

**Composición y actividad antibacteriana del aceite esencial de
Austro eupatorium inulifolium (Kunth) King & Robinson (Asteraceae)**

Composition and antibacterial activity of *Austro eupatorium inulifolium*
(Kunth) King and Robinson (Asteraceae) essential oils

María Eugenia Lucena^{*1,3} 

María Escalante Contreras² 

Viviana González Moreno^{†2} 

Luís Rojas-Fermín² 

Yndra Cordero de Rojas³ 

Francisco Javier Ustáriz Fajardo^{1,3} 

Juan Carmona⁴ 

Silvia Torres⁵ 

¹Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud. Riobamba, Ecuador.

²Universidad de Los Andes, Instituto de Investigaciones. Sección Productos Naturales. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Mérida, República Bolivariana de Venezuela.

³Universidad de Los Andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Departamento de Bioanálisis Clínico. Mérida, República Bolivariana de Venezuela.

⁴Universidad de Los Andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos. Mérida, República Bolivariana de Venezuela.

⁵Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería. Riobamba, Ecuador.

*Autor para correspondencia: mlucena@unach.edu.ec

RESUMEN

Introducción: *Austro eupatorium inulifolium* (Kunth) R.M.King & H.Rob. (Asteraceae) es una especie perteneciente a la familia Asteraceae que crece en Sudamérica, desde Panamá hasta la Argentina.

Objetivo: Determinar la composición y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Austro eupatorium inulifolium* (Kunth) King & Robinson (Asteraceae) sobre: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Pseudomona aeruginosa*.

Métodos: Las hojas frescas de *Austro eupatorium inulifolium* fueron recolectadas en enero 2018 en la vía San Pedro, en la parroquia Tovar, municipio Tovar del estado Mérida, República Bolivariana de Venezuela. Las hojas frescas se licuaron y se sometieron a destilación por arrastre con vapor de agua (3 h), empleando una trampa de Clevenger. El aceite se conservó a - 4 °C hasta su uso para ensayos biológicos. Los componentes esenciales del aceite fueron analizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La actividad antibacteriana fue evaluada de acuerdo al método de difusión en agar con discos de papel.

Resultados: El rendimiento del aceite obtenido por hidrodestilación fue de 0,6 %. Se identificaron 35 compuestos. Los componentes mayoritarios fueron: α -pineno (6,94 %), β -pineno (9,25 %), β -cariofileno (13,65 %) y germacreno D (21,12 %).

Conclusiones: El aceite esencial de *A. inulifolium* presenta baja actividad contra las bacterias gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (CIM 5 000 μ g/mL) y *Enterococcus faecalis* (10 000 μ g/mL), mientras que presenta buena actividad contra las bacterias gram-negativas con una CIM de (78 μ g/mL) para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*.

Palabras clave: Asteraceae; *Austro eupatorium inulifolium*; aceite esencial; germacreno D; β -cariofileno; β -pineno; α -pineno; actividad antibacteriana.

ABSTRACT

Introduction: *Austro eupatorium inulifolium* (Kunth) R.M.King and H.Rob. (Asteraceae) are species of the Asteraceae family that grow in South America, from Panama to Argentina.

Objective: To determine the composition and antibacterial activity of the essential oil of *Austro eupatorium inulifolium* (Kunth) King and Robinson (Asteraceae) on *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomona aeruginosa*.

Methods: The fresh leaves of *Austro eupatorium inulifolium* were harvested in January 2018 in via San Pedro, in the parish Tovar, Tovar Municipality, Mérida state, Bolivarian Republic of Venezuela. The fresh leaves were liquefied and subjected to distillation by dragging with water vapor (3 h), using a trap of Clevenger. The oil was retained to - 4 °C until its use for biological tests. The essential components of the oil were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The antibacterial activity was evaluated according to the agar diffusion method with paper disks.

Results: The performance of the oil obtained by hydrodistillation was 0.6 %. There were identified 35 compounds. The main components were: α -pinene (6.94 %), β -pinene (9.25 %), β -caryophyllene (13.65 %) and germacrene D (21.12 %).

Conclusions: The essential oil of *A. inulifolium* presents low activity against gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus* (CIM 5000 $\mu\text{g/mL}$) and *Enterococcus faecalis* (10 000 $\mu\text{g/mL}$), while it presents good activity against gram-negative bacteria with a MIC of 78 $\mu\text{g/mL}$ for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomona aeruginosa*.

