

Caracterización farmacognóstica de *Melissa officinalis* L. (toronjil)

Pharmacognosy characterization of *Melissa officinalis* L.(toronjil)

Ester Sánchez Govín,^I Marielys León Fernández,^{II} Diosothys Chávez Figueredo,^{III} Isabel Hechevarría Sosa,^{IV} Jorge Pino^V

^IMáster en Ciencias en Química Farmacéutica. Licenciada en Farmacia. Investigadora Auxiliar. Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig". Centro de Investigaciones de Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). La Habana, Cuba.

^{II}Máster en Ciencias en Química Farmacéutica. Licenciada en Farmacia. Centro de Producción Local de Plantas Medicinales de Güira de Melena. La Habana, Cuba.

^{III}Técnico Medio en Tecnología Farmacéutica. CIDEM. La Habana, Cuba.

^{IV}Técnico Medio en Agronomía. CIDEM. La Habana, Cuba.

^VDoctor en Ciencias Químicas. Instituto de Investigaciones de la Industria Alimentaria. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: *Melissa officinalis* L., conocida como toronjil en Cuba y en países de habla inglesa como *lemon balm*, es muy utilizada por sus propiedades carminativa, sedante, antibacteriana y antiviral.

OBJETIVO: realizar el estudio farmacognóstico de esta planta de uso tradicional.

MÉTODOS: se evaluaron muestras procedentes de cultivo al sol y de sombra parcial, diferentes momentos para efectuar la cosecha y se aplicaron 3 tipos de secado. Se determinaron los índices numéricos según los valores obtenidos bajo la influencia de los factores evaluados.

RESULTADOS: el cultivo al sol, la cosecha en el mes de abril y cualquiera de los métodos de secado estudiados evidenciaron los valores más altos para obtener la droga con óptima calidad. Además se efectuó la caracterización del aceite esencial por cromatografía gaseosa acoplada a espectrofotometría de masas y se realizó el seguimiento de este metabolito por cromatografía en capa delgada.

CONCLUSIONES: los resultados obtenidos permitieron recopilar la información necesaria para establecer los valores para las especificaciones de calidad de la droga vegetal.

Palabras clave: *Melissa officinalis*, control de calidad, farmacognosia.

ABSTRACT

INTRODUCTION: *Melissa officinalis* L. known as toronjil in Cuba and in English speaking as lemon balm is very used due to its carminative, sedative, antibacterial and antiviral properties.

OBJECTIVE: to conduct a pharmacognosy study of this plant of traditional use.

METHODS: samples from sunlight and shadow partial farming were assessed, the different moments to harvest applying three types of drying. Numerical indexes were determined according to the values obtained under the influence of assessed factors.

RESULTS: the under sunlight, the harvest during April month and any of the study drying methods demonstrated the higher values to obtain an optimal quality drug. Also, a characterization of essential oil by gas chromatography attached to spectrophotometry was carried out as well as the follow-up of this metabolite by thin layer chromatography.

CONCLUSIONS: the results obtained allowed us to collect the information necessary to establish the values for specifications of the vegetal drug quality.

Key words: *Melissa officinalis*, quality control, Pharmacognosy.

INTRODUCCIÓN

Melissa officinalis L. pertenece a la familia Lamiaceae, es conocida en nuestro país como toronjil y en otros como *melissenblat* o *lemon balm* por su olor a limón, es una planta medicinal muy estudiada para la que se describen como principales compuestos los ácidos hydroxycinámicos (rosmarinico, p-coumarico, clorogénico) y los aceites esenciales, donde los mayores constituyentes son los terpenoides como el citral (mezcla de los isómeros neral y geranial), citronelal, geraniol, nerol y linalol. Otros compuestos de interés presentes en esta especie son flavonoides y taninos.¹ Se reportan estudios sobre los componentes del aceite esencial: citral, acetato de linalilo, citronelal, acetato de geranilo, citronelol, entre otros. Se han demostrado variaciones cualitativas de este por factores genéticos y variaciones cualitativas debidas a las condiciones ambientales, duración del día y composición del suelo.²

