); después del prensado la torta obtenida es triturada durante dos horas en agua con calentamiento a 70°C. Mediante este procedimiento se

desdobla la sinigrina en glucosa bisulfato potásico e isosulfonato de alilo (aceite de mostaza) por acción de la enzima mirosinasa ⁽⁴⁴⁾.

2.4.10.4. Con solventes orgánicos.

En este caso se divide el material fresco, marchito o semi-desechado; si son raíces o rizomas deben triturarse; si son tallos llevarse a virutas. Se puede extraer con éter dietílico o éter de petróleo según el poder del disolvente, la estabilidad térmica de los constituyentes, el poder de penetración en las paredes celulares, la facilidad de recuperación, la seguridad en su manipulación, la menor toxicidad y si son inflamables se debe extraer en sistemas de resistencias eléctricas selladas para evitar cualquier explosión ⁽³⁷⁾.

2.4.10.5. Obtención con Gases Licuados o Métodos de Fluidos Supercríticos.

Se utiliza gas butano o propano que se comprime a presiones de 6 y 15 atmósferas, respectivamente, para licuar esos gases. Cuando se descomprime, el solvente suele extraer el aceite concreta (concreta) o el resinoide.

Caso particular de mayor importancia es el uso del CO₂ que se vuelve líquido cuando se somete a compresión. Solo que para este caso se requiere contar con instalaciones costosas; sin embargo, el procedimiento ofrece ciertas ventajas: inocuidad, no inflamabilidad, bajas temperaturas de manipulación y fácil recuperación del solvente ⁽³⁷⁾.

2.4.10.6. Obtención Usando Aceites y Grasas.

Este método aprovecha la liposolubilidad de los constituyentes de los aceites esenciales. La técnica se conoce como enflorado (Enflourage) que consiste en que las flores quitadas de sus pétalos se esparcen sobre grasa fría durante 1 a 3 días, en placas de vidrio que interiormente llevan unas mallas de alambres finos para que al separar la grasa de las flores, no se pierda mucho de ésta. Para esto el chasis metálico se mueve con una máquina agitadora con la cual se separa fácilmente la pomada (mezcla de grasa y aceite concreto).

En la grasa se halla embebido el aceite esencial de las flores.

Una variante de este método consiste en pasar una corriente de aire caliente sobre las flores y cuando está cargado de principios volátiles se coloca sobre grasa fundida; en todos los casos la esencia adquirida pasa a esencia absoluta al extraer la concreta repetidas veces con alcohol ⁽⁴⁵⁾.

2.4.10.7. Método Clevenger

Modo operativo: Añadir agua en la olla de forma que el troceado o serrín nunca llegue a estar en contacto con ella. Introducir la muestra en la olla, colocando previamente un papel de filtro sobre una red metálica de acero inoxidable. Al instalar los refrigerantes Clevenger, hay que rellenar de agua destilada el tubo inferior, sin que el nivel del agua en el tubo vertical llegue al refrigerante. Conectar los refrigerantes y calentar enérgicamente. El aceite esencial que se va depositando hay que retirarlo regularmente con una pipeta Pasteur.

En ambos métodos, una vez obtenido el aceite, hay que proceder a secarlo. Paralelamente, se diluye el extracto en éter y se seca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra y se evapora ⁽⁴⁰⁾.

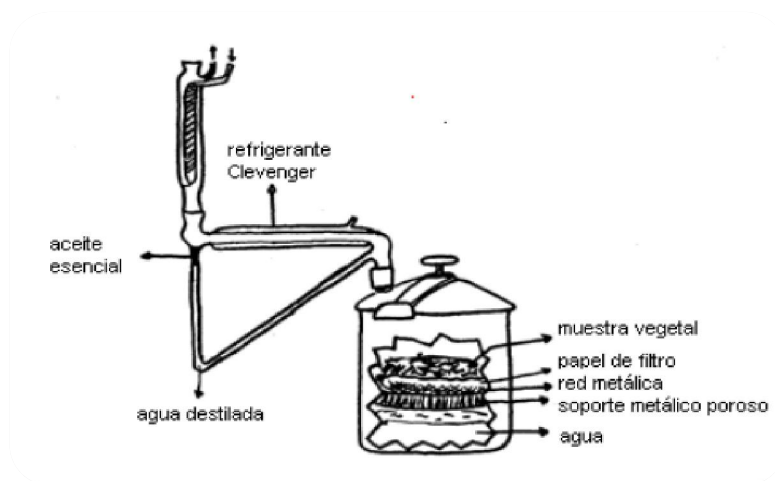


Figura 7. Destilación Clevenger.

2.4.11. Métodos de Identificación de los Constituyentes Presentes en los Aceites Esenciales

2.4.11.1. Por Cromatografía de Capa Fina

Clásicamente se utilizaba cromatografía de capa fina (TLC) con placas de sílicagel, usando como solventes de resolución benceno: cloroformo (1:1) o benceno: acetato de etilo (19:1). Cuando los terpenos son oxigenados, por ejemplo carvona, la capa de

silicagel no es activada, la humedad de la capa ayuda en la separación de los constituyentes oxigenados del aceite esencial. Cuando el aceite esencial contiene terpenos con radicales alcohólicos (tipo linolol) es mejor separar sobre placas impregnadas con parafina al 70% en metanol.

Otra modificación para separar terpenos de doble enlace en TLC consiste en esparcir sobre la placa de silicagel nitrato de plata al 2,5% y se corre en una mezcla de diclorometano: cloroformo: acetato de etilo: n- propanol (45:45:4.5:4.5) ⁽⁴⁶⁾ ⁽³⁶⁾.

El método general de detección incluye rociado con permanganato de potasio 0,2%, cloruro de antimonio 5% en cloroformo, ácido sulfúrico concentrado o vainillina-ácido sulfúrico concentrado. El último reactivo debe ser preparado al momento de uso, añadiendo 8 ml de etanol, 0,5 g de vainillina enfriada, agregando ácido sulfúrico concentrado ⁽³⁶⁾.

Las placas son calentadas después del rociado con el reactivo entre 100 a 105°C hasta que desarrolle completamente su actividad cromogénica. Los agentes cromofóricos más selectivos son capaces de detectar terpenos con dobles enlaces, como por ejemplo: vapor de bromo; aquellos que contiene grupos cetónicos como carvona son detectados con 2,4-dinitrofenilhidrazona ⁽⁴³⁾.

2.4.11.2. Por Cromatografía de Gases de Alta Resolución Acoplado con Espectrómetro de Masas (HRGC-MS).

Esta técnica es una modificación sustancial y complementaria que se ha hecho al cromatógrafo de gases que actualmente constituye un método de avanzada.

Si bien el cromatógrafo conserva los mismos componentes principales de un cromatógrafo de gases tradicional, hay variación de columnas, programación de temperatura del termostato a rango adecuado, lleva como modificación un espectrómetro de masa como detector que ha reemplazado a los detectores de ionización de llama, detector termiónico y detector de conductividad térmica, ya que la separación en un cromatógrafo de gases clásico suministraba poca información sobre la naturaleza química de las sustancias que se separaban ⁽³⁶⁾.

El equipo actual de cromatógrafo de gas líquido acoplado a espectrómetro de masa (HRGC-MS) es un equipo de alta resolución con una columna capilar de 60 metros de longitud, 250 micrómetros de diámetro y 0,25 micrómetros de espesor de capa del

adsorbente. El espectrómetro de masa computarizado acoplado lleva tiene una matriz en la que se encuentran los modelos de todos los constituyentes de los aceites esenciales actualmente obtenidos y que el equipo identifica por comparación ⁽⁴³⁾.

El rango de temperatura varía desde 100°C durante 7 minutos, luego a 20°C/min hasta llegar a 180°C, seguido de 1°C/min hasta llegar a 240°C y finalmente 20°C/min hasta llegar a 280°C. El volumen de muestra que se inyecta es de 5 microlitros.

El equipo HRGC-MS es innovativo en el campo analítico. Mientras anteriormente un cromatógrafo de gas solo separaba los constituyentes de una muestra, determinaba su abundancia y registraba sus tiempos de retención, usando patrones de muestras puras, se podía reconocer con gran dificultad al componente aislado; en la actualidad, el haber incorporado al equipo un espectrómetro de masa como detector, permite además conocer el peso molecular de cada constituyente separado y si en la memoria del equipo están presentes los constituyentes conocidos del aceite esencial en estudio, se puede conocer directamente la denominación química de esos constituyentes. Esta técnica ha contribuido para complementar la efectividad y precisión de la espectrometría de masas y de los avances logrados en las otras espectrometrías, fundamentalmente espectrometría de resonancia magnética nuclear de protones y de carbono-13 ⁽³⁵⁾.

