

## Detección por método híbrido de compuestos bioactivos presentes en las hojas de romero y lavanda y su potencial aplicación en medicina

### Resumen

En el presente trabajo se utilizó el método híbrido (ultrasonido/microondas) para la extracción de los compuestos bioactivos de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. Con la extracción se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 19,84% para *Lavandula officinalis* L. y de 20,91% para *Salvia rosmarinus* L. Por medio de espectroscopía de infrarrojo (FTIR-ATR) y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas (HPLC-MS), se lograron extraer compuestos bioactivos de las muestras de las plantas como el ácido rosmarínico, el medioresinol y el ácido cafeico, los cuales tienen diversas aplicaciones dentro del área de la medicina. Además, se observó que los extractos poseen propiedades antibacterianas frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y que tienen la capacidad de inhibir radicales libres de DPPH y ABTS. Finalmente, se comprobó con un ensayo de viabilidad celular *in vitro* que los extractos no son tóxicos frente a la línea celular de médula ósea de cerdo.

## Detection by hybrid method of bioactive compounds present in rosemary and lavender leaves, and their potential application in medicine

### Abstract

In this study, a hybrid method (ultrasound/microwave) was used to extract bioactive compounds from *Lavandula officinalis* L. and *Salvia rosmarinus* L. A percentage yield of 19.84 % was obtained for *Lavandula officinalis* L., and 20.91 % for *Salvia rosmarinus* L. Using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR) and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS), bioactive compounds such as rosmarinic acid, medioresinol, and caffeic acid were extracted from the plant samples, all of which have diverse applications in medicine. Furthermore, the extracts were found to possess antibacterial properties against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and to inhibit DPPH and ABTS free radical. Finally, an *in vitro* cell viability assay confirmed that the extracts are non-toxic to the porcine bone marrow cell line.

## Deteção por método híbrido de compostos bioativos presentes nas folhas de alecrim e alfazema e seu potencial aplicação na medicina

### Resumo

Neste trabalho, o método híbrido (ultrassom/micro-ondas) foi utilizado para a extração de compostos bioativos de *Lavandula officinalis* L. e *Salvia rosmarinus* L. A extração resultou em um rendimento de 19,84% para *Lavandula officinalis* L. e 20,91% para *Salvia rosmarinus* L. Utilizando espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR-ATR) e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HPLC-MS), compostos bioativos como ácido rosmarínico, medioresinol e ácido cafeico foram extraídos das amostras vegetais, os quais possuem diversas aplicações na área da medicina. Além disso, o extrato apresentou propriedades antibacterianas contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, e inibiram os radicais livres DPPH e ABTS. Por fim, um ensaio de viabilidade celular *in vitro* confirmou que os extrato não são tóxicos para a linhagem celular de medula óssea suína.

**Palabras clave:** muestras vegetales; viabilidad celular; extractos medicinales.

**Keywords:** Plant sample; cell viability; medicinal extracts.

**Palavras-chave:** amostras de plantas; viabilidade celular; extratos medicinais.

## Introducción

En la actualidad es común el empleo y consumo de plantas medicinales como remedio natural. Pero en muchas ocasiones se ignora el principio activo que posee los beneficios medicinales de la planta [1, 2]. Existen diferentes tipos de plantas que poseen propiedades medicinales, dentro de las cuales se encuentran *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L., conocidas coloquialmente como lavanda y romero, respectivamente [3–5]. Estas plantas pertenecen a la familia Lamiaceae y poseen compuestos bioactivos de interés médico como terpenos fenólicos, polifenoles, ácidos hidroxicinámicos, ácidos metoxicinámicos y algunos lignanos. Los cuales son los responsables de las propiedades antibacterianas, antioxidantes y anticancerígenas que se ha reportado que poseen estas plantas [6, 7].

Estos compuestos bioactivos son extraídos comúnmente por métodos convencionales como la hidrodestilación, maceración o Soxhlet [8] que, a pesar de ser técnicas eficientes, presentan desventajas: requieren tiempos largos de extracción y se corre el riesgo de degradar los compuestos bioactivos presentes en la planta [9–12]. Debido a esto, en la actualidad se han comenzado a buscar alternativas que mejoren esas desventajas, lo que se busca es lograr extraer estos compuestos bioactivos con metodologías que sean amigables con el medio ambiente y que no sean destructivas ni costosas, esto ha dado como resultado la innovación de métodos no convencionales, conocidos comúnmente como “métodos verdes”.

Los métodos verdes evitan el uso de disolventes extractores tóxicos y con su uso se obtienen mayores porcentajes de rendimiento en un menor tiempo de extracción, en comparación con los métodos convencionales. Además, son métodos que no impactan negativamente el medio ambiente porque los disolventes extractores no representan un riesgo ni para la salud ni para el medio ambiente, también se reduce el consumo energético debido a que los tiempos de extracción son menores [13, 14]. Dentro de los principales métodos no convencionales o métodos verdes se encuentran el ultrasonido y el microondas [15, 16].