Por sus propiedades carminativas ha sido utilizada en diversas preparaciones aromáticas junto a otras especies, como estimulante digestivo presenta actividad antibacteriana y sedativa debida al aceite esencial, así como actividad antiviral de la fracción polifenólica e indicada en el tratamiento de espasmos gastrointestinales.^{3,4}

En Cuba, el grupo de Control Biológico del Centro de Investigaciones de Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) ha demostrado un efecto protector en el estómago de ratas experimentales a partir del extracto fluido de *M. officinalis*, donde se disminuyen significativamente el número e intensidad de lesiones. (Bárzaga P, Agüero S. Efecto antiulceroso del extracto fluido de *Melissa officinalis* en modelos experimentales de úlcera en ratas. Informe Técnico. CIDEM. 2005).

Como parte de las investigaciones que se desarrollan en la Estación Experimental de Plantas Medicinales «Dr. Juan Tomás Roig» a partir de estos antecedentes, en el presente trabajo se aborda la caracterización farmacognóstica de *M. officinalis* con la finalidad de proponer las especificaciones de calidad de la droga vegetal, que cumpla con los requisitos óptimos para su utilización como materia prima o medicamento herbario, o ambos.

MÉTODOS

En la presente investigación se obtuvieron muestras procedentes de parcelas experimentales en la Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig" ubicadas a pleno sol y en naves techadas donde se aplicó como fertilizante orgánico *compost* vegetal. Las partes áreas de la planta fueron cosechadas en marzo, abril, mayo y junio; se depositó un ejemplar de herbario (ROIG 4586) en nuestra colección a la cual se realizaron descripciones macromorfológicas y micromorfológicas.⁵

Para el secado de la planta se utilizaron 3 variantes: a la sombra, al sol (cubierta con malla protectora) y en estufa de recirculación de aire a 38 °C.

Para la determinación de los parámetros numéricos de calidad se tuvieron en cuenta las normas ramales del Ministerio de Salud Pública (MINSAP) y las internacionales para las drogas vegetales.⁶

Con el fin de identificar los componentes del aceite esencial en las muestras según su procedencia, tipo de secado y el tiempo de vida útil de la droga, se efectuó un análisis por cromatografía en capa delgada⁷ y por cromatografía gaseosa acoplada a espectroscopia de masa. En el primer caso se utilizaron placas preelaboradas de gel de sílice G-60 de 0,25 mm de espesor, como fase móvil una mezcla de tolueno acetato de etilo 93:7 y atomización con el reactivo de vainillina sulfúrico, tomando como sustancia de referencia citral 0,5 %, citronelol 0,5 %, acetato de linalilo 0,3 % y citronelal 0,3 %. En el segundo método (CG-EM) se realizó el análisis en un equipo (Hewlett-Packard) 6890 n con detector selectivo de masas, se empleó una columna capilar de (30 x 0,25 µm). El flujo de gas portador (helio) fue de 1,5 mL por min. El detector operó en modo de impacto electrónico y la detección entre 30 y 400 daltons. Los constituyentes se identificaron por comparación de los espectros de masas con los reportados en la base FLAVOURLIB y confirmados por comparación de los índices de retención cromatográficos y espectros de masas informados en la literatura.⁸

Los índices numéricos fueron evaluados mediante análisis de varianza trifactorial y las variaciones encontradas se analizaron mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan.

RESULTADOS

Macromorfología: presenta color verde claro, agradable sabor y olor semejante al limón debido a los componentes del aceite. Sus hojas son aovadas, pecioladas, estrechadas o acorazonadas en la base, dentadas, bellotas, pueden medir de 2,0 a 3,6 cm de largo y de 1,0 a 2,7 cm de ancho. Los tallos son finos y bellosos.