2.5. REPELENTE

2.5.1. Generalidades de los Repelentes

Los repelentes son sustancias que al ser aplicadas sobre la piel actúan ahuyentando a los insectos al formar una capa gaseosa sobre la piel, lo que hace de ésta un lugar desagradable o poco atractivo para ellos, evitando así sus picaduras y las enfermedades que ellos ocasionan ⁽⁴⁷⁾.

Una de las primeras técnicas para combatir los insectos, principalmente mosquitos, consistió en el uso de repelentes botánicos. Algunas veces las hojas y las plantas frescas se colocaban en el área de descanso, otras se quemaban para producir humo que ahuyentara a los insectos y así evitar la succión de sangre y transmisión de enfermedades.

Posteriormente estas técnicas fueron reemplazadas por los repelentes sintéticos los cuales comenzaron a ser estudiados a partir del año 1930; así, en el año 1952 fue descubierto el N-N-dietil-m-toluamida (DEET), sustancia que ha tenido gran

importancia hasta el punto que la mayoría de los repelentes formulados hasta hoy lo han utilizado como principio activo ⁽⁵¹⁾. Sin embargo, esta sustancia posee alta toxicidad y es muy irritable al aplicarse en pieles sensibles, por lo cual se están desarrollando repelentes alternativos basados en sustancias de origen natural.

Entre los efectos tóxicos que se manifiestan con repelentes de origen sintético, especialmente con el DEET se pueden mencionar: dolores de cabeza intensos, trastornos de conducta, alteraciones en el estado de conciencia y convulsiones en algunos casos.

Un buen repelente de mosquitos debe cumplir con las siguientes propiedades:

- Eficacia repelente contra una o varias especies de mosquitos.
- Relativa toxicidad y carencia de actividad alergénica.
- Duración del efecto adecuado a las circunstancias de su uso.
- Olor aceptable.
- Tendencia mínima a ensuciar o atacar la ropa.
- Estabilidad en las condiciones de almacenamiento.
- Aceptabilidad general cosmética y facilidad de aplicación.
- Costo razonable ⁽⁴⁸⁾.

2.5.2. Repelentes Botánicos

Son sustancias naturales que se extraen de plantas. Las plantas generan sustancias para defenderse de los ataques de los insectos, siendo ésta la razón por la cual los mosquitos no atacan a las plantas sino a los animales de sangre caliente. Estas mismas sustancias tienen muchas veces acción contra ellos y otros insectos picadores por tener una característica orgánica similar a aquellos insectos que atacan a las plantas. Estos principios activos generalmente se encuentran en los aceites esenciales de las plantas y pertenecen a la familia química de los terpenos.

La toxicidad de los repelentes botánicos en los humanos y otros mamíferos es casi nulo; generalmente son menos tóxicos que los repelentes tradicionales ⁽⁴⁹⁾.

Las desventajas de los repelentes naturales son ínfimas en comparación con sus beneficios, pero su uso tiende a ser más costoso que el de los insecticidas sintéticos. Esto se debe a que el costo de producción es alto y su aplicación tiene que repetirse frecuentemente.

En la actualidad se han clasificado 344 plantas diferentes cuyas sustancias tienen acción insecticida o repelente en alguna medida.

2.5.3. Repelentes Sintéticos

Son sustancias químicas que contienen principios activos obtenidos mediante reacciones químicas manipuladas por el hombre. Entre éstos destacan:

- ✓ El DEET (N-N-dietil-m-toluamida o N-dietil-3metilbenzamida) ⁽⁵⁰⁾.
- ✓ Acido 1-piperidincarboxílico-2-(hidroxietil)-1-metilpropilester (Bayrepel) ⁽⁵⁰⁾.

2.5.4. Prueba de Repelencia

La repelencia es un mecanismo que genera un desplazamiento de los insectos lejos del sitio de estímulo. No es considerada una actividad plaguicida. Para determinar el grado de repelencia es necesario que la prueba sea medible.

Esta medición se hace con base en el número de zancudos que se posan en un área determinada no tratada con la sustancia sujeta a prueba.

En la cría de zancudos, se conservan machos y hembras en una misma caja para ser alimentados. Para la prueba solo se necesitan las hembras, porque éstas son hematófagas y pican para alimentarse y así ayudar a sus huevos a desarrollarse.

Para hacer la selección primero se deben conocer las características físicas del zancudo hembra; luego con un succionador plástico se atrapan los zancudos de la caja sin tener en cuenta si es hembra o macho. Aparte, se tienen dos recipientes plásticos tapados con una malla: uno para hembras y otro para machos. Cada recipiente tiene un orificio por donde se mete el succionador para ir clasificando los zancudos según su sexo ⁽⁵¹⁾.

2.6. GENERALIDADES SOBRE DENGUE Y SU VECTOR

2.6.1. La Enfermedad del Dengue

El dengue es una enfermedad infecciosa transmitida por el mosquito *Aedes aegypti* que en años recientes se ha convertido en una preocupación principal de salud pública. Es una enfermedad severa similar a la gripe. Las características clínicas de la enfermedad

varían de acuerdo a la edad del paciente: los bebés y los niños pueden tener una manifestación febril similar al sarpullido, los niños mayores y los adultos pueden tener un leve síndrome febril o la clásica enfermedad debilitante repentina con fiebre alta, dolor de cabeza severo, dolor detrás de los ojos, dolores en los músculos y articulaciones. Una complicación más letal es la fiebre hemorrágica por dengue, que fue por primera vez reconocida durante los años cincuenta y actualmente es la causa principal de muerte en niños en muchos países.

La fiebre hemorrágica se caracteriza por temperatura alta, fenómeno hemorrágico, a menudo con inflamación del hígado y en casos severos problemas circulatorios, además de atacar los pulmones, corazón, riñones, recto y abdomen.

Incidencia

El Ministerio de Salud reportó durante el año 2015, desde el 1 de enero al 7 de noviembre, 3 596 casos de dengue clásico, 358 casos de dengue hemorrágico y un total de 28 muertes a causa del dengue hemorrágico ⁽⁵⁾(7).

Mientras que en el año 2016, desde el 1 de enero al 10 de junio, reportó un total de casos de dengue confirmados de 1 167, siendo 81 casos de dengue hemorrágico.

El vector es el mosquito *Aedes aegypti* y el agente transmisor es un plavivirus con 4 subgrupos distintos. En la actualidad el único método de control y prevención del dengue y la fiebre hemorrágica por dengue es combatiendo el mosquito vector ⁽⁵⁾.



Figura 8. *Aedes aegypti*

2.6.2. Distribución Geográfica y Clasificación Sistemática

Su origen probablemente fue el cinturón tropical de África, encontrándose dos formas: una doméstica y otra selvática; en la región americana solo se conoce la doméstica, siendo el único transmisor del virus del dengue. Es una especie tropical y subtropical que se encuentra distribuida entre la franja geográfica del paralelo 35° al norte y 35° al sur.

Su clasificación sistemática es la siguiente:

Orden : Díptera

Suborden : Nematóceras

Familia : Culicidae

Tribu : Culicini

Género : *Aedes*

Subgénero : *Stegomyia*

Especie : *Aedes aegypti*

2.6.3. Ciclo de Vida

El ciclo de vida del *Aedes aegypti* pasa por las siguientes fases: huevo, larva, pupa y adulto. La hembra pone los huevecillos posándose en la pared del recipiente a escasos centímetros del nivel del agua donde aún haya humedad, pegándolos en la pared uno por uno; en una sola oviposición la hembra puede poner de 20 a 120 huevecillos y tener hasta 3 oviposiciones cada 3 a 5 días. Se requiere de 48 horas para que los huevos embrionen y luego estén listos para eclosionar si el recipiente contiene agua y los humedece, o pueden permanecer deshidratados pero viables por días, semanas, meses y hasta por 2 años.

Después de la eclosión del huevo éste pasa a la fase de larva en la cual se desarrollan cuatro mudas; la velocidad de crecimiento depende directamente de la temperatura del agua y del ambiente, con temperaturas promedio y arriba de 25°C.

La última muda se alcanza en 72 horas; en el agua las larvas se alimentan de protozoarios de vida libre y microalgas; después que se da la cuarta muda en la que la larva comienza a secretar una cubierta por todo el cuerpo que finalmente la encierra, ésta es la llamada

pupa la cual deja de alimentarse y flota; esta fase es necesaria para que puedan llevarse a cabo los cambios en su cuerpo que le permitan la invasión del ambiente aéreo, así como también cambiar su alimentación a líquidos llenos de proteínas necesarias para formar los huevos. En un período de 24 a 48 horas los tejidos del cuerpo larval desarrollan las alas en el tórax, tres pares de patas, un aparato bucal modificado para picar, ovarios (en el caso de las hembras), glándulas salivales y enzimas digestivas para degradar su futuro alimento sanguíneo ⁽⁵²⁾.

