

# Composición química y efecto antifúngico de los aceites esenciales de tres especies de frailejones de Los Andes venezolanos

Chemical composition and antifungal effect of the essential oils of three species of the Venezuelan Andes frailejons

YNDRA CORDERO DE ROJAS<sup>A</sup>, CLARA A. DÍAZ G.<sup>B</sup>, JUDITH VELASCO<sup>B</sup>,  
LUIS B. ROJAS-FERMÍN<sup>C,\*</sup>, ROSA APARICIO<sup>C</sup>, ALFREDO USUBILLAGA<sup>C</sup>, CARLA  
COLMENARES<sup>A</sup>, ANDREA CARNEVALI<sup>A</sup>

## Resumen

Los aceites esenciales de las partes aéreas de *Coespeletia moritziana*, *Espeletia schultzii* y *Coespeletia timotensis*, fueron obtenidos por hidrodestilación y analizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-SM). Los rendimientos fueron de 0,8 mL, 1 mL y 0,5 mL respectivamente. Los componentes mayoritarios encontrados fueron:  $\beta$ -felandreno (28,42%),  $\alpha$ -pineno 25,16%,  $\beta$ -pineno 10,05% y kaurenal 4,63% para *Coespeletia moritziana*;  $\alpha$ -felandreno (15,34%), limoneno (14,52%), mirceno (12,1%) y  $\alpha$ -pineno (7,74%) para *E. schultzii*;  $\beta$ -felandreno (48,08%),  $\alpha$ -pineno (21,68%),  $\beta$ -pineno (8,68%) y  $\gamma$ -cadineno (3,98%) para *Coespeletia timotensis*.

**Palabras clave:** Asteraceae, *Coespeletia moritziana*, *Espeletia schultzii*, *Coespeletia timotensis*, aceites esenciales, actividad antifúngica

## Abstract

Essential oils of aerial parts of *Coespeletia moritziana*, *Espeletia schultzii* and *Coespeletia timotensis*, were obtained by hydrodistillation and analyzed by Gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS). The yields were 0.8 mL, 1 mL and 0.5 mL respectively. The main components were:  $\beta$ -phellandrene (28.42%),  $\alpha$ -pinene 25.16%,  $\beta$ -pinene 10.05% and kaurenal 4.63% for *Coespeletia moritziana*;  $\alpha$ -phellandrene (15.34%), limonene (14.52%), mircene (12.1%) and  $\alpha$ -pinene (7.74%) for *E. schultzii*;  $\beta$ -phellandrene (48.08%),  $\alpha$ -pinene (21.68%),  $\beta$ -pinene (8.68%) and  $\gamma$ -cadinene (3.98%) for the *Coespeletia timotensis* sample.

**Key words:** Asteraceae, *Coespeletia moritziana*, *Espeletia schultzii*, *Coespeletia timotensis*, essential oil, antifungal activity

A Laboratorio de Bioquímica.

B Departamento de Microbiología y Parasitología.

C Instituto de Investigaciones "Dr. Alfredo Usubillaga del Hierro".

Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

\* Correspondencia: rojasl@ula.ve.

## Introducción

De todas las especies de Angiospermas (plantas con flores), la familia de las Asteraceae (Compositae) es la más grande y ha sido objeto de numerosos estudios. En Venezuela se conocen cerca de 760 géneros y 210 especies (Badillo, 1997). Los frailejones, sub-tribu Espeletiinae, son representantes característicos de los páramos venezolanos, estos se agruparon inicialmente en el género *Espeletia*. Este nombre fue creado por José Celestino Mutis en honor al Virrey del Nuevo Reino de Granada José Ezpeleta y fue publicado oficialmente por Humboldt y Bonpland en *Plantae Aequinoctiales 1808* (Humboldt y Bonpland, 1808). Weddell (1856) dividió el género *Espeletia* en dos grupos, árboles (con dos especies) y hierbas (con nueve). Standley (1915), describió 17 especies, siendo el primero en mencionar el característico crecimiento en forma de roseta de muchas especies de frailejón.

