

AperTO - Archivio Istituzionale Open Access dell'Università di Torino

**Estudios preliminares de bioactividad del aceite esencial de Baccharis trimera (Less.) DC.**

**This is the author's manuscript**

*Original Citation:*

*Availability:*

This version is available <http://hdl.handle.net/2318/1980890> since 2024-06-01T21:37:58Z

*Terms of use:*

Open Access

Anyone can freely access the full text of works made available as "Open Access". Works made available under a Creative Commons license can be used according to the terms and conditions of said license. Use of all other works requires consent of the right holder (author or publisher) if not exempted from copyright protection by the applicable law.

(Article begins on next page)

Manuel Minteguiaga<sup>1,2\*</sup>, Eduardo Dellacassa<sup>2</sup>; César A.N. Catalán<sup>3</sup>; Carsten Gründemann<sup>4</sup>; Marta Pavarino<sup>5</sup>; Barbara Sgorbini<sup>5</sup>; Manuel Garcia-Käuffer<sup>6</sup>

manuel.minteguiaga@pedeciba.edu.uy



1. Espacio de Ciencia y Tecnología Química, Centro Universitario Regional Noreste, Universidad de la República, Tacuarembó, Uruguay.
2. Laboratorio de Biotecnología de Aromas, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
3. IINQUINOA-CONICET, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán (Argentina).
4. Translational Complementary Medicine, Department of Pharmaceutical Sciences, University of Basel, Basilea, Suiza.
5. Department of Drug Science and Technology, University of Turin, Turin, Italia.
6. Institute for Infection Prevention and Control, Medical Center, University of Freiburg, Friburgo, Alemania.

## Introducción y Objetivo

*Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae; "carqueja"; Figura 1) es una de las plantas medicinales sudamericanas de mayor uso, bajo la forma de infusiones, para el tratamiento de malestares hepato-gástricos [1]. Sin embargo, la bioactividad de su aceite esencial (AE; obtenido de las partes aéreas, o cladodios) ha sido poco investigada, aunque al menos uno de sus componentes característicos es bioactivo (carquejol, con propiedades antipiréticas y analgésicas) [2]. En estudios previos, nuestro grupo de investigación ha establecido la composición química del AE de la especie en varias localidades de Uruguay y en diferentes estados fenológicos, así como se realizó un pormenorizado análisis de las estructuras vegetales responsables por la biosíntesis y almacenamiento de este tipo de componentes [3,4]. Además, se realizaron estudios computacionales sobre los principales monoterpenos irregulares que componen el AE (acetato de carquejilo, carquejol y carquejifenol; Figura 2), de manera de predecir las posibilidades de interacción biológica con dianas moleculares [5-7]. En este nuevo estudio, el objetivo fue evaluar preliminarmente la actividad citotóxica y antiproliferativa en modelos *in vitro* del AE frente a una línea celular cancerígena, y realizar ensayos de inhibición enzimática (tirosinasa). De esta manera, contribuyendo a la investigación sobre las propiedades bioactivas de esta especie, y la validación de su empleo como medicinal.