El método más empleado en la actualidad es la asistencia con sonoquímica, la cual, por medio de la propagación de ondas a altas frecuencias, fomenta la formación y ruptura de burbujas provocadas por la cavitación [17, 18]. Por su parte, el microondas se basa en la interacción que genera la radiación y temperatura con la matriz de la muestra, desencadenando una serie de efectos físicos y químicos que mejoran la eficiencia de la extracción [19].

Una combinación de los métodos anteriores crea un método híbrido (ultrasonido/microondas) que provoca una interacción entre el fenómeno de cavitación del ultrasonido y la temperatura del microondas [20]. Es por esto que en el presente trabajo de investigación se propone la extracción de compuestos bioactivos de las hojas secas de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. empleando el método híbrido. El objetivo es caracterizar los compuestos bioactivos obtenidos por este método, evaluar sus porcentajes de rendimiento y sus propiedades biológicas.

## Materiales y métodos

### Recolección y extracción de compuestos bioactivos de las hojas secas de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L.

El material vegetal fue recolectado en el mes de junio de 2024 en Saltillo, Coahuila, México. Las hojas de *Salvia rosmarinus* L. se tomaron de una planta de 1,2 m de altura y las de *Lavandula officinalis* L. de una planta de aproximadamente 64 cm de altura. Posteriormente fueron lavadas y llevadas a una estufa a 35 °C por 3 días. Finalmente se realizó una molienda del material seco.

La extracción se llevó a cabo en un equipo híbrido (Ultrasonic Microwave Cooperative Workstation, modelo XO-SM400). Se colocaron 100 g de material vegetal en un reactor junto con 1000 mL de etanol (Jalmek, 100% de pureza) a una temperatura de 70 °C por 25 min y a una potencia de 800 W. Primero se realizó el tratamiento de microondas por 5 min y posteriormente el de ultrasonido por 20 min. Transcurrido el tiempo, el extracto fue rotavevaporado y el sobrenadante se dejó secando a temperatura ambiente por 4 días.

Una vez obtenidos los extractos sólidos de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L., fueron caracterizados por espectroscopía de infrarrojo (FTIR-ATR) y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas (HPLC-MS), después se evaluaron sus propiedades antioxidantes, antibacterianas y de viabilidad celular frente a células de medula ósea de cerdo.

### Espectroscopía de infrarrojo (FTIR-ATR)

Esta prueba se realizó en un espectrofotómetro IR Spectrum GX-Perkin-Elmer empleando la técnica de reflexión total atenuada (ATR) con un aditamento de punta de diamante.

### Cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas (HPLC-MS)

Los extractos de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. se analizaron por HPLC-MS (Varian ProStar 330) con detector de matriz de diodos (280 nm) para identificar los diferentes compuestos bioactivos que se encuentran presentes en las hojas de *Lavandula officinalis* L. Se utilizó un gradiente de ácido acético al 0,1% en agua (A) y acetonaítrilo (B) como eluyente, que contenía de 5 a 10% de agua que aumentaba progresivamente. La separación de los compuestos se realizó en una columna C-18 Grace Denalic con diámetro interno de 4,6 mm y 2,1 mm, con longitud de 100 mm, 150 mm y 250 mm, y con tamaño de partícula de 5 µm. Para el análisis de masas se empleó un equipo de trampa de iones Varian 500-MS.

### Evaluación antioxidant

Se emplearon dos técnicas diferentes para medir la capacidad que tienen los compuestos bioactivos de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. de captar radicales libres: una con 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y otra con ácido 2,2'-azino-bis-3-etylbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS). Para ello se realizaron diluciones 1:1 en etanol del extracto.

### Captación de radicales libres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Para la preparación del reactivo DPPH, se pesaron 1,18 mg de DPPH y se mezclaron con 50 mL de etanol. Posteriormente se añadieron 190 µL del reactivo DPPH en una microplaca y 10 µL de la dilución del extracto, se dejó reposar por 30 min en la oscuridad para finalmente leerlo en un espectrofotómetro a una absorbancia de 517 nm. Para el control se usó una solución concentrada de ácido ascórbico en solución acuosa. El ensayo se realizó por triplicado.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{Absorbancia control} - \text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia control}} \times 100 \quad (1)$$

### Captación de radicales libres ácido 2,2'-azino-bis-3-etylbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS)

En esta técnica, se prepararon dos reactivos en cantidades iguales 1:1. Para el primero se pesaron 18 mg de ABTS y se colocaron en 5 mL de agua. Para el segundo se pesaron 3,31 mg de persulfato de potasio y se colocaron en 5 mL de agua. Posteriormente se mezclaron ambos reactivos y se dejaron reposando por 16 h en la oscuridad.

dad. Transcurrido el tiempo, se colocaron 190  $\mu\text{L}$  del reactivo ABTS en una microplaca junto con 10  $\mu\text{L}$  de la dilución de los diferentes extractos, la cual se dejó a una temperatura de 25 °C por 30 min, para finalmente leer a una absorbancia de 734 nm.