Keywords: Asteraceae; *Austro eupatorium inulifolium*; essential oil, germacrene D; β -caryophyllene; β -pinene; α -pinene; antibacterial activity.

Recibido: 24/06/2019

Aceptado: 14/11/2019

Introducción

Austro eupatorium inulifolium (Kunth) (*Austro eupatorium inulifolium* (H.B.K.), R. M. King & H. Rob. *Eupatorium inulifolium* (Kunth) es una especie que pertenece a la familia Asteraceae que crece en Sudamérica, desde Panamá hasta la Argentina. Se desarrolla en sabanas y borde de bosques entre los 100 a 2100 metros de altura.⁽¹⁾ De la especie *A. inulifolium* se han aislado, en otras investigaciones, diterpenos de la serie *ent*-kaureno, derivados de nor-*ent*-labdano,^(2,3) y una lactona sesquiterpenica (neurolein B), la que presentó actividad antimalarica.⁽⁴⁾

Extractos y aceites esenciales obtenidos de la especie han mostrado su actividad insecticida y antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* *Bacillus subtilis*,^(5,6,7,8) antifúngica,⁽⁹⁾ antiviral;⁽¹⁰⁾ incluso compuestos tipo flavonoide de las especies del género *Eupatorium* presentaron actividad antiproliferativa *in vitro* en células leucémicas humanas.⁽¹¹⁾ Otras especies de la familia Asteraceae se han descrito por su actividad antiinflamatoria, diurética y contra infecciones renales, de boca, garganta, piel y afecciones gastrointestinales.^(12,13,14) Asimismo, estudios de actividad antimicrobiana de los extractos acetónicos y metanólicos de *Eupatorium aschembornianum* frente a cepas de *Pseudomonas syringae* y *Pseudomonas aeruginosa* (fitopatógenas) respectivamente, mostraron sensibilidad ante los extractos.⁽¹⁵⁾

En Colombia el estudio *in vitro* de aceites esenciales como conservantes de carne de pescado mostró que el aceite de *A. inulifolium* (salvia amarga o salvia como se le conoce comúnmente) en concentración de 8 mg/ml produce inhibición bacteriana de *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*.⁽¹⁶⁾ Desde el punto de vista etnobotánico, en el oriente Antioqueño (Colombia) se determinó que en la categoría medicinal entre las familias con mayor porcentaje de especies están las: Asteraceae (21,05 %), Lamiaceae (7,02 %) y Solanaceae (4,02 %). Las más empleadas en esta categoría fueron: *Austro eupatorium inulifolium* (salvia), *Heliopsis buphthalmoides* (yuyo quemado) y *Bidens pilosa* (cadillo) respectivamente.⁽¹⁷⁾

Resultados similares se observaron en el estudio sobre conocimiento tradicional de plantas medicinales entre los habitantes de Santiago Tepetitlán y San Martín de las Pirámides (México), donde se agruparon 46 familias botánicas, siendo Asteraceae la mejor representada (45,6 %), Solanaceae (15,2 %), Amaranthaceae y Lamiaceae (10,8 %), Apiaceae y Fabaceae (8,7 %). Estas plantas medicinales se usan principalmente para problemas del sistema digestivo (31,3 %), como analgésicos (11,8 %), sistema respiratorio (10,8 %), piel (8,1 %), traumatismos (7,5 %) y sistema reproductor (7,0 %).⁽¹⁸⁾

El estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador reflejó que las familias con mayor número de especies medicinales en todo el estudio fueron: Lamiaceae (7 especies, 16,3 %), seguida por Asteraceae (4 especies, 9,3 %) y por Apiaceae, Crassulaceae, Fabaceae, Poaceae y Rutaceae (2 especies cada una).⁽¹⁹⁾