La etapa final es la del mosquito adulto, el cual sale de la pupa y queda reposando sobre el agua; antes de 1 hora hace su primer vuelo corto y se posa sobre un lugar seco. Su cuerpo está aún suave y requiere menos de 24 horas para endurecerse y poder realizar vuelos largos. El vuelo más importante es aquel donde busca alimentarse de sangre humana, este escenario lo encuentra a pocos metros desde el patio de la casa hasta solo el interior de la vivienda. La distancia aceptada que un mosquito requiere desde su criadero hasta el punto donde se alimenta de su huésped (distancia de dispersión) es de menos de 150 metros, donde se mantendrá durante su período de vida.

La proporción de sexo es aproximadamente de 1:1 pudiendo haber variaciones; el macho se diferencia de la hembra por sus antenas plumosas que son receptores del sonido, que utilizan para identificar el vuelo de las hembras para intentar la cópula. El *Aedes aegypti* se alimenta principalmente en las horas del día, teniendo su mayor actividad de 6 a 7 a.m. y de 5 a 6 p.m ⁽⁵²⁾.

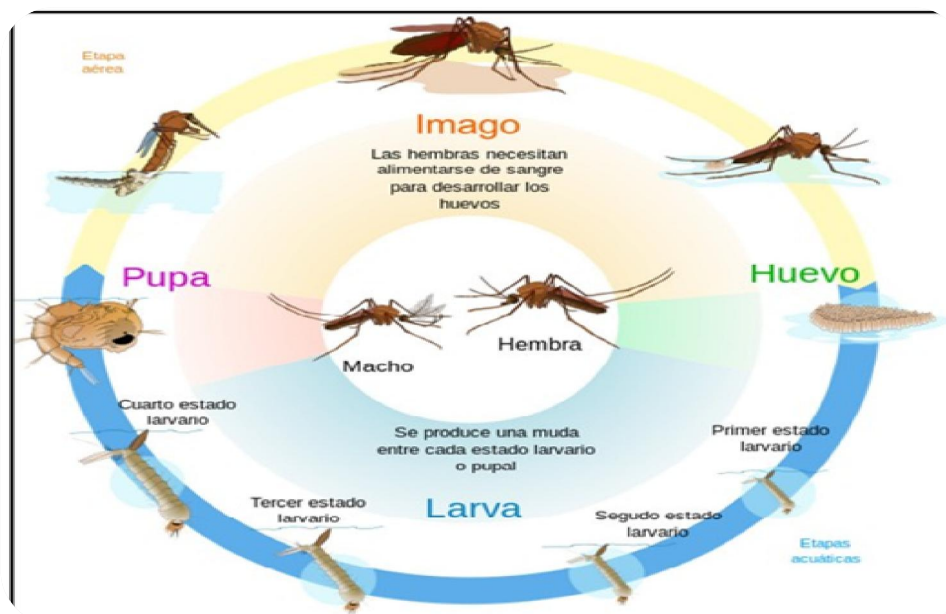


Figura 9. *Aedes aegypti* en sus diferentes etapas de vida ⁽⁵²⁾.

2.7. HIPÓTESIS

- Se puede determinar los constituyentes químicos del aceite esencial de *Ocotea aciphylla*,
- El aceite esencial de *Ocotea aciphylla* presenta actividad repelente frente a *Aedes aegypti*.

2.8. VARIABLES:

2.8.1 Variable independiente:

- Aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla*

2.8.2 Variable dependiente:

- Determinación de los constituyentes Químicos del aceite esencial de *Ocotea aciphylla*
- Actividad repelente del aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla* frente a *Aedes aegypti* adulto.

2.9. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variable Independiente	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Índice	Escala
Aceite Esencial de <i>Ocotea aciphylla</i> , (canela muena)	<i>Aceite esencial:</i> producto de composición generalmente compleja que contiene los constituyentes volátiles que se encuentran en los vegetales;	Se reduce la corteza a Polvo fino mediante proceso de molienda y tamizado. El polvo fino se deposita en un balón y se agrega agua. Se obtiene el aceite esencial por arrastre de vapor. El aceite se seca con sulfato de sodio anhidro para eliminar agua, luego se filtra y se obtiene el aceite esencial purificado.	Aceite esencial de la corteza de <i>Ocotea aciphylla</i> .	Olor aromático <i>sui generis</i> .	Sustancia líquida liposoluble de baja densidad/ Nominal

Variable Dependiente	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Índice	Escala
1. constituyentes químicos del aceite esencial de <i>Ocotea aciphylla</i>	Los aceites esenciales están constituidos por diferentes compuestos terpenoidales como: Linalol, Geraniol, citronelol, Citronelol, citral.	Concentración porcentual de los constituyentes del aceite esencial de corteza de <i>Ocotea aciphylla (canela muena)</i> mediante el equipo de alta resolución y conocer el número de constituyentes presentes.	Cromatograma y espectro de masas, combinado que registra todos los constituyentes que posee el aceite esencial de <i>Ocotea aciphylla (canela muena)</i> en la corteza.	Constituyentes del aceite esencial terpenoidales y fenólicos.	Tiempo de retención Área relativa.
2. Actividad repelente del Aceite Esencial de <i>Ocotea aciphylla</i>, (canela muena) frente a <i>Aedes aegypti</i>	Acción que ejerce una Sustancia, compuesto químico o una mezcla de principios activos, que, aplicados sobre la piel, impiden que los insectos se fijen y evitan la picadura. Muchos aceites esenciales por su origen terpenoidal ejercen actividad repelente.	Se realizarán los recuentos de mosquitos presentes en cada mitad del círculo dentro de la placa Petri en la cual se impregnarán el aceite esencial cada hora hasta la tercera hora posterior al tratamiento. Los datos obtenidos se convirtieran en porcentaje de repelencia (PR)	Insectos repelidos por la acción del aceite esencial. Migración de los individuos adultos de <i>Aedes aegypti</i> hacia una zona que no ha sido tratada con aceite esencial.	Presenta repelencia: I - V Ausencia de repelencia: 0	Tipo: cuantitativo

CAPÍTULO III

3. METODOLOGIA

El trabajo experimental se llevó a cabo en los laboratorios de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad nacional de la Amazonia Peruana.

3.1 TIPO DE INVESTIGACION

Tipo de Estudio: Se empleó un Diseño experimental, Descriptivo prospectivo.

Experimental: se realizó la evaluación de la actividad repelente del aceite esencial de *Ocotea aciphylla* contra *Aedes aegypti* en distintos grupos de prueba y de control.

Descriptivo: El trabajo realizado es de tipo descriptivo, porque se identificaron los constituyentes del aceite esencial obtenido por arrastre de vapor de la corteza pulverizada.

Prospectivo: En el registro de la información se tomó en cuenta los hechos a partir de la fecha de estudio.

3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:

El estudio se realizó aplicando los ensayos de actividad repelente, establecidas por Tolukder y Howse, en la cual se hace un recuento de *Aedes aegypti* que migran a zonas no tratadas con el aceite esencial en los distintos grupos de prueba y de control.

Para la determinación de los constituyentes químicos del aceite esencial se realizó por cromatografía de gases de alta resolución acoplado a un espectrómetro de masas (HRGC-MS) que actúa como detector para determinar cada componente aislado.

Procedimientos involucrados en la investigación

Para el diseño de la investigación seguimos los siguientes pasos:

- Recolección de la materia prima: corteza de *Ocotea aciphylla*
- Clasificación botánica: Herbarium Amazonense UNAP.
- Limpieza de la corteza: Eliminación de tierra, musgo y hongos
- Secado al aire para eliminación del exceso de humedad
- Molienda: En molino de disco manual, para reducir la corteza en partículas pequeñas.
- Extracción del aceite esencial por arrastre de vapor. La destilación se realiza en un aproximado de 3 horas teniendo en cuenta el control de la temperatura.

- Decantación para separar la fase acuosa del aceite esencial.
- Secar el aceite esencial con sulfato de sodio anhidro.
- Filtrar para separar el sulfato de sodio embebido en agua. El filtrado es el aceite esencial.
- Análisis de los componentes del aceite esencial por cromatografía de gases de alta resolución acoplado a un espectrómetro de masas que actúa como detector para determinar cada componente aislado.
- Elucidación de cada componente por lectura del cromatograma y del conjunto de componentes que identifica el espectrómetro de masas.
- Crianza de las larvas de *Aedes aegypti*
- Clasificación entomológica de la especie para la prueba de repelencia
- Separación de individuos hembras de *Aedes aegypti* que se encuentren en la etapa adulta.
- Preparación de diferentes concentraciones de aceite esencial de *Ocotea aciphylla*.
- Evaluación de la actividad de repelente del aceite esencial de *Ocotea aciphylla* sobre *Aedes aegypti*.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.

