

APLICABILIDAD BIOTECNOLÓGICA DE ACEITES ESENCIALES DE
Lippia alba

EMA ACOSTA DE GUEVARA

AILEN MOLINA CASTILLO

UNIVERSIDAD LIBRE, SECCIONAL BARRANQUILLA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA
BARRANQUILLA
2019

APLICABILIDAD BIOTECNOLÓGICA DE ACEITES ESENCIALES DE
Lippia alba

EMA ACOSTA DE GUEVARA
AILEN MOLINA CASTILLO

Trabajo de grado para optar al título de Magister en Biotecnología

TUTORA: CLARA GUTIÉRREZ CASTAÑEDA
COTUTORA: MAILEN ORTEGA CUADROS

UNIVERSIDAD LIBRE, SECCIONAL BARRANQUILLA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
MAESTRÍA EN BIOTENOLOGÍA
BARRANQUILLA
2019

Nota de aceptación

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Barranquilla, _____ de _____ de 2019

DEDICATORIA

A los cinco caballeros de mi vida, Rafa, José Luis, Andrés Felipe, Gabriel José y Andrés Felipe, junior, por el tiempo que quedé debiéndoles para dedicarme al maravilloso mundo de las plantas aromáticas.

Ema Acosta de Guevara

DEDICATORIAS

A DIOS

He aprendido que Dios nunca falla y tampoco llega tarde. Él actúa en el momento exacto.

Este proyecto ha sido una bendición en todo sentido. Gracias a Dios pude lograr esta meta y tener la oportunidad de presentar a mi madre los resultados que validan los saberes ancestrales que tanto atesora y fueron motivación para realizar este sueño.

A MI MADRE

Gracias María Antonia, por apoyarme, por ser un ejemplo a seguir y por enseñarme que ¡todo lo puedo en Cristo que me fortalece!

Ailen Molina Castillo

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Libre, Seccional Barranquilla, por los conocimientos adquiridos durante el desarrollo de la maestría; al Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria - proyecto FONTAGRO 16598: “Development of regional microeconomies in the production of essential oils harvested in mining soils”, 2016.

También al proyecto de agenda interna de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA: “Plantas aromáticas y condimentarias: una alternativa productiva para Colombia” MADR-CORPOICA agreement TV15 resolución 00023 de 2015.

A la doctora Adriana Patricia Tofiño Rivera, PhD, por el acompañamiento en la construcción de nuevos conocimientos.

CONTENIDO

RESUMEN	11
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	15
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	19
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	20
1.3 SISTEMATIZACIÓN DEL PROBLEMA.....	21
2. JUSTIFICACIÓN	22
3. OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GENERAL	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4. MARCO REFERENCIAL	25
4.1 PLANTAS AROMÁTICAS MEDICINALES CONDIMENTARIAS Y AFINES - PAMCyA EN COLOMBIA. 25	
4.2 GÉNERO <i>Lippia</i>	28
4.2.1 <i>Lippia alba</i>	29
4.2.1.1 Usos fitoterapéuticos.....	30
4.2.2 Aspectos agronómicos	31
4.2.2.1 Condiciones agroecológicas	31
4.2.3 Cultivo.	32
4.2.3.1 Preparación del suelo.	32
4.2.3.2 Requerimientos nutricionales y fertilización.....	33
4.2.3.3 Cosecha y poscosecha.....	34
4.2.4 Aceites esenciales y metabolitos secundarios.....	34
4.2.5 Metodologías de extracción de aceites esenciales.	36
4.2.5.1 Destilación por arrastre de vapor.	38
4.2.5.2 Extracción con disolventes orgánicos	38
4.2.5.3 Hidrodestilación.	38
4.2.5.4 Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas.	38
4.2.5.5 Destilación con agua y vapor.	39
4.2.5.6 Extracción con fluidos supercríticos.....	39
4.2.6 Composición química de los aceites esenciales.	39
4.2.7 Actividad biológica y mecanismos de acción de aceites esenciales.....	41
4.3 VIGILANCIA TECNOLÓGICA	41
4.3.1 Definición y clasificación de vigilancia tecnológica.....	41
4.3.2 Procedimiento general para realizar una vigilancia tecnológica.....	42
4.3.3 Fuentes de información	44
4.3.4 Herramientas para búsqueda y análisis de la información en la vigilancia tecnológica	45
5. DISEÑO METODOLÓGICO	48
5.1 TIPO DE INVESTIGACION	48
5.2 HERRAMIENTAS METODOLÓGICAS	48
5.3 POBLACIÓN Y MUESTRA	48
5.4 PROCEDIMIENTOS.....	49
5.4.1 Revisión sistemática exploratoria de literatura científica.....	49