Por otra parte, el estudio de la composición química de *A. inulifolium* realizado en Colombia muestra como componentes mayoritarios: α -pineno (9,0 %), germacreno D (7,50 %), *trans*- β -cariofileno (14,80 %), y óxido de ledeno (13,50 %).⁽¹²⁾ Otro estudio realizado en Argentina señala como componentes mayoritarios: β -cariofileno (27,72 %), germacreno D (13,66 %), δ -elemeno (10,57 %), limoneno (9,73 %), patchuleno (9,24 %) y viridiflorol (9,16 %).⁽²⁰⁾ En Brasil se estudiaron los componentes volátiles de 6 especies en diferentes áreas geográficas mostrando como componentes mayoritarios: α -pineno (4,1 %), β -pineno (0,2 %-18,9 %), β -cariofileno (39,2 %), biciclogermacreno (2,2 % a 32,8 %), germacreno (2,7 % a 17,3 %), espatulenol (1 % a 50,5 %) y óxido de cariofileno (1,3 % a 26,8 %).⁽²¹⁾

El presente estudio tiene como objetivo analizar la composición química del aceite esencial, de las hojas frescas, de la especie *A. inulifolium* y su actividad antibacteriana sobre: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Pseudomona aeruginosa*.

Métodos

Material vegetal

Las hojas frescas de *Austro eupatorium inulifolium* fueron recolectadas en enero de 2018 en la vía San Pedro, específicamente en la parroquia Tovar, municipio Tovar del estado Mérida, República Bolivariana de Venezuela. El Municipio se encuentra en la región Occidental de Venezuela, al suroeste del estado Mérida, ubicada entre los 8° 14' 37" y 8° 26' 30" de latitud norte y entre 71° 39' 10" y 71° 48' 24" de longitud Oeste. El municipio cubre una superficie de 184 km² presenta un relieve de Valle en forma de "V", dividido por dos cordilleras montañosas con alturas máximas de 3100 m.s.n.m., con una altitud media de 952 m.s.n.m y altas pendientes que oscilan entre los 30 % y 45 % de inclinación. El clima se caracteriza por un régimen bimodal, porque tiene temporada lluviosa y temporada de sequía, con precipitaciones promedios mensuales superiores a 120 mm. Las temperaturas promedio municipal son de 22 °C, sin embargo, la temperatura disminuye hasta alcanzar los 10 °C en las zonas altas del Páramo.⁽²²⁾

Una muestra de la planta se depositó en el herbario MERF "Luis Ruiz Terán" de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo el número ME01. La planta fue identificada por el Ingeniero Forestal Juan Carmona Arzola.

Obtención del aceite esencial

Las hojas frescas (856 g) de *Austro eupatorium inulifolium* se licuaron y sometieron a destilación por arrastre con vapor de agua (3 h), empleando una trampa de Clevenger. Se obtuvo 1,40 mL de aceite esencial color amarillo (0,16 % rendimiento). El aceite se conservó a - 4 °C hasta su uso para ensayos biológicos.

Análisis de composición química

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-SM)

Los componentes volátiles del aceite esencial de *A. inulifolium* se analizaron por GC-MS con un cromatógrafo Hewlett Packard Modelo 5973 (USA), equipado con una columna HP-5MS de 30 m de largo x 0,25 mm de diámetro x 0,25 µm de grosor de la película. La temperatura del inyector a 230 °C, la temperatura del cuádruplo a 150 °C, gas transportador: Helio a una velocidad lineal de 34 m/s; energía de ionización 70 eV; rango de scan de 40-50 amu; 3.9 scan/s. El volumen de inyección 1 µL de una solución diluida al 2% en éter dietílico. La identificación de los compuestos fue basada en la base de datos Wiley MS Data Library y NIST 05, los índices de Kovats se compararon con valores disponibles en la literatura.⁽²³⁾ Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico de la marca Merck.

Cálculo de los índices de Kovats

El cálculo de los índices de Kovats se realizó por medio de un cromatógrafo de gases marca Hewlett (el mismo equipo empleado anteriormente). Comparando los tiempos de retención de una serie de *n*-parafinas (C7-C22) con los del aceite esencial. Los valores obtenidos se confrontaron con los valores publicados en la literatura.⁽²⁴⁾

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se evaluó de acuerdo al método de difusión en agar con discos de papel,⁽²⁵⁾ utilizando las cepas de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 proporcionadas por el Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