El porcentaje de inhibición del radical ABTS se calculó con la fórmula descrita anteriormente. Cada muestra se realizó por triplicado y se realizaron curvas de calibración para cada una de las diferentes técnicas.

### Evaluación de actividad antibacteriana

Las cepas empleadas fueron de *Escherichia coli* (Gram negativo) y *Staphylococcus aureus* (Gram positiva). Estos microorganismos fueron seleccionados debido a su amplia aplicación en medicina para evaluar la actividad biológica de los diferentes compuestos de interés. Además, son dos diferentes grupos de bacterias que responden de manera distinta a los compuestos bioactivos de las plantas. Las cepas fueron cultivadas en caldo nutritivo estéril por 48 h a 37 °C, una vez listas se prepararon pastillas de los diferentes extractos con diámetro de 5 mm.

El método que se empleó fue el de difusión en agar, en donde se sembraron por estriado cajas Petri de agar nutritivo con las dos diferentes bacterias por separado. De cada extracto se realizaron tres repeticiones, con un control positivo sin exposición, solo la bacteria y un testigo de antibiótico.

### Ensayo de viabilidad celular

A 100 mg de extracto de cada planta se le colocó 100  $\mu\text{L}$  de células de médula ósea de cerdo y se incubó durante 48 h en una microplaca a 37 °C. Posterior al tiempo de incubación, se añadieron 20  $\mu\text{L}$  de sal bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) y se incubó durante 3 h, después se disolvieron los cristales con 1 mL de isopropanol y se leyeron en un lector de placas a 570 nm. Se realizaron tres réplicas para cada extracto. Para el control de células, se colocaron 100  $\mu\text{L}$  y 100  $\mu\text{L}$  de solución salina tamponada con fosfato 1X (PBS-1X) y se prosiguió con la metodología descrita. Esta técnica colorimétrica se basa en la reducción de la sal de MTT (color amarillo) a cristales de formazán (color púrpura) metabolizado por las células activas. Los resultados se analizaron con el programa Prism Graph utilizando ANOVA con un valor de  $p < 0,05$ .

## Resultados y discusión

### Recolección y extracción de compuestos bioactivos de las hojas secas de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L.

Una vez finalizado el proceso de extracción con el etanol, seguido de la rotaveparación, se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 19,84% para el extracto de *Lavandula officinalis* L. y de 20,91% para el sólido de *Salvia rosmarinus* L. Campos y Santa Cruz también trajeron metabolitos secundarios de las hojas secas de *Salvia Rosmarinus* L, para ello pesaron 200 g de hojas secas y las colocaron en 800 mL de etanol, el método de extracción que emplearon fue el de maceración durante 15 días y obtuvieron un porcentaje de rendimiento de 13,5% [21]. Con esto queda demostrando que al emplear métodos de extracción no convencionales se optimiza el proceso, debido a que se obtienen mayores porcentajes de rendimiento en un menor tiempo de extracción; además, el método es fácilmente escalable a nivel planta piloto [12].

El método de extracción y el disolvente son los principales factores que influyen en el porcentaje de rendimiento y en los metabolitos secundarios que se logran obtener [22]. En el presente trabajo se empleó como disolvente extractor el etanol porque es el más eficaz para extraer compuestos bioactivos o compuestos fenólicos, debido a su polaridad y su afinidad por moléculas orgánicas polares [23].

### Espectroscopía de infrarrojo (FTIR-ATR)

Esta caracterización se realizó con la finalidad de identificar los diferentes grupos funcionales que están presentes en los compuestos bioactivos de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. En la figura 1 se presentan los espectros de FTIR-ATR de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. Se observa que en ambos espectros se presentan bandas similares, esto se debe a que poseen compuestos bioactivos similares.

En 3368  $\text{cm}^{-1}$  se encuentran bandas que corresponden a los estiramientos del enlace O-H, los cuales provienen de alcoholes o ácidos carboxílicos unidos a anillos aromáticos; en 2928  $\text{cm}^{-1}$  se observan las vibraciones del metilo -CH<sub>3</sub> estiramiento asimétrico; en 2855  $\text{cm}^{-1}$  se encuentran bandas características de las vibraciones del grupo metileno -CH<sub>2</sub> estiramiento simétrico; las bandas en 1691  $\text{cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento del enlace carbonilo C=O presente en ácidos carboxílicos, esteres y cetonas; y en 1460  $\text{cm}^{-1}$  se encuentran las torsiones del enlace C-H. Estos resultados concuerdan con los reportados por Várban et al. [24], quienes extrajeron aceite esencial de lavanda por destilación y encontraron bandas provenientes de enlaces O-H, C=O y C-H.