Un estudio completo del género fue realizado por Smith y Koch (1935) quienes describieron la morfología, anatomía floral y palinología. Este estudio incluye 30 especies distribuidas en Colombia y Venezuela, extendiéndose hasta el norte de Ecuador. Cuatrecasas creó la sub-tribu Espeletiinae, subdividida en siete (7) géneros (Cuatrecasas, 1976; Bohlmann, 1990; Badillo, 2001): *Carramboia* Cuatrec. (7 especies), *Coespeletia* Cuatrec. (8 especies), *Espeletia* Mutis ex H. et B. (19 especies), *Espeletiopsis* Cuatrec. (7 especies), *Libanothamnus* Ernst (19 especies), *Ruilopezia* Cuatrec. (24 especies) y *Tamania* Cuatrec. (1 especie).

En los últimos años se han analizado los aceites esenciales de varias especies de la subtribu Espeletiinae de los páramos venezolanos. Como ejemplo tenemos el estudio de los componentes volátiles de las especies: *Espeletia batata* Cuatrec. (Usubillaga y col., 2001), *Espeletia*

Tabla I

### Componentes volátiles mayoritarios identificados en los aceites esenciales obtenidos previamente de *C. moritziana*, *E. schultzii* y *C. timotensis*

Especie	Lugar	Fecha / Altitud	Componentes mayoritarios	Referencia
<i>C. moritziana</i>	Piñango	09/02/1998 3750 m	$\alpha$ -pineno (38,9%), $\beta$ -pineno (16,7%), $\beta$ -felandreno (7,6%)	Aparicio y col., 2002
<i>C. moritziana</i>	La Culata	12/09/1999 3800 m	$\alpha$ -pineno (47%), $\beta$ -pineno (19,5%), mirceno (7,6%)	Aparicio y col., 2002
<i>C. moritziana</i>	Pico del Águila	22/09/2002 4100 m	$\alpha$ -pineno (46,1%), $\beta$ -pineno (16,9%), $\beta$ -felandreno (18%)	Ibañez y Usubillaga, 2006a
<i>C. moritziana</i>	Los Osos	25/05/2004 3700 m	$\alpha$ -pineno (54,1%), $\beta$ -pineno (15,6%), mirceno (10,1%)	Ibañez y Usubillaga, 2006a
<i>C. timotensis</i>	Pico del Águila	01/11/1998 4000 m	$\alpha$ -pineno (27,1%), $\beta$ -pineno (11,83%), $\beta$ -felandreno (45,7%)	Rojas y col., 1999
<i>E. schultzii</i>	La Culata	03/07/2002 2800 m	$\alpha$ -tujeno (14,8%), $\alpha$ -pineno (27,4%), $\alpha$ -felandreno (13,7%), mirceno (16,1%)	Ibañez y Usubillaga, 2006b
<i>E. schultzii</i>	Los Osos	09/07/2002 3700 m	$\alpha$ -tujeno (8,3%), $\alpha$ -pineno (28,7%), $\alpha$ -felandreno (15,8%), mirceno (14,5%)	Ibañez y Usubillaga, 2006b
<i>E. schultzii</i>	Pico Águila	18/11/2002 4100 m	$\alpha$ -tujeno (2,1%), $\alpha$ -pineno (15,3%), $\alpha$ -felandreno (45,6%), mirceno (8,2%)	Ibañez y Usubillaga, 2006b

Las hojas fueron recolectadas en especies sin floración

*semiglobulata* Cuatrec. (Usubillaga y Capra, 1988), *Espeletia weddellii* Sch. Bip. ex Wedd. (Khouri y col., 2000), *Coespeletia timotensis* (Rojas y col., 1999), *Libanothamnus* (Usubillaga y col., 2001), *Coespeletia* (Aparicio y col., 2002) y *Carramboa trujillensis* (Obregón-Díaz y col., 2015). En la mayoría de los análisis de estos aceites los componentes mayoritarios son monoterpenos hidrocarburos de la serie mentano y pinano. Algunos de los sesquiterpenos más abundantes en las mezclas volátiles fueron el cadineno,  $\alpha$ -gurjuneno.