A las bacterias que mostraron zona de inhibición para el aceite esencial se les determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM), se prepararon diluciones del aceite esencial con dimetilsulfóxido (DMSO) a concentraciones desde 50 a 10.000 $\mu\text{g/mL}$. Para el control positivo se emplearon los antibióticos de referencia: eritromicina® (150 μg), vancomicina® (30 μg), ampicilina-sulbactam® (10 μg - 10 μg), aztreonam® (30 μg), ciprofloxacina® (30 μg) y ceftazidima® (30 μg) y como control negativo el DMSO. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Resultados

Composición química del aceite

Del proceso de hidrodestilación, de las hojas frescas de *A. inulifolium*, se obtuvo 1,40 mL de aceite esencial, con un rendimiento de 0,16 %, que se analizó por CG-SM. Se lograron identificar, a partir de las comparaciones realizadas con las bases de datos Wiley, Adams, Nist y los índices de retención (IK), 35 compuestos que representan el 90,07 % de la mezcla. La tabla 1 muestra los compuestos volátiles identificados del aceite esencial obtenido de *A. inulifolium*. Los compuestos mayoritarios identificados fueron: el germacreno D (20,18 %), β -cariofileno (13,04 %), β -pineno (8,73 %) y α -pineno (6,60 %).

El análisis de los resultados mostró que en el aceite esencial de *A. inulifolium* los sesquiterpenos hidrocarburos fueron los componentes más abundantes, con un 54,94 %, seguido de los monoterpenos hidrocarburos con un 21,75 %.

Tabla 1 - Componentes identificados del aceite esencial de *A. inulifolium*

# PK	Nombre del compuesto	TR	%	IK Cal	IK Tab
1	α -pineno	5,43	6,60	931	932
2	sabineno	6,33	1,52	963	974
3	β -pineno	6,45	8,73	966	969
4	Mirceno	6,71	0,71	975	988
5	δ -3-careno	7,76	3,66	1008	1008
6	<i>trans</i> - β -ocimeno	8,26	0,34	1031	1044
7	α -terpinoleno	9,49	0,19	1081	1086
8	terpinen-4-ol	12,31	0,22	1175	1174
9	δ -elemeno	17,48	0,72	1341	1434
10	α -copaeno	18,71	0,99	1378	1374
11	β -bourboneno	19,00	0,37	1386	1387
12	β -cubebeno	19,16	0,51	1390	1387
13	β -elemeno	19,21	0,41	1392	1389
14	β -cariofileno	20,15	13,04	1424	1417
15	γ -elemeno	20,48	0,23	1436	1434
16	α -humuleno	21,14	2,21	1458	1452
17	γ -muuroleno	21,75	0,63	1479	1478
18	germacreno-D	22,07	20,18	1490	1484
19	epi-biciclosesquifelandreno	22,32	1,15	1498	1499
20	Biciclogermacreno	22,46	4,17	1502	1500
21	α -muuruleno	22,54	2,22	1505	1500
22	δ -amorfeno	22,75	0,95	1511	1513
23	γ -cadineno	22,96	0,92	1518	1513
24	δ -cadineno	23,22	2,03	1526	1522
25	α -cadinene	23,64	0,88	1539	1537
26	Elemol	23,98	0,58	1550	1548
27	B-germacreno	24,24	2,75	1557	1559
28	maaliol	24,40	3,78	1562	1567
29	Spatulenol	24,96	3,76	1579	1577
30	viridiflorol	25,25	0,53	1587	1592
31	Guaiol	25,38	0,55	1591	1600
32	Ledol	25,98	2,01	1612	1602
33	epi- α -muurolol	26,63	0,40	1638	1642
34	β -eudesmol	26,88	0,80	1648	1649
35	α -cadinol	26,97	1,33	1652	1654

Nota: Los compuestos están listados según su orden de elución en columna capilar HP-5-MS; TR: tiempo de retención; %: porcentaje en la mezcla; IK Cal: Índice de Kovats calculado; IK Tab: Índice de Kovats tabulado.

La tabla 2 muestra el porcentaje de los componentes determinados en el aceite esencial de *A. inulifolium*. Como se puede observar los sesquiterpenos hidrocarburos (21,75 %) son los que se encuentran en mayor proporción con respecto a los monoterpenos oxigenados (0,22 %).