Micromorfología: en el corte epidérmico de las hojas se observan células sinuosas, presencia de estomas solo en la superficie abaxial, pelos pequeños parecidos a espinas unicelulares y pluricelulares y secretoras.

En el corte transversal, se muestra la epidermis con estomas que sobresalen del resto de las células epidérmicas, pelos secretores abundantes y pelos cortos de una o dos células, preferentemente en los bordes.

El material vegetal seco se obtuvo con su color verde natural y su olor característico en solo 16 h, tanto al sol como en estufa y 30 h a la sombra.

El estudio químico de los componentes del aceite esencial por cromatografía en capa delgada mostró 8 bandas entre el frente del solvente y el punto de aplicación. Las bandas de la 1 a la 3 coincidieron en color y R_f con los alcoholes terpénicos (geraniol, linalol, citronelol), la banda 5 coincidió con el citral y la banda 6 con el citronelal.

Revelador vainillina sulfúrico:

banda No. 1. intervalo de R_f (0,19 - 0,21) color azul claro
 banda No. 2. intervalo de R_f (0,29 - 0,31) color azul claro
 banda No. 3. intervalo de R_f (0,39 - 0,40) color azul claro
 banda No. 4. intervalo de R_f (0,44 - 0,46) color azul violáceo
 banda No. 5. intervalo de R_f (0,65 - 0,66) color azul
 banda No. 6. intervalo de R_f (0,75 - 0,77) color azul
 banda No. 7. intervalo de R_f (0,80 - 0,82) color azul
 banda No. 8. intervalo de R_f (0,85 - 0,86) color azul

En los comatogramas obtenidos por cromatografía gaseosa (CG)-acoplada a espectrometría de masa (EM), se determinó la presencia de 73 compuestos, de ellos 28 informados por primera vez para esta especie. Los principales componentes identificados fueron: neral (30,4 %) y geraniol (39,0 %) aunque se detectaron cantidades considerables de óxido de cariofileno (12,1 %). Del citronelol, acetato de nerilo y formiato de geraniol se encontraron trazas (menor que 1 %) en las muestras analizadas.

Los resultados obtenidos en los índices numéricos pueden ser observados en la tabla 1 y los resultados promedios de la evaluación organoléptica en la tabla 2.

Tabla 1. Índices numéricos determinados en *Melissa officinalis* L.

Muestras	Humedad (%)	Cenizas totales (%)	Sustancias solubles en agua (%)	Sustancias solubles en etanol al 70 % (%)	Aceite esencial (%)
Cultivados al sol, fecha de	10,00 cd	16,68 a	24,32 c	22,52 f	0,3 i

cosecha marzo, secados 40. °C					
Secados al sol	10,33 c	15,83 b	24,28 c	21,42 h	0,3 f
Secados a la sombra	12,00 a	15,49 c	23,55 e	22,05 q	0,3 fg
Cultivados a la sombra, fecha de cosecha marzo, secados 40. °C					
Secados al sol	10,00 cd	12,17 h	23,01 f	21,00 i	0,3 i
Secados a la sombra	10,50 bc	12,46 q	22,52 q	21,54 h	0,3 f
Cultivados al sol, fecha de cosecha abril, secados 40. °C	11,83 ab	12,83 f	22,71 q	22,41 f	0,4 e
Secados al sol	8,66 de	13,10 de	25,87 b	26,47 b	0,8 a
Secados a la sombra	9,33 d	12,80 f	25,83 b	27,21 b	0,5 b
Cultivados a la sombra, fecha de cosecha abril, secados 40. °C	11,67 ab	12,50 q	27,00 a	28,17 a	0,5 b
Secados al sol	10,00 cd	12,58 g	24,33 c	23,45 c	0,3 gh
Secados a la sombra	10,50 bc	12,90 ef	23,38 ef	23,13 d	0,3 fq
Cultivados al sol, fecha de cosecha mayo, secados 40. °C	11,83 ab	12,99 ef	22,72 q	22,83 e	0,4 d
Secados al sol	10,00 cd	9,86 j	21,64 i	17,52 l	0,3 gh
Secados a la sombra	7,33 f	9,88 ij	23,20 f	21,44 i	0,4 c
Cultivados a la sombra, fecha de cosecha mayo, secados 40. °C	10,50 bc	9,87 ij	23,45 ef	21,84 q	0,3 qh
Secados al sol	8,33 e	12,99 ef	23,98 d	21,12 i	0,4 ef
Secados a la sombra	10,50 bc	13,22 d	22,09 h	22,93 de	0,3 i
Cultivados al sol, fecha de cosecha junio, secados 40. °C	11,83 ab	13,18 de	23,89 d	22,82 e	0,3 qh
Secados al sol	10,16 c	12,60 g	23,19 f	20,29 j	0,3 gh
Secados a la sombra	10,50 bc	12,88 ef	23,41 i	21,14 i	0,4 cd
Cultivados a la sombra, fecha de cosecha junio, secados 40. °C	11,33 ab	13,02 e	23,02 f	22,03 q	0,3 q
Secados al sol	10,00 cd	12,41 q	19,42 i	18,81 k	0,5 b