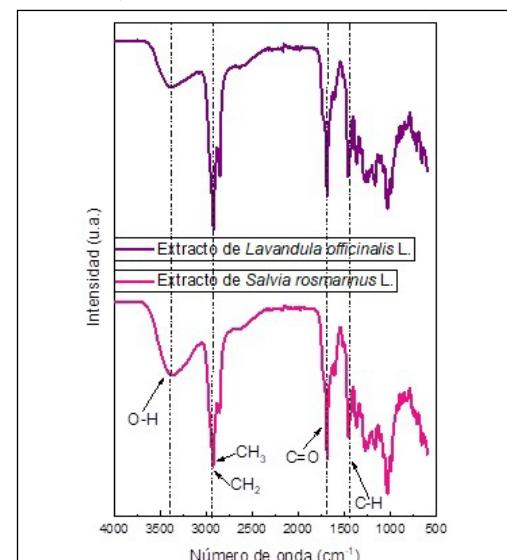


Figura 1. Espectros de FTIR-ATR de los extractos de *Salvia rosmarinus* L. y *Lavandula officinalis* L. obtenidos por método híbrido.

### Cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas (HPLC-MS)

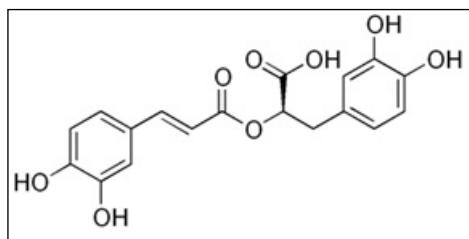
El análisis de los compuestos bioactivos presentes en cada uno de los extractos se llevó a cabo mediante HPLC-MS, la identificación de los distintos compuestos que se lograron extraer se encuentra en la tabla 1, allí se presentan los tiempos de retención, la masa y la familia de cada compuesto. Como se puede observar, se confirmó la presencia de ácidos metoxicinámicos, ácidos hidroxixinámicos, flavonoides, terpenos fenólicos y algunos lignanos. El compuesto más abundante en ambos extractos fue el ácido rosmárico, el cual presentó un tiempo de retención de 37 min para *Salvia rosmarinus* L. y *Lavandula officinalis* L. y una masa de 358,7 m/z.

También se lograron extraer compuestos como el rosmanol, carnosol y medioresinol. Se ha demostrado que estos compuestos son los responsables de las propiedades antioxidantes y antibacterianas que posee el extracto en crudo de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. Rota et al., en 2019, realizaron la identificación de metabolitos secundarios por HPLC-MS del aceite esencial de *Lavandula luisieri*, obtenido por hidrodestilación, y encontraron metabolitos como el ácido rosmárico, el ácido ursólico y el ácido oleanólico [25]. Por su parte, Franco et al. lograron extraer ácido rosmárico en un tiempo de retención de 36,37 min a partir de un extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* L. [26].

**Tabla 1.** Compuestos bioactivos identificados por cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas (HPLC-MS) en los extractos de *Salvia rosmarinus L.* y *Lavandula officinalis L.*

Extracto	Tiempo de retención (min)	Masa (m/z)	Compuesto	Familia
<i>Salvia rosmarinus L.</i> , obtenido por método híbrido	5,25	340,9	Ácido cafeico 4-O-glucósido	Ácidos hidroxicinámicos
	21,19	325,0	Ácido ferulyl tartárico	Ácidos metoxicinámicos
	23,68	387,0	Medioresinol	Lignanos
	37,26	358,7	Ácido rosmarínico	Ácidos hidroxicinámicos
	44,13	344,8	Rosmanol	Terpenos fenólicos
	46,91	268,9	Apigenina	Flavonoides
	48,35	328,9	Carnosol	Terpenos fenólicos
<i>Lavandula officinalis L.</i> , obtenido por método híbrido	6,70	340,9	Ácido cafeico 4-O-glucósido	Ácidos hidroxicinámicos
	8,46	343,2	5-O-galoilquínico	Ácidos hidroxibenzoicos
	21,24	387,0	Medioresinol	Lignanos
	27,24	325,0	Ácido ferulyl tartárico	Ácidos metoxicinámicos
	29,12	354,9	Ácido ferúlico 4-O-glucósido	Ácidos metoxicinámicos
	32,68	327,0	p-Cumaroyl tirosina	Ácidos hidroxicinámicos
	41,40	352,9	Ácido 1-cafeoilquínico	Ácidos hidroxicinámicos
	42,48	358,7	Ácido rosmarínico	Ácidos hidroxicinámicos