Tabla 2 - Compuestos identificados del aceite esencial de *A. inulifolium*

Nombre del compuesto	%
Monoterpenos hidrocarburos	21,75
Monoterpenos oxigenados	0,22
Sesquiterpenos hidrocarburos	54,94
Sesquiterpenos oxigenados	13,16
Total de compuestos identificados	90,07

Actividad antibacteriana

El aceite esencial *A. inulifolium* mostró actividad antibacteriana cuando se empleó el método de difusión en agar con discos, frente a las bacterias gram-positivas: *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* presentando una CIM de 5 000 µg/mL y 10 000 µg/mL respectivamente y también frente a las bacterias gram-negativas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, con una CIM de 78 µg/mL para cada una de las cepas.

Discusión

Como resultado del estudio se obtiene que los sesquiterpenos hidrocarburos son los componentes más abundantes del aceite esencial de *Austro eupatorium inulifolium* (Kunth) King & Robinson (Asteraceae). Estos están presentes en un 54,94 %, seguido de los monoterpenos hidrocarburos con un 21,75 %. Esto coincide con una de las 6 especies estudiadas en Brasil cuyo porcentaje de monoterpenos hidrocarburos fue de 25,5 % y sesquiterpenos hidrocarburos 43,2 %.⁽²¹⁾ En las otras especies predominan los sesquiterpenos hidrocarburos (39,2 %; 41,7 %; 45,1 %) y en otras sesquiterpenos oxigenados (57,0 % y 71,7 %).

Los aceites analizados en Colombia y Argentina tienen porcentajes muy bajos de monoterpenos (9 % a trazas, respectivamente) y con porcentajes más altos de sesquiterpenos hidrocarburos (33,3 % a 61,62 % respectivamente). Estas diferencias en la composición química se deben a la posible existencia de variedades de la especie o a las condiciones climáticas, altura, intensidad de luz y estación.⁽²⁶⁾

El componente mayoritario germacreno D determinado en *A. inulifolium* se ha descrito por su actividad antibacteriana, además, del papel que juega como precursor de algunos sesquiterpenos como cadinenos y selinenos, descritos, también, por su amplia actividad antibacteriana.^(16,27) Sin embargo, el resto de los compuestos mayoritarios como: α -pineno, β -pineno, β -cariofileno y otros compuestos minoritarios (mirceno, γ -muuroleno, γ -cadineno) del aceite esencial de *A. inulifolium*, han sido descritos, también de forma individual o como parte de compuestos de los aceites esenciales de diversas especies de la familia Asteraceae y en todos los casos se ha determinado una amplia actividad biológica, fundamentalmente antibacteriana.^(8,20,21) Estos resultados permiten inferir que los compuestos de los aceites esenciales con actividad biológica y, en específico, antibacteriana no dependen exclusivamente de su valor porcentual en el aceite, sino, también, de posibles interacciones sinérgicas entre los componentes.

En la actualidad no se tienen criterios estándares para definir la actividad antimicótica y antibacteriana de productos naturales. Sin embargo, esta actividad se ha clasificado con base al valor de la CIM, a partir de los siguientes criterios: CIM inferior o igual a 100 $\mu\text{g/mL}$: buena; CIM entre 100 - 500 $\mu\text{g/mL}$: moderada; CIM entre 500 - 1000 $\mu\text{g/mL}$: débil.⁽²⁸⁾ Según estos criterios podemos indicar que el aceite esencial de *A. inulifolium* presenta actividad débil frente a bacterias gram-positivas y buena actividad frente a bacterias gram-negativas.

La actividad antibacteriana obtenida para el aceite esencial de *A. inulaefolium* contra *S. aureus* (CIM 5 000 µg/mL) refleja ser mayor que la alcanzada en estudios anteriores con los extractos alcohólicos de *A. inulifolium* frente a cepas de *S. aureus* a CIM de (50 000 µg/mL).⁽⁸⁾ Al comparar ambos resultados, se observa que el aceite esencial obtenido en este estudio muestra mayor actividad (10 veces más) frente a *S. aureus*. Los resultados publicados por Sanabria-Galindo y otros⁽⁶⁾ muestran buena actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos alcohólicos de angiospermas colombianas, contra cepas de *S. aureus* y *B. subtilis* (CIM de 3 000 µg/ml), lo que representa 1,6 veces más actividad que la obtenida en este trabajo para el aceite esencial de *A. inulifolium* contra cepas de *S. aureus*. Mientras que el efecto del aceite esencial de *A. inulifolium* frente a cepas de *Enterococcus faecalis* no ha sido descrito previamente de acuerdo con la revisión bibliográfica realizada.