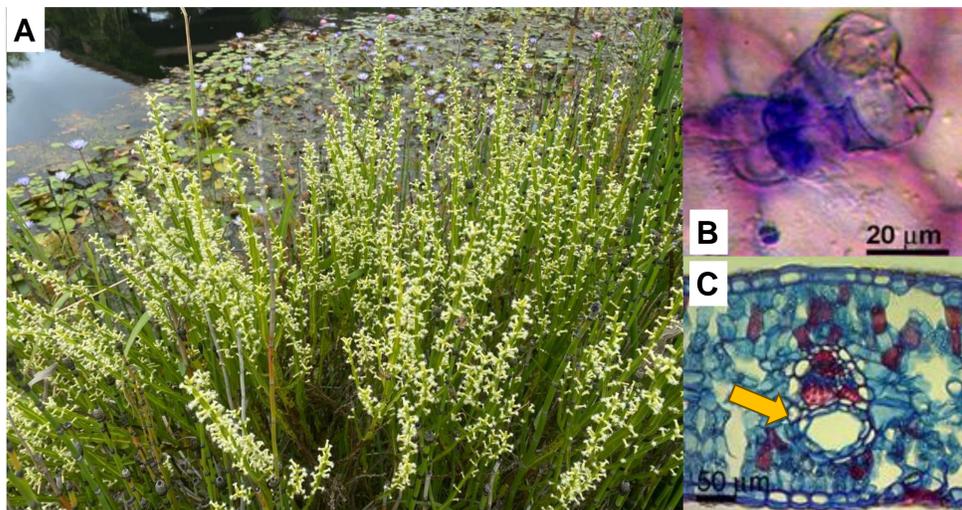


Figura 1: (A) Porte de *B. trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) en estado de floración (foto: M. Galeano). (B) y (C) Tricoma glandular y canal esquizógeno (flecha indicativa; respectivamente) de los cladodios de *B. trimera*; ambas estructuras almacenan aceites esenciales y fueron caracterizadas en nuestro trabajo previo [4].

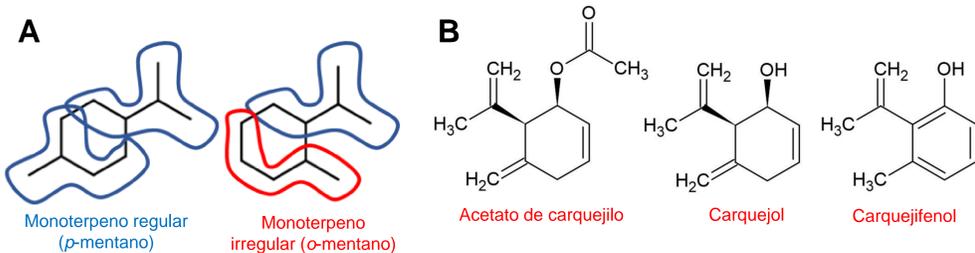


Figura 2: (A) Diagrama indicando las diferencias entre los esqueletos de los monoterpenos regulares monocíclicos (*p*-mentano) y los monoterpenos irregulares monocíclicos (*o*-mentano) presentes en el AE de *B. trimera*. (B) Estructura de los monoterpenos irregulares mayoritarios del AE de *B. trimera*, (acetato de carquejilo, carquejol y carquejifenol).

## Materiales y Métodos

El AE fue extraído de los cladodios de *B. trimera* (estado vegetativo; origen: Tacuarembó, Uruguay) por destilación con arrastre por vapor, en una unidad a escala piloto. La composición química del mismo fue analizada por GC-MS empleando dos fases estacionarias de poca polaridad (Rxi-1MS y MEGA-5MS; dimensiones de columna: 30 m x 0,25 mm d.i. x 0,25  $\mu$ m). En la Figura 3 se presentan los perfiles de composición en la fase MEGA-5MS. Las evaluaciones de bioactividad se realizaron por colorimetría, siguiendo protocolos previamente publicados [8-10]. El efecto del AE frente a una línea celular de cáncer de pulmón (A549, epitelio alveolar; dosis: 0-3,0  $\mu$ L/mL) se evaluó por detección de la enzima lactato deshidrogenasa extracelular (LDH; actividad citotóxica) y mediante la capacidad de reducir a la sal de diazonio WST (actividad antiproliferativa) [8,9]. La inhibición por el AE de la tirosinasa de *Agaricus bisporus* (modelo con alta homología de la tirosinasa humana) se midió por diferencia de absorbancia ( $\lambda$  475 nm; 166,7  $\mu$ g/mL), luego de adicionar *L*-tirosina como sustrato [10].