Los aceites esenciales de las especies objeto del presente estudio fueron descritos previamente. La **Tabla I** muestra los componentes volátiles mayoritarios identificados en las hojas de las especies *Coespeletia moritziana*, *Espeletia schultzii* y *Coespeletia timotensis*, a diferentes altitudes y épocas del año.

A diferencia de los antibacterianos, se cuenta con pocos antifúngicos para el tratamiento de las infecciones micóticas, algunas sustancias con esta actividad pueden ser inestables o tóxicas para los seres humanos (Ryan y Ray, 2011). Por otra parte, los hongos son organismos que se caracterizan por presentar una gran plasticidad ante los cambios ambientales, al igual que las bacterias también han desarrollado mecanismos de resistencia a los principales grupos antifúngicos. Como consecuencia, la incidencia de las infecciones fúngicas va en ascenso, particularmente entre individuos inmunocomprometidos. Aunque *Candida albicans* continúa siendo la especie comúnmente más implicada en la forma invasiva y no invasiva de Candidiasis, el número de infecciones humanas causadas por otras especies

como *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei* ha incrementado (Ernst y Rogers, 2005). En este sentido, en el presente trabajo se determinó la composición química y la actividad antifúngica de los aceites esenciales obtenidos de dos especies de *Coespeletia* y una de *Espeletia* recolectadas en los Andes venezolanos.

## Materiales y métodos

### MATERIAL VEGETAL

Un kilogramo de hojas frescas de las especies: *Coespeletia moritziana* (Sch.Bip. ex Wedd.) Cuatrec., *Espeletia schultzii* Wedd. y *Coespeletia timotensis* Cuatrec., fueron recolectadas en enero del 2011 en Pico el Águila, Mérida Venezuela, a 4.118 msnm. Los ejemplares testigos fueron depositados en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

### OBTENCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Las hojas fueron cortadas en pequeños trozos y se sometieron a hidrodestilación empleando la trampa de Clevenger durante 4 h. Los rendimientos fueron de 0,8 mL, 1 mL y 0,5 mL para *C. moritziana*, *E. schultzii* y *C. timotensis*, respectivamente y fueron secados con sulfato de sodio anhidro y almacenados a 4 °C.

### CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)

El análisis por Cromatografía de Gases fue realizado en un cromatógrafo de marca Perkin Elmer, modelo Autosystem con un detector de ionización de llama. Se empleó una columna HP-5 de 30 metros de largo, 0,25 mm de diámetro y 0,25  $\mu$ m de film. Se usó Helio como gas portador con un flujo de 1 mL/min.

Se empleó una temperatura inicial de 60 °C (1 min) y luego se calentó a razón de 4 °C/min hasta 260 °C. El inyector se mantuvo a 200 °C y el detector a 230 °C. Se determinaron los índices de Kováts que fueron calculados en relación con una serie de n-alcános de C8-C24 y comparados con valores reportados en la literatura (Adams, 2007).

#### CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (CG-EM)

Los análisis se realizaron en un cromatógrafo Hewlett-Packard 6890 acoplado a un detector de masas HP5973. El cromatógrafo estaba equipado con una columna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm diámetro interno y espesor de película 0,25 µm). La temperatura del inyector y el programa fueron los mismos usados para el análisis CG. Se inyectó una muestra de 1,0 µL de una solución al 2% del aceite esencial en n-heptano con reparto 100:1. La identificación de sus componentes se efectuó mediante comparación computarizada con las bases de datos: Wiley MS Data y NIST 05.

#### EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

La actividad antifúngica se evaluó por el método de difusión en agar con discos descrito por Velasco y col. (2007), contra *Candida albicans* CDC B-385 y *Candida krusei* ATCC 6258, con algunas modificaciones.

La concentración inhibitoria mínima (CIM) se determinó solo contra los microorganismos que mostraron zonas de inhibición. La CIM se realizó diluyendo el aceite esencial en dimetil sulfóxido (DMSO) con un rango de concentración entre 10 y 600 µg/mL, de cada dilución se tomaron 10 µL y se impregnaron los discos. La CIM fue definida como la concentración más

baja que inhibió el crecimiento visible de las levaduras (CLSI, 2017). También se incluyó un control negativo que consistió en un disco de papel de filtro impregnado con DMSO. Los ensayos se realizaron por duplicado.

Tabla II

#### Componentes volátiles identificados en los aceites esenciales obtenidos de *Coespeletia moritziana*, *Espeletia schultzei* y *Coespeletia timotensis*

	Compuesto	TR	CM%	ES%	CT%	Ikcal
1	3Z-hexenol	3,77	-	-	0,13	859
2	$\alpha$ -tujeno	5,06	-	2,62	0,14	931
3	$\alpha$ -pineno	5,24	25,16	7,74	21,68	939
4	sabineno	6,11	0,43	0,48	2,18	976
5	$\beta$ -pineno	6,21	10,05	3,12	8,68	979
6	mircene	6,49	0,97	12,1	0,27	990
7	$\alpha$ -felandreno	6,88	0,29	15,34	0,29	1005
8	$\alpha$ -terpineno	6,96	-	-	0,20	1018
9	$\beta$ -cimeno	7,42	0,28	3,04	0,46	1027
10	limoneno	7,54	-	14,52	-	1032
11	$\beta$ -felandreno	7,58	28,42	-	48,08	1033
12	cis- $\beta$ -ocimeno	7,74	-	1,53	-	1039
13	trans- $\beta$ -ocimeno	8,04	-	4,31	-	1050
14	$\gamma$ -terpineno	8,38	-	-	0,65	1062
15	terpinoleno	9,25	0,18	0,26	0,36	1091
16	nonanal	9,70	0,35	0,78	0,27	1106
17	4-isopropil-1-metil-2-ciclohexen-1-ol	10,29	0,3	-	0,71	1127
18	$\alpha$ -camfolenal	10,42	0,58	-	0,13	1132
19	sabinol	10,84	0,98	-	0,7	1146
20	terpin-4-ol	12,06	0,71	0,26	1,64	1184
21	criptona	12,37	-	-	0,42	1194
22	$\alpha$ -terpineol	12,49	0,7	-	0,48	1197
23	trans-piperitol	12,64	-	-	0,18	1201
24	mirtenol	12,68	0,75	-	0,21	1203
25	4-alil-anisol	12,71	-	0,51	-	1196
26	trans- $\alpha$ -bergamoteno	20,30	0,65	-	-	1446
27	$\alpha$ -humuleno	20,88	-	0,85	-	1466
28	$\gamma$ -cadineno	22,02	4,36	-	3,98	1505
29	biciclogermacreno	22,19	-	1,12	-	1510
30	Ar-curcumeno	24,57		1,9	-	1584
31	espatulenol	24,58	0,83	-	-	1584
32	óxido de cariofileno	24,74	0,38	1,09	-	1589
33	selina-6-en-4-ol	25,75	1,13	-	1,01	1612
34	siliperfol-6-eno-5-ona	25,88	0,98	-	-	1595
35	kaureno	36,50	0,34	-	0,3	2025
36	kaurenal	41,45	4,63	1,5	2,02	2135

TR: tiempo de retención; IKcal: Índice de Kováts calculado; CM: *Coespeletia moritziana*; ES: *Espeletia schultzei*; CT: *Coespeletia timotensis*