cosecha junio, secados 40. °C					
Secados al sol	10,50 bc	12,80 f	15,61 k	16,84 m	0,3 i
Secados a la sombra	11,17 b	12,72 fq	14,63 l	18,63 k	0,4 cd
EE	0,20769	0,04615	0,05561	0,04791	0,02132

Número de evaluaciones	Color						Olor						Trituración						Insectos					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º	1º	2º	3º	4º	5º	6º	1º	2º	3º	4º	5º	6º	1º	2º	3º	4º	5º	6º
Frascos de vidrio	5	5	5	5	4	3	5	5	5	4	4	3	5	5	5	5	5	4	5	4	5	5	5	4
Frascos de polipropileno	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4
Sobres polietileno	5	5	5	5	4	3	4	4	4	4	3	3	5	5	4	4	3	3	5	5	5	4	4	3
Sobres de papel kraft	4	4	4	4	3	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	3	2	5	5	4	4	3	2

1: pérdida total de las características iniciales, 2: apreciables pérdidas de las características iniciales, 3: medianos cambios de las características iniciales, 4: leves cambios de las características iniciales, 5: se mantienen las características iniciales.

EE: error estándar de la media. Letras distintas indican diferencia significativa para $p \leq 0,05$.

Tabla 2. Resultados promedios de la evaluación organoléptica en el estudio de conservación de 3 lotes de *Melissa officinalis* L.

Número de evaluaciones	Color						Olor						Trituración						Insectos					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º	1º	2º	3º	4º	5º	6º	1º	2º	3º	4º	5º	6º	1º	2º	3º	4º	5º	6º
Frascos de vidrio	5	5	5	5	4	3	5	5	5	4	4	3	5	5	5	5	5	4	5	4	5	5	5	4
Frascos de polipropileno	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4
Sobres polietileno	5	5	5	5	4	3	4	4	4	4	3	3	5	5	4	4	3	3	5	5	5	4	4	3
Sobres de papel kraft	4	4	4	4	3	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	3	2	5	5	4	4	3	2