## Referencias:

- [1] Rabelo & Costa, 2018. A review of biological and pharmacological activities of *Baccharis trimera*. *Chem. Biol. Interact.*, 296: 65-75.
- [2] Naves & Caujolle, 1963. Therapeutic *d*-ortho-menthatriene-1(7),5,8-ol-3. *US Patent*. 3112245.
- [3] Minteguiaga et al., 2015. ¿Es el acetato de carquejilo un quimiomarcador válido para las «carquejas» *Baccharis* sect. Caulopterae (Asteraceae)? *Lilloa*, 52(S): 62-64.
- [4] Minteguiaga et al., 2018. Morphoanatomy and essential oil analysis of *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) from Uruguay. *Ind. Crops Prod.*, 112: 488-498.
- [5] Minteguiaga et al., 2017. A structural and spectroscopic study on carquejol, a relevant constituent of the medicinal plant *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae). *J. Molec. Struct.*, 1150: 8-20.
- [6] Minteguiaga et al., 2018. Synthesis, spectroscopic characterization and structural study of 2-isopropenyl-3-methylphenol, carquejifenol, a carquejol derivative with potential medicinal use. *J. Molec. Struct.*, 1165: 332-343.
- [7] Minteguiaga et al., 2019. FT-IR, FT-Raman, UV-Vis, NMR and structural studies of carquejyl acetate, a distinctive component of the essential oil from *Baccharis trimera* (less.) DC. (Asteraceae). *J. Molec. Struct.*, 1177: 499-510.
- [8] Kumar et al., 2018. Analysis of Cell Viability by the Lactate Dehydrogenase Assay. *Cold Spring Harb. Protoc.*, 2018(6).
- [9] Prábst et al., 2017. Basic Colorimetric Proliferation Assays: MTT, WST, and Resazurin. *Methods Mol. Biol.*, 1601: 1-17.
- [10] Capetti et al., 2021. Citral-Containing Essential Oils as Potential Tyrosinase Inhibitors: A Bio-Guided Fractionation Approach. *Plants*, 10: 969.

## Resultados y Discusión

El AE mostró una importante abundancia de monoterpenos irregulares, entre ellos acetato de carquejilo (19,5%) y carquejol (9,6%) (Figura 3). Además, otros componentes mayoritarios fueron terpenos regulares como el palustrol (11,5%),  $\beta$ -pineno (4,8%), y  $\beta$ -elemeno (4,5%).

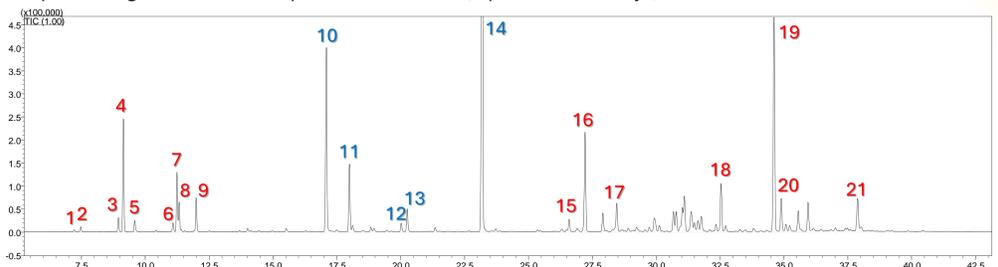


Figura 3: Perfil de composición química por GC-MS del AE de *B. trimera* en la fase estacionaria MEGA-5MS (diluido 1:200 en ciclohexano) En rojo se presentan los terpenos regulares y en azul los irregulares. Marcadores seleccionados: 1.  $\alpha$ -tuyeno; 2.  $\alpha$ -pineno; 3. sabineno; 4.  $\beta$ -pineno; 5. mirceno; 6. *p*-cimeno; 7. limoneno; 8.  $\beta$ -felandreno; 9. *trans*- $\beta$ -ocimeno; 10. carquejol; 11. carquejifenol; 12. y 13. cetonas derivadas de carquejol (estructuras no definidas); 14. acetato de carquejilo; 15.  $\alpha$ -copaeno; 16.  $\beta$ -elemeno; 17. *trans*- $\beta$ -cariofileno; 18.  $\delta$ -cadineno; 19. palustrol; 20. espatuleno; 21.  $\alpha$ -elemol. Condiciones experimentales: flujo (He): 1,0 mL/min; volumen de inyección: 1,0  $\mu$ L; Split: 1:20; programación de temperaturas en el horno cromatográfico: 50°C (1 min)-3°C/min-250°C (5 min); temperatura de inyección e interfase: 250°C y 280°C (respectivamente); rango de barrido de masas: 35-350 u.m.a.

De acuerdo con los resultados presentados en las Figuras 4 y 5, el AE de *B. trimera* fue citotóxico y antiproliferativo frente a la línea celular cancerígena A549 de epitelio alveolar [ $IC_{50}$  (WST-1): 0,19  $\mu$ L/mL], a diferencia de AEs de otras especies empleadas como control que fueron menos bioactivos [ $IC_{50}$ : 0,41  $\mu$ L/mL y 0,80  $\mu$ L/mL para *L. molleoides* y *R. officinalis*, respectivamente].