## Resultados

El rendimiento de los aceites esenciales varió según la especie, siendo de 0,8 mL para *Coespeletia moritziana*, de 1 mL para *Espeletia schultzii* y 0,5 mL para *C. timotensis*. De las tres especies se logró identificar aproximadamente más del 90% de los compuestos que los integran (**Tabla II**), a continuación se mencionan los componentes mayoritarios de cada especie, para *C. moritziana*:  $\beta$ -felandreno 28,42%,  $\alpha$ -pineno 25,16%,  $\beta$ -pineno 10,05% y kaurenal 4,63%; para *E. schultzii* se identificaron  $\alpha$ -felandreno (15,34%), limoneno (14,52%), mirceno (12,1%) y  $\alpha$ -pineno (7,74%) y para *C. timotensis* se aislaron  $\beta$ -felandreno (48,08%),  $\alpha$ -pineno (21,68%),  $\beta$ -pineno (8,68%) y  $\gamma$ -cadineno (3,98%).

Los resultados de la actividad antifúngica (**Tabla III**) muestran que los aceites esenciales de las especies de *Coespeletia* inhibieron el desarrollo de *Candida albicans* y *Candida krusei* con halos de inhibición que oscilaron entre 7 y 10 mm de diámetro y valores de CIM entre 110 y 510  $\mu\text{g/mL}$ . El aceite esencial de *E. schultzii* fue activo solo contra *Candida albicans*.

## Discusión

Los compuestos químicos mayoritarios, en las especies *Coespeletia moritziana*, *Espeletia schultzii* y *C. timotensis* son exclusivamente hidrocarburos monoterpénicos. *E. schultzii* contiene  $\alpha$ -felandreno y limoneno como los más abundantes, esto difiere de los estudios previos con *E. schultzii*, en los cuales se reportan como componentes mayoritarios  $\alpha$ -tujeno,  $\alpha$ -pineno,

Tabla III

### Actividad antifúngica de los aceites esenciales obtenidos de *Coespeletia moritziana*, *Espeletia schultzii* y *Coespeletia timotensis*

Microorganismos	Halos de inhibición (mm)* (discos de 6 mm de diámetro)					CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	Aceite esencial			Control positivo		Aceite esencial		
	CM	ES	CT	FLU	VOR	CM	ES	CT
CA	10*	7*	8*	32*	-	510	210	410
CK	9*	NA	7*	-	30*	110	NA	510

CA: *Candida albicans* CDC-B385; CK: *Candida krusei* ATCC 6258; CM: *Coespeletia moritziana*; ES: *Espeletia schultzii*; CT: *Coespeletia timotensis*; NA: No activo, CIM: concentración inhibitoria mínima (rango de concentración 10-600  $\mu\text{g/mL}$ ); FLU: Fluconazol® 100  $\mu\text{g}$ ; VOR: Vorcum® (400  $\mu\text{g/mL}$  de Voriconazol)

$\alpha$ -felandreno y mirceno (**Tabla I**). Las dos especies de *Coespeletia* producen como componentes mayoritarios  $\beta$ -felandreno y  $\alpha$ -pineno, lo cual muestra una relación química entre las dos. Por otro lado la composición química reportada previamente para *C. moritziana*, recolectadas en Piñango, La Culata y Los Osos difieren en la concentración de  $\beta$ -feladreno, mientras que la especie recolectada en Pico el Águila coincide un poco más con la estudiada por nosotros, la cual fue recolectada en el mismo sitio. Las diferencias encontradas en los componentes volátiles obtenidos en este trabajo, con los estudiados previamente, quizás se deban a las condiciones del terreno, época del año, altitud o microorganismos relacionados con el ambiente de desarrollo de las especies (Figueiredo y col., 2008).

La actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Candida krusei* por el método de difusión en agar con discos, de las tres especies de

frailejones, mostró que las especies de *Coespeletia* tienen actividad contra *Candida albicans* y *Candida krusei*, y *Espeletia schultzii* solo contra *Candida albicans*. *Coespeletia moritziana* mostró mejor actividad contra las cepas de *Candida krusei*, esto quizás se deba al  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -felandreno, componentes mayoritarios en las especies de *Coespeletia*, a los cuales se les ha atribuido actividad antifúngica (Al-Burtamani y col., 2005; Rivas da Silva y col., 2012). Actualmente no se tienen criterios estándares para definir la actividad antimicótica de productos naturales (Zapata y col., 2010). Sin embargo, Holetz y col. (2002) clasifican la actividad antimicótica de productos naturales con base al valor de la CIM de la siguiente manera: 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. En base a lo anterior, en este trabajo se puede indicar que el aceite *Coespeletia moritziana* mostró actividad buena frente a *Candida krusei* y débil frente a *Candida albicans*, mientras que *E. schultzii* y *Coespeletia timotensis* tuvieron actividad moderada frente a las cepas estudiadas. Esta discrepancia de valores de CIM de los aceites esenciales puede explicarse por la variación en la composición de los mismos de acuerdo con los géneros y especies de plantas estudiadas (Zapata y col., 2010). Esto demuestra la posibilidad de utilizar dichos aceites esenciales como alternativa en los tratamientos de infecciones micóticas como candidiasis. De acuerdo a la literatura consultada este es el primer trabajo sobre la actividad antifúngica de aceites esenciales de *C. moritziana*, *E. schultzii* y *C. timotensis*.

## Conclusiones

Los aceites esenciales de las partes aéreas de *Coespeletia moritziana*, *Espeletia schultzii* y *Coespeletia timotensis*, recolectadas en Pico el Águila, Mérida Venezuela, mostraron un rendimiento de 0,8 mL, 1 mL y 0,5 mL respectivamente.

Los componentes mayoritarios encontrados fueron:  $\beta$ -felandreno (28,42%),  $\alpha$ -pineno (25,16%),  $\beta$ -pineno (10,05%) y kaurenal (4,63%) para *C. moritziana*;  $\alpha$ -felandreno (15,34%), limoneno (14,52%), mirceno (12,1%) y  $\alpha$ -pineno (7,74%) para *E. schultzii*;  $\beta$ -felandreno (48,08%),  $\alpha$ -pineno (21,68%),  $\beta$ -pineno (8,68%) y  $\gamma$ -cadineno (3,98%) para *C. timotensis*.

## Agradecimientos

Al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Al programa de apoyo a grupos de investigación del CDCHTA (ADG: Grupo de Productos Naturales y Química Medicinal-ULA) y proyecto FA-578-15-08-A.

## Referencias bibliográficas

- Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectrometry. Allured Publishing Corporation: USA. 2007.
- Al-Burtamani S, Fatope M, Marwah R, Onifade A, Al-Saidi S. 2005. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman. J Ethnopharmacol 96(1-2): 107-112.
- Aparicio R, Romero M, Khouri N, Rojas LB, Usubillaga A. 2002. Volatile constituents from the leaves of three *Coespeletia* species from the Venezuelan Andes. J Essent Oil Res 14(1):37-39.