5.4.2 Búsqueda de patentes	50
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
6.1 TENDENCIAS EN INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE AE DE <i>Lippia alba</i>	54
6.2 ANÁLISIS DE PATENTES	63
6.3 SECTORES DE APLICABILIDAD BIOTECNOLÓGICA DEL AE DE L. ALBA	72
7. CONCLUSIONES	78
REFERENCIAS	81
ANEXOS	100
ANEXO A: LISTADO DE PLANTAS MEDICINALES ACEPTADAS CON FINES TERAPÉUTICOS	100
ANEXO B: REGISTRO EN EL VADEMECUM COLOMBIANO DE PLANTAS MEDICINALES DE PRONTO ALIVIO, MENTA Y YERBABUENA	100
ANEXO C: OBJETOS DE ESTUDIO Y SECTORES DE APLICACIÓN	100
ANEXO D: OBJETO DE ESTUDIO, TÉCNICA DE EVALUACIÓN Y TÉCNICA DE EXTRACCIÓN.....	100
ANEXO E: COMPONENTES MAYORITARIOS RESPECTO AL OBJETO DE ESTUDIO Y EFECTO EVALUADO	100
ANEXO A: LISTADO DE PLANTAS MEDICINALES ACEPTADAS CON FINES TERAPÉUTICOS	101
ANEXO C: OBJETOS DE ESTUDIO Y SECTORES DE APLICACIÓN.....	110
ANEXO D: OBJETO DE ESTUDIO, TÉCNICA DE EVALUACIÓN Y TÉCNICA DE EXTRACCIÓN.....	112
ANEXO E: COMPONENTES MAYORITARIOS RESPECTO AL OBJETO DE ESTUDIO Y EFECTO EVALUADO.	114

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Distribución por departamento de área sembrada de cultivos de plantas aromáticas, condimentarias y medicinales 2013	27
Tabla 2. Quimiotipos de <i>Lippia alba</i>	36
Tabla 3 Resumen de métodos de extracción para productos naturales	37
Tabla 4 Componentes volátiles de acuerdo con el grupo funcional mayoritario de los aceites esenciales	40
Tabla 5. Bases de datos de patentes comerciales y gratuitas empleadas para la búsqueda de patentes relacionadas con aceite esencial de <i>Lippia alba</i>	51
Tabla 6. Resultados de la búsqueda de patentes por Base de datos	53
Tabla 7. Objetos de estudio en la evaluación de la actividad biológica del aceite esencial de <i>Lippia alba</i> por sector de aplicación.....	567
Tabla 8. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Bactericida Mínima (CBM) de aceites.....	61
Tabla 9. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Fungicida Mínima (CFM) de aceites esenciales quimiotipo I y III de <i>Lippia alba</i> para hongos	62
Tabla 10. Listado de patentes utilizadas en el estudio	645
Tabla 11. Clasificación de las patentes identificadas para aceite esencial de <i>Lippia alba</i> , según la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual – OMPI.....	701
Tabla 12. Componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>Lippia alba</i> y el área de aplicación	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Resumen del protocolo de revisión sistemática exploratoria aplicado en los estudios reportados para aceite esencial de <i>Lippia alba</i>	50
Figura 2 Distribucion de material científico relacionado con la tematica de estudio en el tiempo	55
Figura 3 Frecuencia de patentes relacionadas con <i>Lippia alba</i> respecto a los años de publicación	68
Figura 4 Países solicitantes según actividad de patentamiento relacionadas con aceites esenciales de <i>Lippia alba</i>	69
Figura 5 Frecuencia de solicitantes líderes de patentes que incluyen aceites esenciales de <i>Lippia alba</i>	69
Figura 6 Sectores de aplicación y las respectivas instituciones en las cuales se ha reportado la actividad biologica del aceite esencial de <i>Lippia alba</i>	73
Figura 7 Sectores de aplicación de las investigaciones de la actividad biológica del aceite esencial de <i>Lippia alba</i>	74
Figura 8 Actividades biológicas más relevantes identificadas en la revisión sistemática del aceite esencial de <i>Lippia alba</i>	75