3.3.1. Población vegetal

La población vegetal en estudio fue constituida por la especie vegetal *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (canela moena) ubicada en las áreas verdes de la facultad de Farmacia y Bioquímica, en Nina Rumi, de la jurisdicción de San Juan Bautista, provincia de Maynas, región Loreto.

3.3.2. Muestra vegetal

La muestra fue de 2 Kg de corteza de la especie vegetal *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (canela moena) tomados al azar, recolectadas de las áreas verdes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, en Nina Rumi, de la jurisdicción de San Juan Bautista, provincia de Maynas, región Loreto

3.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

La muestra son fragmentos de cortezas, exenta de hongos, líquenes u otras partículas contaminantes.

3.5. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Otras especies vegetales no seleccionadas para este estudio.

3.6. POBLACIÓN ENTOMOLÓGICA

La población entomológica en estudio fue constituida por el díptero culícido *Aedes aegypti*, obtenidos por crianza de larvas.

3.7. MUESTRA ENTOMOLÓGICA

La muestra fue constituida por 10 dípteros culícidos *Aedes aegypti*, por cada grupo de prueba y de control

3.8. MATERIALES E INSTRUMENTOS

3.8.1. Materiales

- Papel filtro
- Placas Petri de 15 cm de diámetro
- Tubos de plástico transparente.
- Potes de plástico transparentes con tapas.
- Mosquitero o malla atrapa insectos.
- Cinta adhesiva.
- Frasco ámbar con tapa.
- Plástico de Parafina
- Alimento seco para aves.
- Mortero y pilón.
- Cartones circulares de diámetros igual a los desecadores.
- Lápiz.
- Probetas de 10, 25, 50 y 100 mL.
- Balones fondo redondo de 100 mL.
- Balones volumétricos de 25 y 50 mL.
- Bureta de 25 mL.
- Erlenmeyer de 125 mL.
- Vasos de precipitados de 100, 250, 400 y 600 mL.
- Cápsulas de porcelana
- Embudo
- Vidrio reloj

- tijera

3.8.2. Materiales químicos

- Sulfato de sodio anhidro
- Aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla*.
- Agua destilada
- Alcohol etílico

3.8.3. Material biológico

- Formas adultas de zancudos de la especie *Aedes aegypti*
- Corteza de *Ocotea aciphylla* (Canela Buena).

3.8.4. Equipos

- Equipo de destilación por arrastre de vapor del Laboratorio de Química Orgánica - UNAP
- Equipo de cromatografía de gases- espectro de masas del Laboratorio de química de productos naturales. Universidad Cayetano Heredia.
- Hot plate (hornilla eléctrica).
- Rotavapor.
- pH metro digital
- Viscosímetro

3.9. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.9.1. Identificación de la Muestra Vegetal

La exicata de la muestra vegetal de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) fue depositada en el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) para su identificación taxonómica por el profesional especialista.

3.9.2. Procedimiento para la Recolección de la Muestra Vegetal

Durante el mes de enero de 2017 se recolectaron la corteza de *Ocotea aciphylla* en la localidad de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, región Loreto, con una Latitud: 03°49'56.9''S y Longitud: 73°22'29''O), altura de 125 msnm. Se tomaron muestras entre las 12:00 y 16:00 horas, momento en el cual la concentración de aceites esenciales por parte de la planta es mayor.

La corteza recolectada fue inmediatamente trasladada al laboratorio para realizar su limpieza y extracción de los aceites esenciales. El material cosechado se sometió a un breve zarandeo para quitar elementos extraños, se eliminaron además aquellas cortezas con síntomas de deterioro o enfermedad.

3.9.3. Obtención de Aceites Esenciales

El aceite esencial de la corteza de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) se obtuvo en un equipo de extracción de aceites esenciales. Se cortaron 2 kg de material fresco de corteza en pequeños trozos (1-2 cm) para aumentar la superficie de contacto y facilitar su extracción.

La extracción se realizó mediante destilación por arrastre con vapor de agua, utilizando un equipo destilador de una capacidad para 8 kg de materia prima.

Se colocaron 2 kg de muestra en el recipiente de acero quirúrgico con 6 L de agua destilada. El aceite esencial se extrajo en el momento de la ebullición de la muestra vegetal (**ver figura 8**),

El aceite esencial obtenido de la corteza de *Ocotea aciphylla* se acondicionó en frascos de vidrio de 10 cm³ de color ámbar con cierre hermético, previamente desecado con sulfato de sodio anhidro para eliminar los remanentes de agua. El aceite esencial se mantuvo en un refrigerador a una temperatura menor de 6 °C para estar bien conservados, hasta el momento del análisis por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (CG-MS).

3.9.4. Análisis de Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masa

La cromatografía de gases y su acoplamiento con la espectrometría de masas constituyen una herramienta muy eficaz para la cuantificación e identificación de los componentes volátiles de mezclas complejas.

Los aceites esenciales de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) se analizaron en un cromatógrafo de gases CG 6890N Agilent Technologies acoplado a un espectrómetro de masas MS 5973 (Agilent Technologies Inc). Se utilizó una columna capilar HP-5-MS (30 m x 250 µm x 0,25 µm) y nitrógeno como gas portador.

Las condiciones del CG fueron las siguientes: la temperatura del inyector 250 °C y la del detector 280 °C. El programa de temperatura utilizado: Temperatura inicial 60 °C por 2 minutos, rampa de 8 °C/minuto hasta 280 °C y luego isotérmico por 10 minutos. Como estándar interno se utilizó Diclorometano (1 µl).

3.9.5. Bioensayo de la Actividad Repelente.

La prueba de la actividad repelente es conducida según el método propuesto por Tolukder y Howse. Se utiliza papeles de filtro de 9 cm de diámetro separados en dos mitades iguales, el aceite esencial de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) se aplica en una de las mitades. Las mitades tratadas y no tratadas de cada círculo se colocan en forma contigua en la placa Petri, y se libera en su interior 10 zancudos *Aedes aegypti* que comúnmente se encuentran en climas cálidos, tropicales y subtropicales. Se realiza recuentos de *Aedes aegypti* presentes en cada mitad del círculo cada hora hasta la tercera hora posterior al tratamiento.

Los datos serán convertidos en porcentajes de repelencia (PR) por medio de la siguiente: $PR (\%) = (N_c - 50) \times 2$

Donde N_c = porcentaje de zancudos presentes en la mitad testigo.

Tabla 2. Valoración de grado de repelencia

Clase	Grado de Repelencia (%)
0	>0,01 a < 0,1
I	0,1 a 20
II	20,1 a 40
III	40,1 a 60
IV	60,1 a 80
V	80,1 a 100