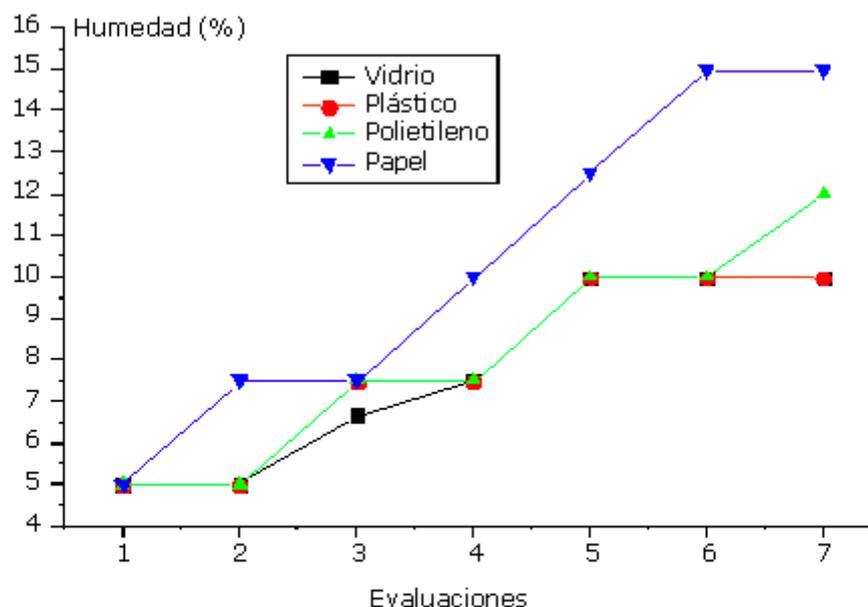
1: pérdida total de las características iniciales, 2: apreciables pérdidas de las características iniciales, 3: medianos cambios de las características iniciales, 4: leves cambios de las características iniciales, 5: se mantienen las características iniciales.

1: pérdida total de las características iniciales, 2: apreciables pérdidas de las características iniciales, 3: medianos cambios de las características iniciales, 4: leves cambios de las características iniciales, 5: se mantienen las características iniciales.

Los porcentajes de humedad se mueven en un rango desde 7,33 % hasta 12 %, de forma muy aceptable en esta especie. Las cenizas totales oscilaron desde 9,86 % hasta 16,68 %; destacándose fuera del límite hasta 13 % las muestras cultivadas al sol, cosechadas en marzo en cualquiera de los secados.

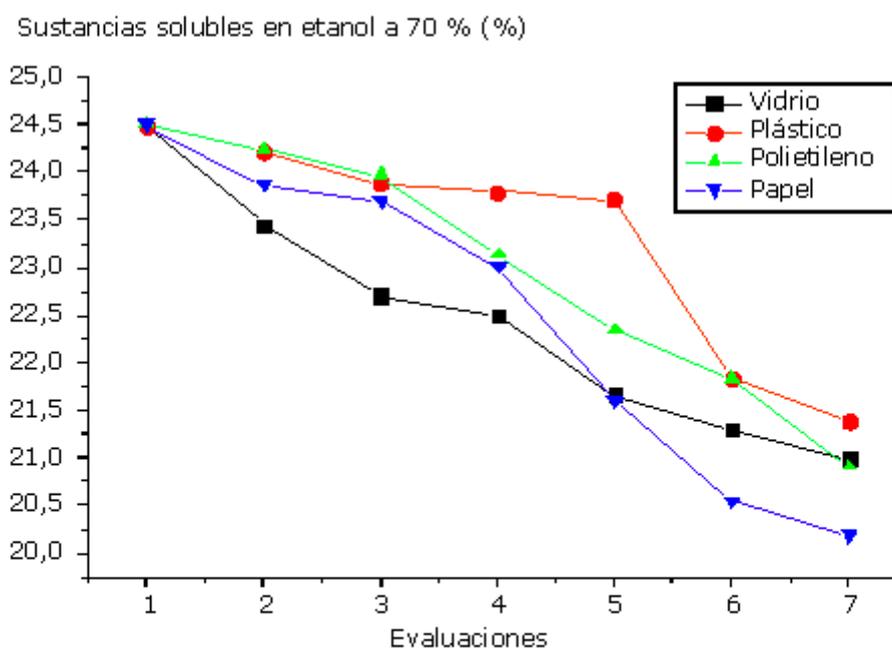
Las sustancias solubles en agua se observan desde 14,63 % hasta 27,00 % y comportamiento similar se muestra para las sustancias solubles en etanol 70 %; de 16,84 a 28,17 %. En el primer caso los porcentajes más altos correspondieron a la cosecha efectuada en el mes de abril procedente de canteros al sol con un valor superior en los secados a la sombra, en tanto que los más bajos se observaron en la cosecha de junio procedente de los canteros a la sombra. En el segundo caso coinciden con lo que se obtuvo para las sustancias solubles en agua los porcentajes más favorables para las cosechas de abril procedentes de canteros al sol y secadas en las tres formas, los valores más pequeños para la cosecha efectuada en junio con poca influencia en el secado.