El análisis de actividad del aceite esencial obtenido en bacterias gram-negativas reflejó buena actividad frente cepas de: *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* con una CIM de 78 µg/mL para todas las cepas en estudio. Sin embargo, estos resultados se consideran relevantes, porque estudios anteriores describieron que el aceite esencial⁽⁷⁾ y los extractos alcohólicos de *A. inulifolium*⁽⁵⁾ no mostraron actividad frente a bacterias gram-negativas. Los resultados alcanzados pueden deberse a la composición química particular del aceite esencial de *Austroeupeatorium inulifolium* de Los Andes venezolanos, el que se caracteriza por la mezcla particular de sesquiterpenos hidrocarburos (54,94 %), monoterpenos hidrocarburos (21,75 %) y de sesquiterpenos oxigenados como alcoholes (13,16 %) que difieren de otras regiones del continente.

Se puede concluir que, la composición química del aceite esencial de *Austroeupeatorium inulifolium*, constituida en su mayoría por sesquiterpenos hidrocarburos, monoterpenos hidrocarburos y sesquiterpenos oxigenados, es particular y diferente a las descripciones previas para esta especie en Suramérica, confiriéndole propiedades antibacteriales en mayor o menor grado contra un grupo de bacterias de importancia clínica. Presenta una buena actividad bacteriana contra las bacterias gram-negativas, lo que no coincide con resultados anteriores.

Referencias bibliográficas

1. Randall RP. A global compendium of weeds. 2nd ed.: Department of Agriculture and Food, Western Australia; 2012.
2. Triana J, Bahsas A, Delgado P, Jaimes R, Trejo C. Ent-norlabdanes and other constituents of four Venezuelan species previously classified in the genus *Eupatorium*. Journal of Natural Products. 1995;58(5):744-47.
3. Saito Y, Matsuo S, Sutoyo S, Tori M. Nine New Norlabdane Diterpenoids from the Leaves of *Austroeupatorium inulifolium*. Helv. Chim. Acta. 2011;94(2):313-26.
4. Blair S, Mesa J, Correa A, Carmona-Fonseca J, Granados H, Sáez J. Antimalarial activity of neurolenin B and derivatives of *Eupatorium inulaefolium* (Asteraceae). Pharmazie. 2002;57(6):413-5.
5. Álvarez ME, Isaza LG, Echeverry HM. Efecto antibacteriano in vitro de *Austroeupatorium inulifolium* H.B.K. (Salvia amarga) y *Ludwigia polygonoides* H.B.K. (Clavo de laguna). Biosalud. 2005;14:46-55.
6. Sanabria-Galindo A, Mendoza A, Moreno AL. Actividad antimicrobiana in vitro de angiospermas colombianas. Rev.Col.Cienc.Quim.Farm. 1998;27:47-51.
7. Bua A, Usai D, Donadu M G, Delgado J, Paparella A, Chaves-Lopez C, et al. Antimicrobial activity of *Austroeupatorium inulaefolium* (H.B.K.) against intracellular and extracellular organisms. Nat Prod Res. 2018;2(23): 2869-71.
8. Grande-Tovar C, Chaves-López C, Viuda-Martos M, Serio A, Delgado-Ospina J, Pérez-Álvarez J, et al. Sub-lethal concentrations of Colombian *Austroeupatorium inulifolium* (H.B.K.) essential oil and its effect on fungal growth and the production of enzymes. Industrial Crops and Products. 2016;87:315-23.
9. Clavin ML, Redko F, Semprine, JV, Repetto MG; Teves S, et al.; Caracterización y determinación del poder antioxidante y actividad biocida de tres especies del Género *Eupatorium*; Asociación Argentina de Químicos Cosméticos. Cosmética. 2015;30(1):17-25.