- Badillo VM. 1997. Los géneros de las compositae (Asteraceae) de Venezuela. Clave para su determinación. *Ernstia* 6(2 y 3): 51–168.
- Badillo VM. 2001. Lista actualizada de las especies de la familia Compuestas (Asteraceae) de Venezuela. *Ernstia* 11(3 y 4): 147–215.
- Bohlmann F. Chemistry of the Heliantheae (Compositae). In: Research advances in the Compositae. Eds: Mabry TJ, Wagenitz G. New York. 1990. pp. 1–124.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2017. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 27th ed, Supplement M100. Wayne, Pennsylvania 19087 USA.
- Cuatrecasas J. 1976. A new sub-tribe in the Heliantheae (Compositae): Espeletiinae. *Phytologia* 35(1): 43–61.
- Ernst E, Rogers P. Antifungal Agents, Methods and protocols. Humana Press: Totowa, New Jersey. 2005. pp. 209.
- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJ. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragr J* 23(4): 213–226.
- Holetz F, Pessini G, Sanches N, Garcia Cortez D, Nakamura C, Dias Filho B. 2002. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 97(7): 1027–1031.
- Humboldt A, Bonpland A. Plantes équinoxiales recueillies au Mexique: dans l'île de Cuba, dans les provinces de Caracas, de Cumana et de Barcelone, aux Andes de la Nouvelle Grenade, de Quito et du Pérou, et sur les bords du rio-Negro de Orénoque et de la rivière des Amazones. Paris. 2:10. 1808.
- Ibañez J, Usubillaga A. 2006a. Analysis of the essential oil of two different altitudinal populations of *Coespeletia moritziana* (Sch. Bip. ex Wedd) Cuatrec. *Flavour Fragr J* 21(5): 760–763.
- Ibañez J, Usubillaga A. 2006b. The essential oil of *Espeletia schultzii* of different altitudinal populations. *Flavour Fragr J* 21(2): 286–289.
- Khouri N, Usubillaga A, Rojas LB, Galarraga F. 2000. Essential oil of *Espeletia weddellii* Sch. Bip. ex Wedd. *Flavour Fragr J* 15(4):263–265.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; Approved guideline. M44-A: Wayne, Pa, USA. 2004.
- Obregón-Díaz Y, Rojas-Fermín L, Usubillaga A, Pouységu L, Quideau S. 2015. Study of chemical composition of the essential oil from the hybrid Asteraceae *Carramboa tachirensis* (Aristg.) Cuatrec *Rev Fac Farm* 57(1): 17–21.
- Rivas da Silva A, Monteiro Lopes P, Barros de Azevedo M, Machado Costa D, Sales Alviano C, Sales Alviano D. 2012. Biological Activities of  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Pinene Enantiomers. *Molecules* 17(6): 6305–6316.
- Rojas LB, Usubillaga A, Galarraga F. 1999. Essential Oil of *Coespeletia timotensis*. *Phytochemistry* 52(8):1483–1484.
- Ryan KJ, Ray CG. Sherris Microbiología Médica. 5ta edición, McGraw-Hill Interamericana. 2011. pp. 539.
- Standley PC. 1915. The genus *Espeletia*. *Am J Bot* 2: 468–485.
- Smith AC, Koch MF. 1935. The genus *Espeletia*: a study in phylogenetic taxonomy. *Brittonia* 1(7): 479–530.
- Usubillaga A, Khouri N, Rojas LB, Morillo M. 2001. Essential oil of the leaves from *Espeletia batata* Cuatrec. *J Essent Oil Res* 13(6): 450–451.
- Usubillaga A, Capra MC. 1988. Chemical constituents of *Espeletia semiglobulata*. *Fitoterapia* LIX(5): 383–384.
- Usubillaga A, Aparicio R, Romero M, Rojas LB, Khouri N. 2001. Volatile constituents from the leaves of four *Libanothamnus* species from the Venezuelan Andes. *Flavour Fragr J* 16(3): 209–2011.
- Velasco J, Rojas J, Salazar P, Rodríguez M, Díaz T, Morales A, Rondón M. 2007. Antibacterial activity of the essential

oil of *Lippia origanoides* against multiresistant bacterial. *Nat Prod Commun* 2(1): 85–88.

Weddell, Hugh (Hugo) Algernon. *Espeletia schultzii*. *Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Chloris Andina* 1: 63. Ed. P. Bertrand. 1856.

Zapata B, Duran C, Stashenko E, Betancur-Galvis L, Mesa-Arango A. 2010. Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la familia Asteraceae. *Rev Iberoam Micol* 27(2): 101–103.

---

Recibido: 06-06-2017  
Aceptado: 20-07-2017