De igual forma coinciden los aceites esenciales que los valores más altos fueron los de cultivo al sol cosechado en abril; resalta el secado en la estufa (0,8 %). Los restantes se mueven en el rango entre 0,3 y 0,5 %.(Figs. [1](#), [2](#), [3](#) y [4](#))



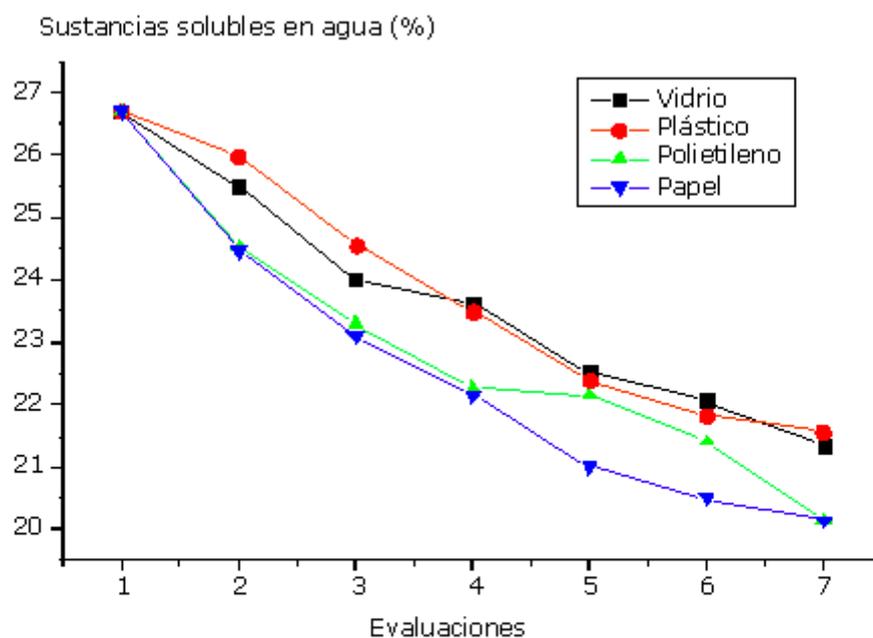
Vidrio: frascos de vidrio, Plástico: frascos de polipropileno, Polietileno: sobres de polietileno, Papel: sobres de papel kraft.

Fig. 1. Comportamiento del porcentaje de humedad en el estudio de conservación de *Melissa officinalis* L. durante 1 año.