Uno de los compuestos bioactivos que se extrajo en mayor proporción de ambas plantas fue el ácido rosmarínico (**figura 2**). En su estructura presenta diversos grupos funcionales entre los que se destacan los alcoholes, ácidos carboxílicos, anillos aromáticos y cetonas, de los cuales se lograron observar los picos característicos en los espectros de FTIR-ATR. Este compuesto es uno de los principales responsables de las propiedades antimicrobianas y antioxidantes que poseen las plantas de *Salvia rosmarinus L.* y *Lavandula officinalis L.*; además, también actúa de manera sinérgica con el resto de los compuestos bioactivos para potenciar todas esas propiedades. Ambas plantas pertenecen a la misma familia por lo que es común encontrar una similitud en los compuestos que se extrajeron por HPLC-MS.

**Figura 2.** Estructura química del ácido rosmarínico.

### Evaluación antioxidant

El estrés oxidativo es la producción de especies reactivas de oxígeno y una manera de prevenir el daño oxidativo es el empleo de antioxidantes. La capacidad antioxidant de *Lavandula officinalis L.* y *Salvia rosmarinus L.* ha sido objeto de estudio, se han utilizado diversas pruebas entre las que se encuentran DPPH, ABTS, FRAP, entre otras [27].

En el presente estudio se utilizaron dos técnicas para evaluar la capacidad antioxidant de los extractos, que fueron DPPH y ABTS, las cuales se fundamentan en la capacidad que tienen los antioxidantes para actuar como captadores de radicales libres. En la **tabla 2** se

muestran los porcentajes de inhibición. En la técnica de DPPH, al colocar el reactivo, hubo un cambio de coloración de morado a amarillo, y en la técnica de ABTS hubo un cambio de color de amarillo a celeste.

Para el extracto de *Salvia rosmarinus L.* se obtuvieron porcentajes de inhibición de 88,99 y 98,77% para DPPH y ABTS, respectivamente. Mientras que para el extracto de *Lavandula officinalis L.* se obtuvieron porcentajes de 58,45% para DPPH y de 64,72% para ABTS. Esto demuestra que ambas plantas presentan propiedades antioxidantes al comparar con el estándar de ácido ascórbico que tiene un 100% de inhibición de radicales libres. Ambos extractos presentaron propiedades antioxidantes, debido a que se obtuvieron porcentajes de inhibición superiores al 50% y se demostró que son capaces de neutralizar radicales ABTS y DPPH.

**Tabla 2.** Porcentajes de inhibición de radicales DPPH y ABTS que presentan los extractos de *Salvia rosmarinus L.* y *Lavandula officinalis L.*

Extracto	DPPH (% inhibición)	ABTS (% inhibición)
<i>Salvia rosmarinus L.</i> , obtenido por método híbrido	88,99	98,77
<i>Lavandula officinalis L.</i> , obtenido por método híbrido	58,45	64,72

Los compuestos fenólicos presentes en los extractos son capaces de interactuar con radicales DPPH y ABTS que conducen a la terminación de la reacción de radicales libres. Los fitoquímicos, ricos en grupos hidroxilos, donan electrones para neutralizar los radicales DPPH y ABTS [22]. El uso de métodos alternativos como el método híbrido para la extracción de compuestos bioactivos permite obtener cantidades significativas de estos compuestos en un menor tiempo.

## Evaluación de actividad antibacteriana

Los extractos de *Rosmarinus officinalis* L. y *Lavandula officinalis* L. demostraron actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. En la figura 3 se muestra el gráfico en donde se comparan los halos de inhibición que se obtuvieron para cada extracto frente a cada uno de los diferentes patógenos. Para el extracto de *Salvia rosmarinus* L. se produjeron halos de 15 y 13 mm frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, respectivamente. Mientras que para el extracto de *Lavandula officinalis* L. se encontraron halos de 11 mm frente a *Staphylococcus aureus* y de 9 mm para *Escherichia coli*. Al comparar los halos de inhibición de los extractos con los del antibiótico se concluye que los compuestos bioactivos que se encuentran presentes en las hojas secas de *Salvia rosmarinus* L. y *Lavandula officinalis* L. poseen propiedades antibacterianas frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, esto demuestra que son excelentes candidatos para aplicaciones en el área de medicina.

Estos resultados concuerdan con los reportados por Mahgoub et al. [28], quienes obtuvieron un extracto de *Salvia rosmarinus* L. empleando agua y etanol al 98% como disolventes extractores y evaluaron sus propiedades frente a diferentes patógenos con tres concentraciones (200, 400 y 800 µg/mL). En su investigación observaron una zona de inhibición más alta en la concentración de 800 µg/mL en comparación con las concentraciones más bajas, probablemente debido a una mayor abundancia de flavonoides y compuestos fenólicos en los extractos etanólicos en comparación con los acuosos. Finalmente encontraron que la planta de *Salvia rosmarinus* L. presenta actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, con zonas de inhibición mayores a 12 mm, mientras que la *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enterica* tuvieron zonas de inhibición mayores de 10 mm a una concentración baja (200 µg/mL).