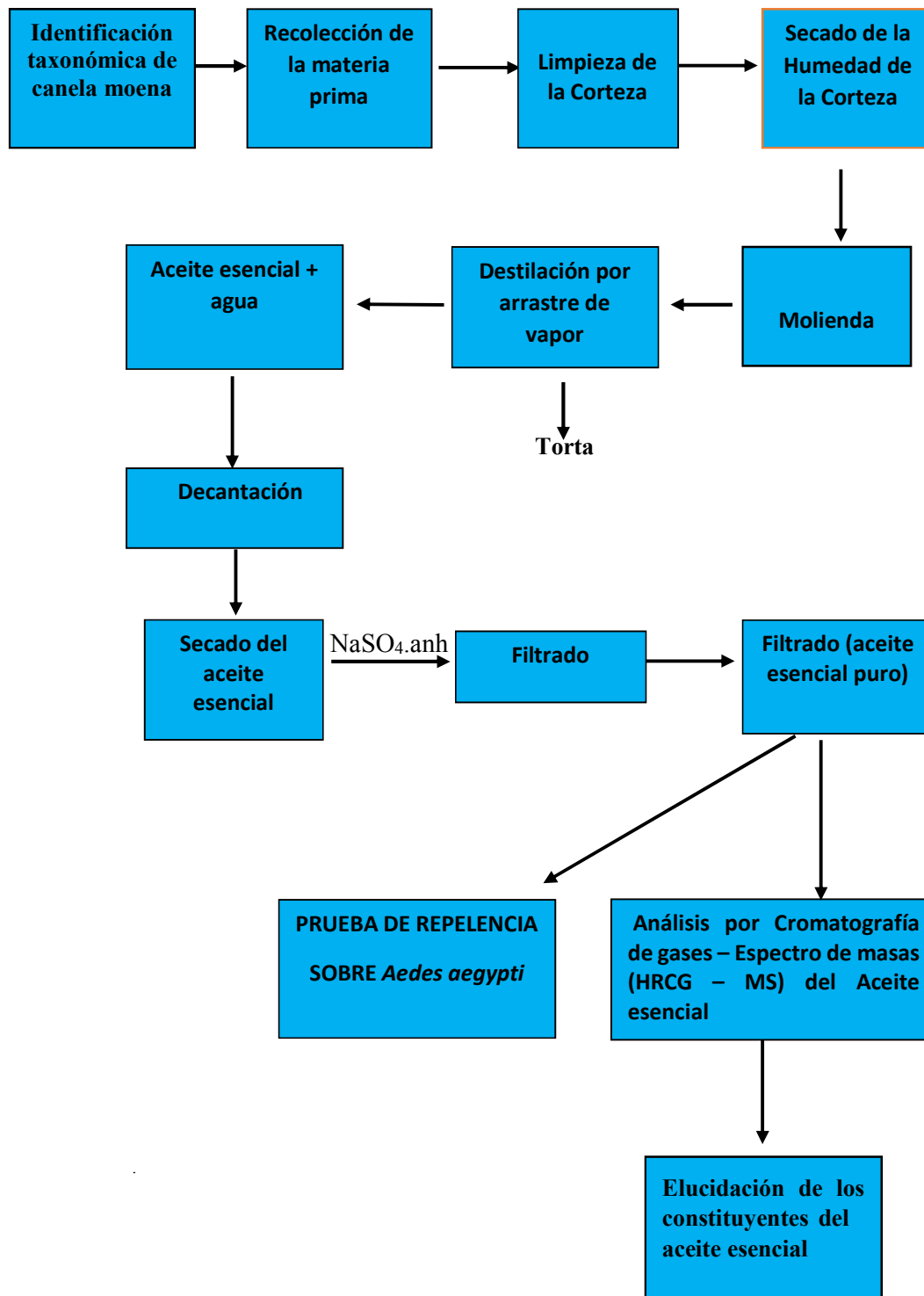


Figura 10. Diagrama de bloque de procesos

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS

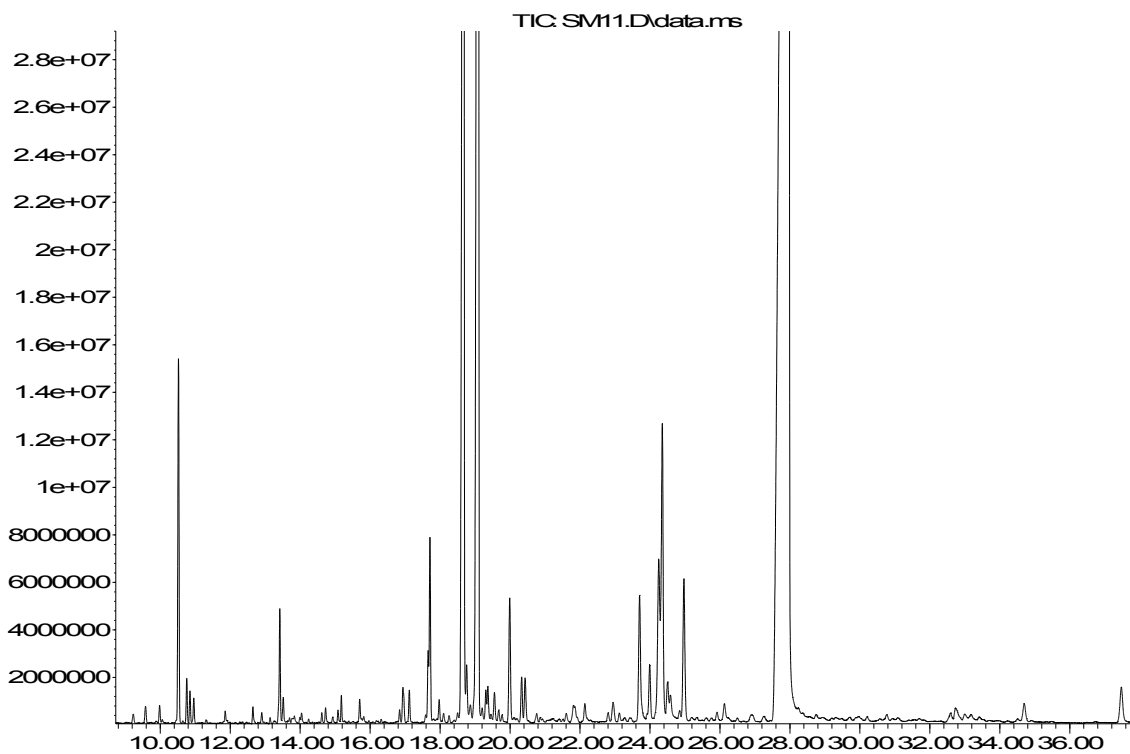
4.2. CONSTITUYENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE CORTEZA DE *Ocotea aciphylla* (canela moena)

Tabla 3. Constituyentes químicos encontrados en el aceite esencial de la corteza de *O. aciphylla*.

Número	Nombre del compuesto (NIST08.L)	t_R (min)	% en la muestra
			(áreas relativas)
1	α - Pineno	9,21	0,08
2	Sabineno	9,48	0,07
3	Canfeno	9,87	0,09
4	3-careno	10,78	4,73
5	<i>o</i> -cimeno	10,82	0,22
6	Eucaliptol	10,87	6,19
7	D-Limoneno	10,98	0,13
8	C ₁₀ H ₂₄ O (desconocido)	11,90	0,05
9	Ipsdienol	12,76	0,07
10	α -Terpineol	12,99	0,06
11	Borneol	13,60	0,61
12	Verbenona	13,75	0,18
13	8-hidroxi- <i>p</i> -cimeno	13,89	0,02
14	C ₁₀ H ₁₈ O (desconocido)	14,08	0,05
15	Linalol	14,77	6,04
16	<i>p</i> -Anisaldehido	14,85	0,07
17	2-Undecanona	15,18	0,05
18	Tridecano	15,25	0,09
19	Eucariona (Eucarvone)	15,78	0,08
20	Ylangeno (Ylangene)	16,94	0,06
21	Crisantenona (Chrisantenone)	16,98	1,23
22	Elemeno (Elemene)	17,22	0,15

23	α -gurjuneno (α -gurjunene)	17,85	0,27	
24	Cipereno	17,80	0,86	
25	Cariofileno	17,99	0,9	
26	α -guaieno	18,22	0,05	
27	C ₁₅ H ₂₄ (desconocido)	18,31	0,04	
28	Aloaromadendreno	18,45	0,06	
29	β -selineno	18,73	16,29	
30	Z,Z,Z,-1,5,9,9-tetrametil-1,4,7,-cicoundecatrieno	18,84	0,34	
31	Aromadendreno	18,91	0,13	
32	δ -cadineno	19,16	19,45	
33	β -gurjuneno	19,25	0,09	
34	Germacreno D	19,62	0,28	
35	Copaeno	19,37	4,19	
36	Eremofileno	19,55	0,17	
37	(1-metiletil)- naftaleno	2,3,4,4 α ,5,6-hexahidro-1,4 α	19,67	0,07
38	γ -Selineno	19,77	2,04	
39	γ -cadineno	19,99	3,72	
40	Pentadecano	20,33	0,26	
41	C ₁₅ H ₂₄ O(desconocido)	20,43	0,29	
42	Elemol	20,76	0,06	
43	C ₁₅ H ₂₄ O(desconocido)	21,61	4,06	
44	Spatulenol (Spathulenol)	22,86	0,05	
45	Oxido de cariofileno	24,13	0,14	
46	Eremofileno	25,81	0,06	
47	Cubenol	27,94	0,17	
48	γ -Muuroleno	28,12	14,05	
49	Benzoato de bencilo	29,71	9,93	
50	cis-7-dodecen-1-il-acetato	32,99	0,3	
51	8-Heptadeceno	37,25	1,36	

Abundance



Time→

Figura 11. Cromatograma GC-MS del aceite esencial CM-UNAP

Condiciones cromatográficas:

Columna: DB-5ms, 325 °C: 60 m x 250 µm x 0.25 µm

Rampa de temperatura: 100 °C por 7 min, 20 °C/min hasta 180 °C, 1°C/min hasta 240 y finalmente 20 °C/min hasta 280 °C

Tiempo de corrida: 45 min

Inyección: 4 µL

Split: 10 :1

Gas portador: He, 20,443 cm/sec

Detector: Espectrómetro de Masa

Muestra: se diluyó 4 µl de muestra en 1ml de diclorometano.