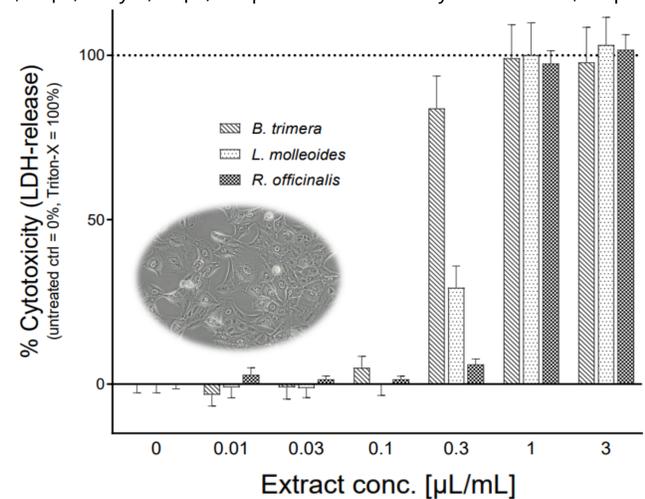


Figura 4: Perfil de actividad citotóxica del AE de *B. trimera* comparado con otros (*Lithraea molleoides*, Anacardiaceae; *Rosmarinus officinalis*, Lamiaceae) frente a la línea cancerígena A549 en donde se puede ver claramente el carácter citotóxico a 0,3  $\mu$ L/mL y concentraciones superiores. Imagen de la línea celular A549 obtenida de: [www.civibio.com](http://www.civibio.com)

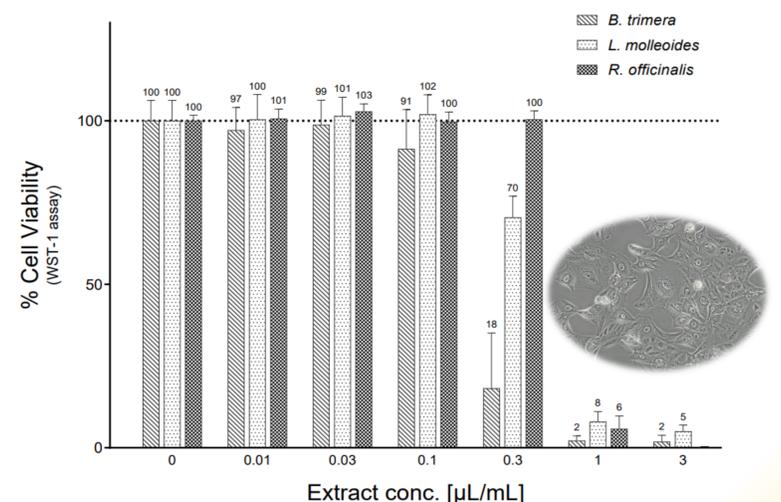


Figura 5: Perfil de actividad antiproliferativa del AE de *B. trimera* comparado con otros (*Lithraea molleoides*, Anacardiaceae; *Rosmarinus officinalis*, Lamiaceae) frente a la línea cancerígena A549 en donde se puede ver claramente el carácter antiproliferativo a 0,3  $\mu$ L/mL y concentraciones superiores. Imagen de la línea celular A549 obtenida de: [www.civibio.com](http://www.civibio.com)

No se observó inhibición de la enzima tirosinasa por parte del AE de *B. trimera* a la concentración ensayada, lo que la diferencia de otras plantas aromáticas bioactivas como *Cymbopogon schoenanthus* (Poaceae), *Litsea cubeba* (Lauraceae) y *Melisa officinalis* (Lamiaceae) [10].

## Conclusiones y Perspectivas

Los resultados preliminares obtenidos en este trabajo indican bioactividad citotóxica y antiproliferativa del AE de *B. trimera* contra una línea celular cancerígena de epitelio alveolar, lo que suscita el interés de evaluar su potencial medicinal mediante la profundización de sus mecanismos de acción en ensayos de genotoxicidad e inmunomodulación (en curso). Se prevé evaluar la bioactividad de los constituyentes individuales, particularmente de los monoterpenos irregulares.

## Agradecimientos:

Andrés Berrutti (Vivero "Santa María", Tacuarembó) por proporcionar la muestra de aceite esencial evaluado. Se agradece a las diferentes instituciones que facilitaron la realización de este estudio: ANII (beca MOV\_CA\_2021\_1\_171508), SNI-ANII y PEDECIBA.