El comportamiento de la actividad antibacteriana que presentan los compuestos bioactivos se asocia a su capacidad de inhibir procesos enzimáticos que pueden interferir en la respiración mitocondrial celular. Esto se produce por el proceso de transferencia de átomos de oxígeno, capaz de modular la formación de especies reactivas de oxígeno. Específicamente la actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* sugiere la interacción del compuesto bioactivo con el peptidoglicano presente en la membrana externa, permitiendo la formación de complejo y promoviendo la desestabilización de la permeabilidad de la bacteria [29]. Por otro lado, los halos de inhibición fueron menores frente a *Escherichia coli* y esto se debe a que este patógeno es Gram negativa y cuenta con una capa en su pared celular más compleja, conformada por lipopolisacáridos, un espacio periplásмico y una membrana citoplasmática [30].

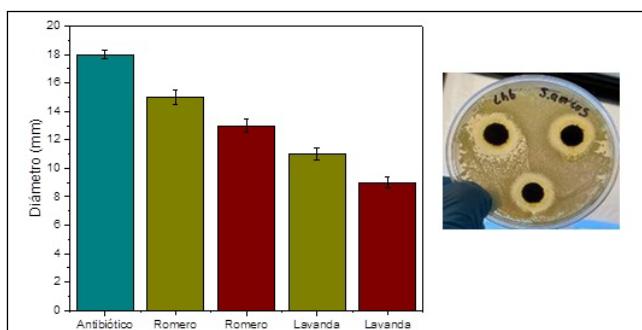


Figura 3. Gráfico y fotografía de halos de inhibición de los extractos de *Salvia rosmarinus* L. y *Lavandula officinalis* L. frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. En el eje y se sustituyó halo de inhibición (mm) por diámetro (mm).

## Ensayo de viabilidad celular

La viabilidad celular con MTT se evaluó in vitro en células de médula ósea de cerdo. Los extractos fueron evaluados a una concentración de 100 µg/mL. El gráfico presentado en la figura 4 muestra el análisis

sis de los extractos obtenidos de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. para el ensayo de MTT. Se puede observar que el control celular (+) tiene una viabilidad del 99%, mientras que los extractos presentan una viabilidad de 95%; sin embargo, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las repeticiones. Por lo tanto, el extracto de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. obtenido por método híbrido no presenta toxicidad en células de médula ósea de cerdo al comparar con los parámetros de la norma ISO 10993-5, la cual nos indica que cualquier material que alcancen un porcentaje de viabilidad por arriba del 70% no presenta toxicidad.

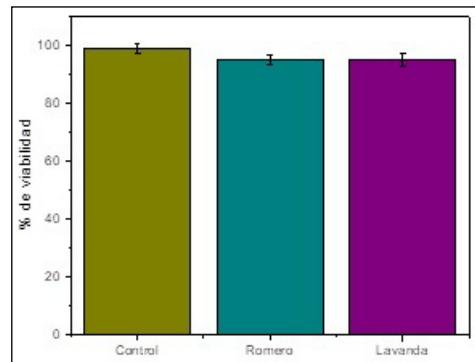


Figura 4. Evaluación in vitro de la viabilidad celular del extracto de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. frente a células de médula ósea de cerdo.

## Conclusiones

Los compuestos bioactivos que se lograron extraer de las hojas secas de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. pueden llegar a tener aplicaciones dentro del área de medicina, debido a que se encontró que poseen excelentes propiedades antibacterianas, antioxidantes y, además, no son tóxicos frente a células de médula ósea de cerdo.

Se demostró que con el método híbrido se obtienen mayores porcentajes de rendimiento en un menor tiempo de extracción; además, se considera un método verde porque se emplean disolventes que no son tóxicos. Por FTIR-ATR y HPLC-MS se lograron identificar compuestos bioactivos como ácido rosmarínico, medioresinol y ácido cafeico, que son de interés médico para diversas aplicaciones. Se demostró que los extractos etanólicos de *Lavandula officinalis* L. y *Salvia rosmarinus* L. obtenidos por método híbrido poseen propiedades antibacterianas frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; además, los compuestos son capaces de inhibir radicales libres de DPPH y ABTS. Finalmente, en el ensayo de viabilidad celular se demostró que los extractos no son tóxicos frente a la línea celular de médula ósea de cerdo, por lo que son excelentes candidatos para diversas aplicaciones médicas.