4.2.1. Interpretaciones del Análisis de cromatografía de gases

En el aceite esencial de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (canela moena) obtenido por arrastre de vapor y analizados por cromatografía de gases de alta resolución acoplado a un espectrómetro de masas (HRGC-MS), se detectaron 51 constituyentes que representan el 100% de la composición total como se puede observar en la (tabla 2) y el Cromatograma (figura 11)

El aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) se mostró como una mezcla compleja de mono y sesquiterpenos, color amarillo claro y de olor amaderado característico.

Se realizó el análisis (HRGC-MS) en la que se identificó 51 constituyentes químicos, de los cuales 28 constituyentes aromáticos son de naturaleza sesquiterpenoides que representa el 78,17 % del total y 15 constituyentes son de naturaleza monoterpenoide que representa el 18,59 %.

Los constituyentes que se encontraron en mayor abundancia fueron: δ -cadineno en un 19,45%; β -selineno en un 16,29 %; γ -Muuroleno 14,05 %; Benzoato de bencilo 9,93 %; Linalol 6,04 %; Eucaliptol 6,19 % y 3-careno 4,73.

4.3. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD REPELENTE

TABLA 4. Número de zancudos *Aedes aegypti* que fueron repelidos por las muestras del aceite esencial de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (canela moena) en diferentes concentraciones con relación a intervalos de tiempo.

MUESTRA	TIEMPO DE EXPOSICION		
	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS
CONTROL (+)	10	10	9
DEET (FLORESTA®)			
Aceite esencial <i>de Ocotea aciphylla</i> al 5%	6	5	5
Aceite esencial <i>de Ocotea aciphylla</i> al 10%	7	6	6
Aceite esencial <i>de Ocotea aciphylla</i> al 15%	8	7	7
Aceite esencial <i>de Ocotea aciphylla</i> al 20%	9	8	9
CONTROL (-) ACEITE MINERAL	3	2	3

TABLA 5. Porcentaje y grado de repelencia del aceite esencial de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena)

REPELENCIA (%) a:					
MUESTRA	1	2	3	REPELEN	GRADO DE
	HORA	HORAS	HORAS	CIA (%)	REPELENCI
					A
Control (+) DEET (FLORESTA®)	100	100	80	93,3	GRADO V
Aceite esencial <i>de Ocotea</i> <i>aciphylla</i> al 5%	20	20	0	13,3	GRADO I
Aceite esencial <i>de Ocotea</i> <i>aciphylla</i> al 10%	40	20	20	26,6	GRADO II
Aceite esencial <i>de Ocotea</i> <i>aciphylla</i> al 15%	60	40	40	46,6	GRADO III
Aceite esencial <i>de Ocotea</i> <i>aciphylla</i> al 20%	80	60	80	73,3	GRADO IV
Control (-) Aceite Mineral	-40	-20	-40	-33,3	NO REPELE

4.3.1. Interpretaciones de la Actividad Repelente

Los resultados de la actividad repelente muestran que el aceite esencial de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) presenta alta repelencia frente a los culícidos *Aedes aegypti*, se obtuvo una repelencia máxima de 73,3 % lo que le ubica en la clase IV de grado de repelencia.

También se mostró diferentes clases de repelencias a diferentes concentraciones del Aceite esencial de *Ocotea aciphylla* que se detalla a continuación:

- Al 5 % de aceite esencial se obtuvo una repelencia de grado I con una repelencia media de 13,3 %.
- Al 10 % de aceite esencial se obtuvo una repelencia de grado II con una repelencia media de 26,6 %.
- Al 15 % de aceite esencial se obtuvo una repelencia de grado III con una repelencia media de 46,6 %

La marca comercial Floresta® utilizado como control positivo obtuvo una repelencia de grado V con una repelencia media de 93,3 %.

Existe una leve tendencia al decrecimiento de la actividad repelente con la disminución de la concentración del aceite esencial y con el aumento del tiempo de exposición hecho que puede ser atribuido a la alta volatilidad de los constituyentes presentes en el aceite esencial de *Ocotea aciphylla*. La eficiencia del aceite esencial al 20 % de concentración, revela una gran actividad repelente contra zancudos *Aedes aegypti* durante un espacio de 3 horas con relación a la loción repelente comercial que contiene DEET en su formulación que muestra un periodo de 4 horas continuas de protección.

4.4. DISCUSIÓN

Este trabajo demostró por primera vez la actividad repelente del aceite esencial de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) sobre los individuos adultos del mosquito *Aedes aegypti* ya que no existe estudio alguno que revele la extracción ni la composición de constituyentes químicos presentes en la especie en mención.

Un gran número de aceites esenciales provenientes de diferentes familias han demostrado repelencia contra especies de artrópodos. Estudios realizados por diversos autores plantean que algunos monoterpenos, como α -terpineol, β -mirceno, linolool, 1,8-cineol, 4-terpineol, timol, carvacrol, α -pineno y β -pineno, limoneno, alcanfor poseen algún tipo actividad insecticida y entre los sesquiterpenos el β -cariofileno es citado como un repelente fuerte en contra de *Aedes aegypti*. Aunque las propiedades repelentes de aceites esenciales varían regularmente entre plantas, al parecer, la bioactividad está asociada con la presencia conjunta de monoterpenos y sesquiterpenos en la composición específica de cada aceite, y de acuerdo a los análisis por cromatografía de gases podemos ver que el aceite de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) posee una composición muy variada de estos terpenos.

Oliveira J et al. (2014). En sus trabajos concluyeron que La Burchellina aislada del tronco de *Ocotea cymbarum* presenta actividad larvicida y ovicida contra *Aedes aegypti*, siendo este trabajo una de las primeras investigaciones en la que un componente extraído del género *Ocotea* sea reportado por poseer actividad contra larvas y huevos de *Aedes aegypti*. Nuestro trabajo revela que el aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) ostenta gran actividad repelente contra *Aedes aegypti* en el estadio adulto, bondades por las cuales debería ser usado como una alternativa en la formulación de repelentes dérmicos⁽¹⁸⁾.

Uno de los principales constituyentes identificados en el aceite esencial de las hojas de *Ocotea quixos* (Lam.) investigados por Noriega P, y Dacarro C, eremofíleno 11,407%, se encuentra en una concentración mayor a lo identificado en el aceite esencial de la corteza de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez a lo identificado en este trabajo de investigación en una concentración de 0,17%, mucho menos⁽¹⁹⁾.

Chaverri C, Ciccio F, en su trabajo de investigación identificaron en el aceite esencial de las hojas de *Ocotea brenesii* Standl el constituyente δ -cadineno (9,2%), como el segundo de los constituyentes mayoritarios encontrados⁽²⁷⁾.

Sim embargo en el aceite esencial de corteza *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez, el mismo constituyente mencionado se encuentra en una abundancia de 19,45%, siendo el de mayor proporción de un total de 51 constituyentes identificados.

4.5. CONCLUSIONES

- Mediante el análisis cromatógrafo (HRGC-MS) se lograron identificar 51 constituyentes químicos del aceite esencial de *aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena), de los cuales 15 constituyentes aromáticos son de naturaleza monoterpenoide (estructura C10) que representa el 18,59 % del total y 28 constituyentes de naturaleza sesquiterpenoides que representa el 78,17 %.
- Los constituyentes que se encontraron en mayor abundancia fueron: δ -cadineno en un 19,45%; β -selineno en un 16,29 %; γ -Muuroleno 14,05 %; Benzoato de bencilo 9,93 %; Linalol 6,04 %; Eucaliptol 6.19 % y 3-careno 4,73 %.
- A través de la prueba de repelencia se logró determinar la eficacia del aceite esencial de *Ocotea aciphylla* posee un grado de repelencia clase IV, con una repelencia media de 73,3 %, resultando efectivo en un periodo de 3 horas, constituyendo un control para *Aedes aegypti* y posible alternativa a los repelentes sintéticos.
- Los resultados obtenidos en la investigación realizada, demostraron la actividad relente del aceite esencial de *aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena), propiedad respaldada por su uso en medicina tradicional, considerados como fuente potencial de repelente contra mosquitos.

4.6. RECOMENDACIONES

- Continuar con el estudio del aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla* realizando pruebas con otras especies de mosquitos para comprobar su efectividad, de la misma manera, encaminar el desarrollo de otras metodologías menos costosas.
- Es recomendable seguir el empleo de métodos indirectos para evaluar y medir el grado de repelencia sin la presencia de voluntarios humanos, debido a que no presenta riesgos de los zancudos hacia humanos.
- Realizar estudios de sensibilidad y toxicidad dérmica de manera que nos brinde inocuidad y que no presente riesgo alguno al ser usados en humanos.
- Impulsar a los profesionales al estudio de sus demás componentes químicos de la especie *Ocotea aciphylla* para poder tener conocimientos sobre sus posibles beneficios y aportes hacia la salud de la población.
- Promover la siembra y cultivo de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) para la producción de Repelentes Naturales, pues ostenta condiciones portentosas para tal.