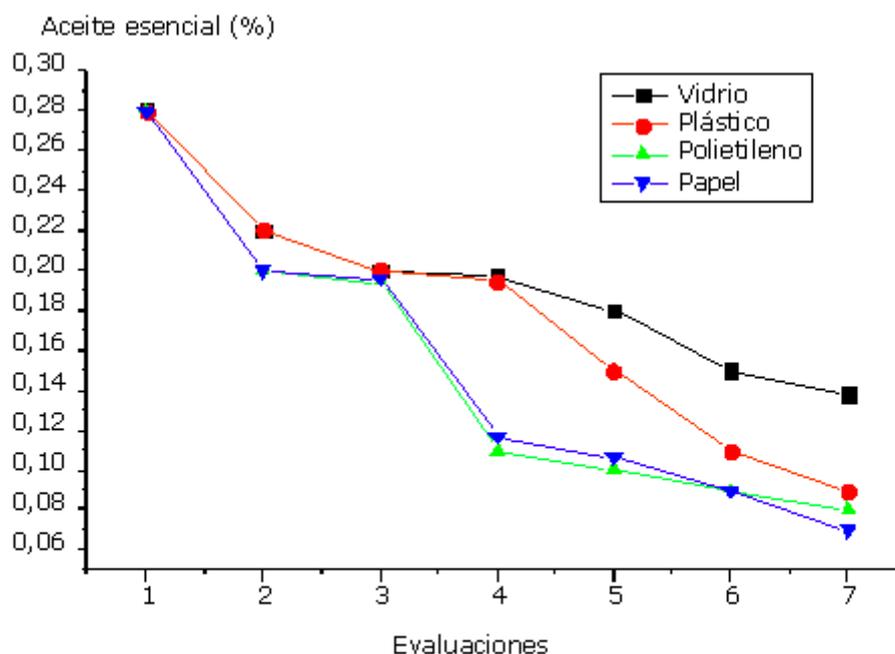
Vidrio: frascos de vidrio, Plástico: frascos de polipropileno, Polietileno: sobres de polietileno, Papel: sobres de papel kraft.

Fig. 2. Comportamiento del porcentaje de sustancias solubles en etanol 70 % en el estudio de conservación de *Melissa officinalis* L. durante 1 año.



Vidrio: frascos de vidrio, Plástico: frascos de polipropileno, Polietileno: sobres de polietileno, Papel: sobres de papel kraft.

Fig. 3. Comportamiento del porcentaje de sustancias solubles en agua en el estudio de conservación de *Melissa officinalis* L. durante 1 año.



Vidrio: frascos de vidrio, Plástico: frascos de polipropileno, Polietileno: sobres de polietileno, Papel: sobres de papel kraft.

Fig. 4. Comportamiento del porcentaje de aceite esencial en el estudio de conservación de *Melissa officinalis* L. durante 1 año.

DISCUSIÓN

Las descripciones macromorfológicas y micromorfológicas de la especie que crece en nuestras condiciones, aunque presentan dimensiones menores de las hojas coinciden de forma general con las reportadas.¹

Esta planta medicinal por su consistencia fina permite un secado rápido y eficiente donde permanecen sus características organolépticas.

Al analizar la interacción entre los 3 factores (formas de cultivo, mes de cosecha, y secado) en el contenido promedio de humedad residual determinado a la droga seca se pudo apreciar diferencias significativas, pero el promedio de los valores en las muestras se mantuvo en el rango reportado para las drogas vegetales,⁹ demostrando de esta manera la eficacia de los procesos de secado utilizados.

Según la Farmacopea Británica¹⁰ las cenizas totales para esta planta no deben exceder de 12 %, la mayoría de los valores obtenidos en las muestras están alrededor de este valor con pocas diferencias apreciables a excepción de las muestras obtenidas en marzo cultivadas al sol donde los valores estuvieron entre 15 y 17 %, por lo que estos no se tienen en cuenta para la propuesta del límite máximo de este parámetro en nuestras condiciones. Las variaciones encontradas en nuestra investigación con respecto a la monografía de referencia son consecuencia de la composición de los suelos de donde las plantas absorben a través de las raíces, los elementos minerales y el agua.

El hecho de que los mayores porcentajes de sustancias extractivas, tanto en etanol al 70 % como en agua se determinaron en el material cosechado en los meses de primavera (marzo-abril), pudo estar relacionado con las características de esta planta de ser afectada por las condiciones de nuestro verano. Además en ambos parámetros las muestras cultivadas al sol mostraron los valores más altos, aspecto referido en la bibliografía acerca de esta planta de ser cultivada a pleno sol o al menos de requerir 5 h de sol al día.