## Referencias

- [1] R. A. Halberstein, "Medicinal Plants: Historical and Cross-Cultural Usage Patterns", *Ann. Epidemiol.*, vol. 15, nro. 9, pp. 686-699, 2005. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.anepidem.2005.02.004>.
- [2] J. E. Wong Paz, D. B. Muñiz Márquez, G. C. G. Martínez Ávila, R. E. Belmares Cerdá y C. N. Aguilar, "Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from native plants in the Mexican desert", *Ultrason Sonochem*, vol. 22, pp. 474-481, 2015. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.ulsonch.2014.06.001>.
- [3] H. Assaggaf et al., "Exploring the antidiabetic and anti-inflammatory potential of *Lavandula officinalis* essential oil: In vitro and *in silico* insights", *Heliyon*, vol. 10, nro. 15, e34135, 2024. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34135>.
- [4] M. Fahmy et al., "Evaluation of the Anti-Cancer/Anti-Mutagenic Efficiency of *Lavandula officinalis* Essential Oil", *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, vol. 23, nro. 4, pp. 1215-1222, 2022. DOI: <https://www.doi.org/10.31557/APJCP.2022.23.4.1215>.
- [5] M. Slighoua et al., "Pharmacological effects of *Lavandula officinalis* Chaix and its polyphenols: Focus on their in vivo estro-