4.7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Definición de caso de Dengue y Leptospirosis. Boletín Epidemiológico. 2000; 21(2): 5-8.
2. Isturiz R, Gubler DJ, Brea del Castillo J. Dengue and dengue hemorrhagic fever in Latin America and the Caribbean. Infect Dis Clin North Am. 2000; 14(1): 121-140.
3. Kourí G, Guzmán MG, Bravo J. Dengue Hemorrágico en Cuba: Crónica de una Epidemia. Bol of Sanit Panam. 1986; 100(3):322-327.
4. Diaz A, Kourí G, Guzman M, et al. Cuadro clínico de la fiebre hemorrágica del Dengue/Síndrome de choque del Dengue en el adulto. Bol of Sanit Panam. 1988; 104(6):560-571.
5. Gubler DJ, Casta-Valez A. Programa de prevención del dengue epidémico y el dengue hemorrágico en Puerto Rico y las Islas Vírgenes Estadounidenses. Bol of Sanit Panam. 1992; 113(2):109-119.
6. Maguiña C. Consideraciones sobre el dengue. Diagnóstico (Perú). 2002; 41(4):1.
7. Cabezas C, Solari L, Solano, et al. La emergencia de dengue en Lima durante una campaña de prevención mediante abatización. Bol Inst. Nac. Salud. 2005; 11(5-6): 132.
8. Suárez-Ognio L, Ramírez G, Beingolea L. Brote de dengue en el Distrito de Comas, Lima, Perú, 2005. Rev. Méd. Hered. 2005; 16(2):15-23.
9. Maguiña C. Fiebre Chikungunya una enfermedad emergente de gran problema de Salud Pública. Rev Med Hered. 2015; 26:55-59.
10. Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus isolations and serological specificity. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1952; 46:509-520.
11. Hayes EB. Zika virus outside Africa. Emerg Infect Dis. 2009; 15:1347-50
12. Beck, S. D and Reese, J. C. 1975. Insect-plant interactions: Nutrition and metabolism, pp.: 41-75. En Wallace, JW. Y R. L. Mansell (Eds.). Biochemical interaction between plants and insects. Rec. Adv. Phytochem., 10.
13. Werdin G; Sánchez C. 2005. Actividad Repelente del aceite esencial de frutos de Schinus molle en adultos de Nezara Viridula. VI Congresos argentino de Entomología. Tucuman, Argentina. Resúmenes. 412.

14. Masada Yoshiro. Analysis of Essential Oils by gas Chromatography and Mass Spectrometry. 1era edición – New York. 1968. Págs. 181.
15. Duke, James A; Vasquez Martinez, R. Amazonian Ethnobotanical Dictionary. 1ra edición. California. Editorial CRC Press. 1979. Págs.179.
16. Judd Campbell, Kellog; Stevens, Donoghue. Plants Systematics, A. phylogenetics Approach. 2da edición - Massachusetts Ed. Sinauer Assoc. Inc. Publisher. 2002. Págs.276-277.
17. Scalvenzi L, Yaguache B, Cabrera P, Guerrini A. 2016. Actividad antifúngica in vitro de Aceites Esenciales de *Ocotea quixos* (Lam) Kosterm. Y *Piper aduncum* l. Bioagro. Puyo, Ecuador. 28 (1): 39 -46. 2016
18. Burchellin: Study of bioactivity against *Aedes aegypti*. Oliveira. F., y otros, y otros. 172, 2014, Parasites and Vectors, Vol. 7
19. Noriega P. Aceite foliar de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.: actividad antimicrobiana y antifúngica. 1 Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad (CIVABI), Università di Pavia, Pavia, Italia
20. Mauren Leyva. Actividad repelente de formulaciones del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake (Myrtales: Myrtaceae) en mosquitos. Instituto de medicina tropical, La Habana, Cuba. 2012. Pág. 50 -60
21. Govindarajan M, Sivakumar R (2011) Adulticidal and repellent properties of indigenous plant extracts against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Parasitol Res.
22. Prieto, Juliet A.; Pabón, Ludy C.; Patiño, Óscar J.; Delgado, Wilman A.; Cuca, Luis E. Constituyentes químicos, actividad insecticida y antifúngica de los aceites Esenciales de hojas de dos especies colombianas del género *Ocotea* (LAURACEAE) Revista Colombiana de Química, vol. 39, núm. 2, 2010, pp. 199-209 Universidad. Nacional de Colombia Bogotá, Colombia. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309026684004>
23. Insecticidal activities of the leaf oils of eight *Cinnamomum* species against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Bin Jantan, I., y otros, y otros. 6, 2005, Pharmaceutical Biology, Vol. 43, págs. 526-532.
24. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of some plants native to the West-Central region of Brazil. Garcez, W.S., y otros, y otros. 24, 2009, Bioresource Technology, Vol. 100, págs. 6647-6650.

25. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. Liu, C.H., y otros, y otros. 15, 2006, Bioresource Technology, Vol. 97, págs. 1969-1973.
26. Ortiz Calderon F. Composicion Química y Actividad Biologica de *Ocotea quixos*.colombia. 2014. Disponible en: <https://www.pronatplus.com/congresofitoquimica/index.php>. [En español: visitada el 2 ene 2017]
27. Carlos Chaverri; José F. Ciccío. Essential oil of trees of the genus *Ocotea* (Lauraceae) in Costa Rica. I. *Ocotea brenesii*. Centro de investigaciones de productos Naturales (CIPRONA) Revista de biología tropical vol.53 n.3-4 San José Sep. 2005
28. Phylogeny and historical biogeography of Lauraceae: evidence from the chloroplast and nuclear genomes. Chanderbali, A.S., Werff, H. y Renner, S. 2001, Ann. Missouri Bot. Gard., Vol. 88, págs. 104-134
29. The Global Biodiversity Information. GBIF Backbone Taxonomy. [En línea] 01 de 07 de 2013. [Citado el: 15 de 03 de 2014.] <http://www.gbif.org/species>.
30. Correa Quiroz, Jorge Alberto .Consideraciones fitoquímicas sobre los géneros *Ocotea* y *Licaria* de la familia de las lauráceas. Universidad Nacional de Colombia.1991.Pag.47-80. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1752>.
31. Rohwer, J. G. 1991. Borderline cases between *Ocotea*, *Nectandra*, and *Phoebe* (Lauraceae): The “marginal” species of the *Ocotea helicterifolia*-group, including the *O. Heydeana*-group. Bot. Jahrb. Syst. 112: 365-397.
32. Bernardi, “Lauraceas”. Universidad de los andes. Facultad de ciencias Forestales. Merida, Venezuela. 1962. Pág.: 10-111.
33. García Barriga H. Flora Medicinal de Colombia. Tomo I. Instituto de Ciencias Naturales. Bogotá. 1971
34. Harborne, J.B.Phytochemical Methods. Ed. Chapman Hall U.K 1982.Disponible en: <http://www.springer.com/life%2Bsciences/plant%2Bsciences/book/978-0-412-57260-9>. [En español: visitada el 05 Jul2014]

35. Dabrio, M.V. Cromatografía de gases. -Ed. Alhambra. España 1971.
36. Masada, Yoshiro. Analysis of Essential oil by Chromatography and Mass spectrometry. Editorial Jhon Wiley and Sons. Inc. N. Y. USA. 1965. Disponible en: www.aliexpress.com/ [En español: visitada el 20 Jul 2014]
37. Pybus, David H. The Chemistry of Fragrance. Editorial. Royal Society of chemistry, U.K 1999. Disponible en: www.researchgate.net/profile/Michael_Zviely/publication/228046468_Aroma_Chemicals_II_Hett. [En español: visitada el 31 May 2014]
38. Journal, M. reportado estudio terapéutico aroma, droga psicoactiva que alivia la depresión y la ansiedad en ratones. FASEB 2008.
39. Domínguez, X. Método de investigación Fitoquímica. Ed. Limosa México. 1974
40. Bruneton, Jean. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia Ed. Acribia S.A. España 1991
41. Devling, John P. Personnel communication Perú Botanical S.R.L. Iquitos-Perú 2000. Disponible en: <http://www.docstoc.com/docs/142319305/Conference-Booklet---FSDL>. [En español: visitada el 25 May 2014]
42. López García, Dagoberto, Ríos Armas, Rocío del Carmen. Obtención e Identificación de la Composición Química del Aceite Esencial de Aniba rosaeodora Ducke (Palo de rosa), Por Métodos fisicoquímicos y cromatográficos. Profesional de Químico Farmacéutico. Iquitos, Perú. Universidad nacional de la amazonia peruana. 2013
43. Alberto Marco, J. Química de los Productos Naturales Ed. Síntesis-España 2006.
44. Napralet. Natural Products Alert. Illinois. USA 2005. Disponible en: www.scielo.br/pdf/bjmb/v38n7/v38n7a15.pdf. [En español: visitada el 09 Jul 2014]
45. Styer I. Berg J, Timoczko, J.L. Bioquímica. Ed. Reverte. España 2002.
46. Judd Campbell, Kellogg, Stevens, Donoghue Plants Systematics, Aphylogenetics Approach. Ed. Sinauer Assoc. Inc. Publisher. USA 2002. Disponible en: [http://www.amazon.com/Plant-Systematics-Phylogenetic-Approach - Edition/dp/0878934073](http://www.amazon.com/Plant-Systematics-Phylogenetic-Approach-Edition/dp/0878934073) [En español: visitada el 11 Jul 2014]