10. Ramírez A, Isaza G, Pérez J. Especies vegetales investigadas por sus propiedades antimicrobianas, inmunomoduladoras e hipoglicemiantes en el Departamento de Caldas (Colombia, Sudamérica) Biosalud. 2013;12(1):59-82.
11. Castillo Perdomo Q. Estudio de metabolitos secundarios de especies del género *Eupatorium* endémicas de Santo Domingo. [tesis doctoral] [España]: Universidad de Las Palmas de Gran Canarias; 2016.
12. Regalado AI, Sánchez CLM. Plantas cubanas con efecto antiinflamatorio. Rev Cubana de Farm. 2015;49(1):156-164.
13. Escalona LJ, Tase A, Estrada A, Almaguer ML. Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba. Guisa, Granma. Rev Cubana Plant Med. 2015;20(4):429-439.
14. Ruiz E, Moreira JM. Metabolitos secundarios en plantas medicinales usadas para problemas gastrointestinales. Una revisión sobre medicina ancestral ecuatoriana. Revista Bases de la Ciencia. 2017;2(3):1-16.
15. González AM, Quiñones EE, Rincón G. Actividad biológica de los terpenos en el área agroalimentaria. En: Espinosa H, García E, Gastélum E. Los compuestos bioactivos y tecnologías de extracción. Primera Edición. México: CIATEJ, A.C ISBN 978-607-97421-5-7; 2016. pp. 33-49.
16. Argote-Vega FE. Estudio de mercado y conservación de carne de pescado mediante aceites esenciales. Revista investig.pecu. 2016 [acceso 27/07/2019];(Supl):95-96. Disponible en: <http://revistas.udenar.edu.co/index.php/revip/article/view/3000>
17. Quijano-Abril MA. Etnofitoteca virtual de la flora del Oriente Antioqueño, Ecología y Estrategias de conservación. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales; 2016. pp. 199-213 [acceso 03/07/2019] Disponible en: <http://repositorio.accefyn.org.co/handle/001/111>
18. Ávila MM, García SN, Sepúlveda AS, Godínez MA. Plantas medicinales en dos poblados del municipio de San Martín de las Pirámides, Estado de México. Polibotánica. 2016;42:215-245.

19. Zambrano LF, Buenaño MP, Mancera NJ, Jiménez E. Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. Rev Univ. salud. 2015;17(1):97-111.
20. Lancelle HG, Giordano OS, Sosa ME, Tonn CE. Composición química de cuatro aceites esenciales provenientes de *Eupatorium spp.* y su toxicidad para *Tribolium castaneum* (Coleoptera: tenebrionidae). Rev. Soc. Entomol. Argent. 2009;68(3-4):329-338.
21. De Souza T. Determinação da composição química e avaliação preliminar das atividades antioxidante e anticolinesterásica dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* L. (asteraceae). [Tesis de maestría]. Brazil. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas; 2007.
22. Aproximación a la Formulación de un Plan Municipal de Ordenación del Territorio. Municipio Tovar. 2009 [acceso 29/03/2020] Disponible en: <https://es.slideshare.net/gueste5b59e/municipio-tovar-estado-merida>
23. Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th. Edition. Carol Stream, Illinois USA: Allured Publishing Corporation; 2007. p. 804.
24. Davies N. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20 M phases. Journal of Chromatography. 1990;503:1-24.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th edition. Estados Unidos: CLSI; 2017.
26. Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJC. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour Fragr. J 2008;23(4):213–26.
27. Bülow N, König WA. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: Investigation of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. Phytochemistry. 2000;55(2):141-68.

28. Zapata B, Duran C, Stashenko E, Betancur-Galvis L, Mesa-Arango A. Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la familia Asteraceae. Rev Iberoam Micol. 2010;27(2):01–103.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

María Eugenia Lucena: diseño y coordinación de la investigación, determinación de la actividad antibacteriana.

María Escalante Contreras y Viviana González Moreno: determinación de la actividad antibacteriana.

Luís Rojas-Fermín: análisis químico por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

Yndra Cordero de Rojas y Francisco Javier Ustáriz Fajardo: asesores metodológicos de laboratorio y redacción del artículo.

Juan Carmona: identificación taxonómica de la planta.

Silvia Torres: análisis de datos.

Financiación

Programa de Apoyo a Grupos de Investigación (ADG) del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes, Universidad de Los Andes, Mérida, República Bolivariana de Venezuela bajo el código de FA-578-15-08-A.

Grupo de Investigación: Productos Naturales y Química Medicinal. Instituto de Investigaciones. Sección Productos Naturales. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, República Bolivariana de Venezuela.