- genic and anti-inflammatory properties”, *South African Journal of Botany*, vol. 146, pp. 354–364, 2022. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.sajb.2021.11.014>.
- [6] K. Diass, F. Brahim, O. Mokhtari, S. Abdellaoui y B. Hammouti, “Biological and pharmaceutical properties of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula officinalis* L”, *Mater Today Proc*, vol. 45, pp. 7768–7773, 2021. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.matpr.2021.03.495>.
- [7] K. Diass et al., “Essential Oil of *Lavandula officinalis*: Chemical Composition and Antibacterial Activities”, *Plants*, vol. 12, nro. 7, 1571, 2023. DOI: <https://www.doi.org/10.3390/plants12071571>.
- [8] M. H. Sliem et al., “The influence of different preparation methods on the erosion behavior of NiP-ZrO<sub>2</sub> nanocomposite coating”, *Tribol Int*, vol. 178, 108014, 2023. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.triboint.2022.108014>.
- [9] C. Bitwell, S. Sen Indra, C. Luke y M. K. Kakoma, “A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants”, *Sci. Afr.*, vol. 19, e01585, 2023. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>.
- [10] C. Ramón y M. A. Gil-Garzón, “Efecto de los parámetros de operación de la extracción asistida por ultrasonido en la obtención de polifenoles de uva: una revisión”, *TecnoLógicas*, vol. 24, nro. 51, e1822, 2021. DOI: <https://www.doi.org/10.22430/22565337.1822>.
- [11] M. B. Soquetta, L. de M. Terra y C. P. Bastos, “Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables”, *CyTA-Journal of Food*, vol. 16, nro. 1, pp. 400–412, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1411978>.
- [12] J. E. Wong-Paz, P. Aguilar-Zárate, F. Veana y D. B. Muñiz-Márquez, “Impacto de las tecnologías de extracción verdes para la obtención de compuestos bioactivos de los residuos de frutos cítricos”, *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 23, 2020. DOI: <https://www.doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.255>.
- [13] A. Bisht, S. C. Sahu, A. Kumar, S. Maqsood, M. M. Barwant y S. G. Jaiswal, “Recent advances in conventional and innovative extraction techniques for recovery of high-added value compounds for food additives and nutraceuticals”, *Food Physics*, vol. 2, 100047, 2025. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.foodp.2025.100047>.
- [14] C. P. Mungwari, C. K. King'ondu, P. Sigauke y B. A. Obadele, “Conventional and modern techniques for bioactive compounds recovery from plants: Review”, *Sci. Afr.*, vol. 27, e02509, 2025. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02509>.
- [15] P. S. N. Chada et al., “Non-conventional techniques for the extraction of antioxidant compounds and lycopene from industrial tomato pomace (*Solanum lycopersicum* L.) using spouted bed drying as a pre-treatment”, *Food Chem X*, vol. 13, 100237, 2022. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100237>.
- [16] A. Cvetanović Kljakić et al., “Chemical profiling and biological activities of *Opopanax hispidus* extracts: A comparative insight on conventional and green extraction technologies”, *Sustain Chem Pharm*, vol. 33, 101122, 2023. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.scp.2023.101122>.
- [17] S. H. de Oliveira et al., “Ultrasound-assisted extraction and characterization of Brazil nut oil (*Bertholletia excelsa*)”, *Sustainable Chemistry for the Environment*, vol. 9, 100218, 2025. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.scenv.2025.100218>.
- [18] H. Wang, L. Deng y G. Huang, “Ultrasound-assisted extraction and value of active substances in Muxu”, *Ultrasón Sonochem*, vol. 113, 107220, 2025. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.ulstsonch.2024.107220>.
- [19] L. Gonzaga, R. M. Pérez, R. Lavecchia y A. Zuorro, “Unlocking marine potential: Microwave-assisted extraction of bioactive compounds from marine macroalgae”, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 13, 2025. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.jece.2025.116858>.
- [20] G. Dip, P. Aggarwal, A. Kapoor, S. Grover y S. Kaur, “Recovery of high-value components from *Bauhinia variegata* leaves using ultrasound-microwave-assisted extraction technique”, *Biomass Bioenergy*, vol. 195, 107709, 2025. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.biombioe.2025.107709>.
- [21] J. N. Campos Flores y F. M. Santa Cruz Mondragón, “Formulación y control de calidad de una crema elaborada a partir del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L”, tesis de grado, Universidad María Auxiliadora, Lima, 2020. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/241>.
- [22] J. O. Rojas Molina, A. M. Trávez Castellano, Z. E. Zambrano Ochoa, L. E. Zúñiga Altamirano y O. F. Palacios Rosero, “Aceite esencial de lavanda (*Lavandula angustifolia*): extracción, caracterización de compuestos volátiles, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana”, *Revista UTCiencia*, vol. 9, nro. 3, pp. 113–127, 2022. Disponible en: <https://investigacion.utc.edu.ec/index.php/utciencia/article/view/461>.
- [23] M. Jaouani et al., “Molecular, biomedical and phytosanitary biodiversity of *Lavandula stoechas*: A vulnerable and underexploited medicinal plant in Morocco”, *Sci. Afr.*, vol. 25, e02296, 2024. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02296>.
- [24] D. Várban et al., “Physicochemical Characterization and Prospecting Biological Activity of Some Authentic Transylvanian Essential Oils: Lavender, Sage and Basil”, *Metabolites*, vol. 12, nro. 10, 962, 2022. DOI: <https://www.doi.org/10.3390/meta-bo12100962>.
- [25] C. Giménez-Rota, S. Lorán, A. M. Mainar, M. J. Hernández y C. Rota, “Supercritical Carbon Dioxide Antisolvent Fractionation for the Sustainable Concentration of *Lavandula luisieri* (Rozeira) Riv.-Mart Antimicrobial and Antioxidant Compounds and Comparison with Its Conventional Extracts”, *Plants*, vol. 8, nro. 11, 455, 2019. DOI: <https://www.doi.org/10.3390/plants8110455>.
- [26] Y. D. Franco Aguirre, A. Sáenz Galindo, C. M. López Badillo, A. O. Castañeda Facio, R. Rodríguez Herrera y S. C. Esparza González, “Extracción de metabolitos secundarios de *Rosmarinus officinalis* L., mediante la asistencia simultánea de ultrasonido-microondas”, *Revista SNIQBA*, vol. 1, nro. 2, pp. 8–16, 2022. Disponible en: <http://sniqba.com.mx/revsniqba-2022-02-09>.
- [27] M. Jaouani et al., “Molecular, biomedical and phytosanitary biodiversity of *Lavandula stoechas*: A vulnerable and underexploited medicinal plant in Morocco”, *Sci. Afr.*, vol. 25, e02296, 2024. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02296>.
- [28] S. Mahgoub et al., “Effect of rosemary and thyme (*Rosemarinus officinalis* L. and *Thymus vulgaris* L.) ethanolic extracts on foodborne pathogens, physicochemical properties and improving the safety of cottage cheese with antioxidant, and antibacterial activities”, *Applies Food Research*, vol. 5, 2025. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.afres.2025.101020>.
- [29] R. Aguilar-Villalva et al., “Antioxidant capacity and antibacterial activity from *Annona cherimola* phytochemicals by ultrasound-assisted extraction and its comparison to conventional methods”, *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 14, nro. 7, 103239, 2021. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103239>.
- [30] C. Flores Morales, R. del C. Rocha Gracia, E. Barrios Villa, P. Lozano Zarain y G. Cortés Cortés, “*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*: dos Bacterias Multidrogorresistentes que Podemos Compartir con Nuestras Mascotas”, *INVURNUS*, vol. 17, nro. 1, 2023. DOI: <https://www.doi.org/10.46588/inurnus.v17i1.98>.

**Citación del artículo:**

W. Y. Villastrigo López, J. D. Flores Valdez, M. D. Dávila Medina, C. J. Cabello Alvarado, A. O. Castañeda Facio, S. C. Esparza González y A. Sáenz Galindo, “Detección por método híbrido de compuestos bioactivos presentes en las hojas de romero y lavanda y su potencial aplicación en medicina”, *Rev. Colomb. Quím.*, vol. 54, nro. 1, pp. 49–54, 2025. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v54n1.120674>.