47. Karl Zaragoza. Relentes naturales. España 2014. Disponible en www.cof.es/zaragoza/publico/protopica.htm. [En español: visitada el 15 Ene 2017]
48. KIRK, Raymond; OTHMER, Donald. Enciclopedia de tecnología Química. 1° Edición. México: Editorial Uthea, 1961.
49. CARRETERO María Emilia. (2001). Terpenos III: Triterpenos y esteroides. Citada, Septiembre 14, 2006]. Disponible en: <http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011>.
50. McGready R, Hamilton KA, Simpson JA, Cho T, Luxemburger C, Edwards R, Looareesuwan S, White NJ, Nosten F, Lindsay SW. Safety of the insect repellent N,N-diethyl-M-toluamide (DEET) in pregnancy. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65:285- 9
51. Daza Leticia, Natalia Flores. Diseño de un repelente para insectos voladores con base en productos naturales. Licenciado en Farmacia y Química. Medellín, Colombia. Universidad EAFIT.
52. METCALF, C. L. Insectos Destructivos e Insectos Útiles. Sus Costumbres y Control. México: Editorial Continental, 1982.
53. Vila Jato José Luis (Editor). Tecnología farmacéutica Volumen II: Formas farmacéuticas. Editorial Síntesis S.A. Primera reimpresión: mayo 2001. Pág. 331
54. CASTRO, Astrid de. Principios Básicos de Formulaciones Cosméticas. 2° Edición. Caracas: Servicios Gráficos Facultad Farmacia UCV, 1987.
55. HELMAN, José. Farmacotécnica Teórica y Práctica. México: Editorial Continental, 1982.
56. The United States Pharmacopeia. USP 24. The National Formulary NF 19. 2000.
57. Norma Salvadoreña de Estabilidad de Medicamentos. Junta Directiva de la Profesión Químico Farmacéutica. 1998-2000.
58. WHO. Talukder F., Howse P, (1994). Laboratory evaluation of toxic and repellent properties of the pithraj tree, *Aphanamixis polystachya* Wall & 44 Parker, against *Sitophilus oryzae* (L.). *International Journal of Pest Management*, 40(3): 274-279.

ANEXOS

4.1. OTROS RESULTADOS DEL ACEITE ESENCIAL DE *OCOTEA ACIPHYLLA* (NEES) MEZ (CANELA MOENA)

Densidad del aceite esencial

Densidad del aceite esencial = x

Volumen del aceite esencial = 23,4 cm³

Peso del aceite esencial = 22,38 g

$$\text{Densidad} = \frac{\text{Peso}}{\text{Volumen}} = 22,38\text{g}/23,4\text{cm}^3 = 0,956\text{g/cm}^3$$

Rendimiento del aceite esencial aislado de rizomas de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena)

Peso del aceite esencial aislado = 22,38 g

Peso de la muestra utilizada = 865,0 g

Porcentaje de rendimiento = $\frac{22,38\text{g}}{865,0\text{g}} \times 100 = 2,58\%$



UNAP

Herbarium Amazonense – AMAZ
Centro de Investigación
de Recursos Naturales

CONSTANCIA Nº 005-2017-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de La Universidad Nacional De La Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por los bachilleres: **KEWIN RIBETH GUZMÁN RAMÍREZ** y **ENRIQUE LÓPEZ TUESTA**, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; es parte de la tesis titulada: **“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD REPELENTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Ocotea aciphylla* FRENTE A INDIVIDUOS ADULTOS DE *Aedes aegypti*.”**, la cual fue verificada y determinada en este Herbarium Amazonense-AMAZ, CIRNA-UNAP, que a continuación se indica:

Cod. Herbarium	Familia	Nombre científico	Nombre común
035106	LAURACEAE	<i>Ocotea aciphylla</i> (Nees & Mart.) Mez	"moena amarilla, canela muena"

Se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Iquitos 22 de Febrero del 2017

Atentamente,



Blgo. RICHARD HUARANCA ACOSTUPA M.Sc.
Coordinador del Herbarium AMAZ
CIRNA-UNAP

Figura 1. Constancia de identificación taxonómica de la especie vegetal expedida por el herbarium amazonense AMAZ, CIRNA-UNAP.



UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

Informe de resultados: N° 07/2017

Solicitante(s): Enrique López; Kewin Guzmán
Muestra: Aceite esencial CM-UNAP
Análisis: Composición química de aceites esenciales por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
Fecha de recepción: 07 de marzo del 2017
Fecha de entrega de Resultados: 13 de marzo del 2017

Resultados

En las páginas 2 a 4 del presente informe.

Atentamente,

Dra. Rosario Rojas Durán
Unidad de Investigación en Productos Naturales
LID-Laboratorio 209
e-mail: rosario_rojasdurand@upch.pe
Página web: www.uipn-upch.pe
Teléfono: 51-1-3190582 Anexo 2705

Figura 2. Informe de resultados sobre la Composición química del aceite esencial de corteza de *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Canela moena) por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas, expedida por la Universidad Cayetano Heredia.

FOTOS

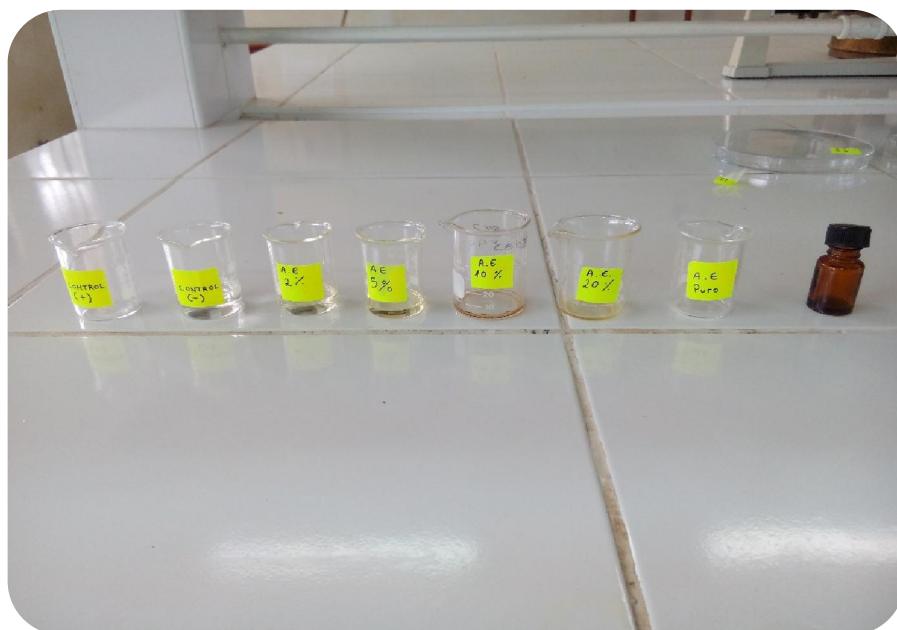


Foto 1. Solución en distintas concentraciones de aceite esencial.



Foto 2. Test de repelencia con solución al 20% de aceite esencial, mostrando su efectividad.



Foto 3. Test de repelencia con solución al 5% de aceite esencial



Foto 4. Destilación del aceite esencial en el laboratorio



Foto 5. Captura de zancudos *Aedes aegypti* con un succionador manual



Foto 6. Serrín de corteza de *Ocotea aciphylla* listo para la extracción.



Foto 7. Filtrado del aceite esencial para separar el sulfato de sodio anhidro



Foto 8. Extracción de aceite esencial de *Ocotea aciphylla* en una planta de campo