El aceite esencial es uno de los metabolitos principales en esta especie medicinal según la estadística realizada los 3 factores influyeron significativamente en los porcentajes obtenidos, los mayores rendimientos se observaron en las muestras cultivadas al sol. Sin embargo, contrario a lo que se plantea, que el secado a la sombra debe volatilizar menor cantidad de aceite esencial, en nuestra investigación el secado en estufa mostró contenidos más altos, lo que pudo estar relacionado con un control de temperatura y ventilación eficientes en el método artificial, mientras que en los métodos naturales el secado es una técnica susceptible a la influencia de factores ambientales como temperatura y humedad.

El aceite esencial de *M. officinalis* estudiado bajo las condiciones climáticas de Cuba, mostró al reproducir las condiciones cromatográficas citadas un cromatograma similar al reportado.⁷

Al comparar los resultados de esta investigación con los encontrados por Pino y otros,¹¹ se pudo apreciar diferencias en la composición y cuantificación de los constituyentes. Ambas investigaciones tuvieron en común la identificación de neral y geranial como componentes mayoritarios. Las diferencias encontradas entre los resultados obtenidos y lo reportado en la bibliografía consultada pueden ser consecuencia de una serie de factores que varían tanto el porcentaje, como la

composición química de los aceites esenciales; estos son la edad de la planta, el lugar geográfico y las condiciones ecológicas, entre otras.⁹

Tomando en cuenta los valores obtenidos en las investigaciones realizadas se propusieron los límites permisibles para los principales índices numéricos: 12 % para la humedad residual y 13 % para las cenizas totales como máximo, en tanto se propone un mínimo de 16 % para las sustancias extraíbles y 0,3 % para el aceite esencial, así como el cultivo al sol de esta especie medicinal y su cosecha en el mes de abril, preferentemente, con la finalidad de obtener la droga cruda en óptimas condiciones de calidad. Para el secado se pudiera utilizar cualquiera de los métodos evaluados sin que se afecten las características organolépticas y químicas de esta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Monographs on Selected medicinal plants. Vol. 2. Ginebra: World Health Organization; 2002. p. 180-7.
2. Sadraei H, Ghamadi A, Malekshahi K. Relaxant effect of essential oil of *M. officinalis* and citral on rat ileon contraction. *Fitoterapia*. 2003;74:445-52.
3. Simón M, Kerry B. Principles and Practice of Phytotherapy. Modern Herbal Medicine. Toronto: Ed. Churchill Livingstone; 2000. p. 643.
4. Sorensen J. *Melissa officinalis*. Essential oil authentic production pharmacological activity. A review. *J Aromatherapy*. 2000;20(4):25-30.
5. Gattuso M, Gattuso S. Manual de procedimiento para el análisis de drogas en polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario CYTED; 1999. p. 50.
6. WHO. Quality control methods for medicinal plant materials. Ginebra: World Health Organization; 1998. p. 115.
7. Wagner H, Blatt S, Zgainski M. A thin layer Chromatography Atlas. Berlin: Ed. Springer-Verlag; 1984. p. 320.
8. Adams R. Identification of the essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectrometry. Allured Publishing Corp. Carol Stream; 2001. p. 45-6.
9. Miranda M, Cuellar A. Farmacognosia y Productos Naturales. Ciudad de La Habana: Ed. Félix Varela; 2001. p. 32-44, 227-236.
10. Farmacopea Británica. Vol. 1; London: Britihs Medicinal Herbal Asociation; 2000. p. 1370.
11. Pino J, Rosado A, Fuentes V. Composition of the essential oil of *Melissa officinalis* L. from Cuba. *J Essent Oil Res*. 1999;11:363-4.

Recibido: 5 de noviembre de 2009.
Aprobado: 9 de octubre de 2010.

MSc. *Ester Sánchez Govín*. Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig". Centro de Investigaciones de Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). La Habana, Cuba. Correo electrónico: revistaplant@infomed.sld.cu