RESUMEN

Se desarrolló un estudio descriptivo con el objetivo de determinar las líneas de aplicabilidad biotecnológica del aceite esencial de *Lippia alba* mediante el análisis integrado de vigilancia tecnológica. La metodología incluyó una revisión sistemática exploratoria de artículos científicos en las bases de datos EBSCO, Embase, PubMed, Scopus, SciELO y Lilacs; y la búsqueda de patentes en bases de datos comerciales y gratuitas. La información obtenida se analizó utilizando los gestores bibliográficos Mendeley®, Zotero®, los programas Microsoft Excel® 2016, GraphPrad® versión 7, Paint3D®, y el paquete estadístico IBM SPSS® versión 23.0. Los resultados indican que los aceites esenciales son temas de interés en la comunidad científica desde la década de 1990, y que Brasil (60,5%), Colombia (25,2%) e India (6,2%) son los países que más le apuestan a este tipo de investigaciones para solventar problemáticas en los sectores biomédico y agroindustrial. Los investigadores han evaluado una amplia variedad de organismos y microorganismos sobre los cuales el aceite esencial de *Lippia alba* tiene efectos biológicos. También se identificó mediante el seguimiento de las patentes que los principales actores interesados en la industrialización de esta especie aromática se encuentran en Brasil, los EE. UU, Japón, Francia, Canadá e India, y están enfocados en el desarrollo de tecnologías para responder a las demandas relacionadas con las categorías A (necesidades corrientes de la vida) y C (química; metalurgia).

Lippia alba es una planta medicinal promisoría en Iberoamérica, incluida en el Vademécum colombiano de plantas medicinales y con venta libre aprobada como antiséptico de uso externo en seres humanos. En Colombia el mercado de las plantas medicinales está poco desarrollado y su mayor movimiento se da mediante mercados informales, esto dificulta la inclusión de especies nativas y sus derivados a los mercados internacionales. Sin embargo, la generación de alianzas estratégicas con actores clave en los ámbitos regional, nacional e

internacional puede propiciar la articulación del potencial biotecnológico del aceite esencial de *Lippia alba* en contextos agroindustrial e industrial para intervenir problemáticas en salud pública y potenciar las industrias pesquera y agroalimentaria.

Palabras clave: Actividad biológica, bioprospección, plantas aromáticas, vigilancia tecnológica.

ABSTRACT

A descriptive study was developed with the purpose of determining the lines of biotechnological applicability of essential oils of *Lippia alba* through the integrated analysis of technological surveillance. The methodology included a systematic exploratory review of scientific articles in the EBSCO, Embase, PubMed, Scopus, SciELO and Lilacs databases, and the search for patents in commercial and free databases. Information obtained was analyzed using the Mendeley®, Zotero® bibliographic managers, the Microsoft Excel® 2016 programs, GraphPrad® version 7, Paint3D®, and the IBM SPSS® statistical package version 23.0. The results indicate that essential oils are subjects of interest in the scientific community since the 1990s, and that Brazil (60.5%), Colombia (25.2%) and India (6.2%) are the countries that bet more to this type of research to solve problems in the biomedical and agroindustrial sectors. Researchers have evaluated a wide variety of organisms and microorganisms on which the essential oils of *Lippia alba* have biological effects. It was also identified by following patents that the main stakeholders interested in the industrialization of this aromatic species are in Brazil, the United States, Japan, France, Canada and India, and they are focused on the development of technologies to respond to the demands related to categories A (current needs of life) and C (chemistry, metallurgy).

Lippia alba is a promising medicinal plant in Latin America, it is included in the *Vademécum colombiano de plantas medicinales* (Colombian Vademecum of Medicinal Plants) and is an over-the-counter drug with approval as an antiseptic for external use in human beings. The market for medicinal plants is underdeveloped in Colombia and its greatest movement is through informal markets, this is why it is difficult to include native species and their derivatives in international markets. However, the generation of strategic alliances with key stakeholders at the regional, national and international spheres can raise and manage the possibilities of articulation of the biotechnological potential of the

essential oil of *Lippia alba* in agroindustrial and industrial contexts with approaches to solve the problems in the public health and strengthen the fishery and agri-food industries.

Key words: Aromatic plants, biological activity, bioprospecting, technological surveillance.

INTRODUCCIÓN

Los productos orgánicos están siendo ampliamente utilizados por la población mundial para la asistencia sanitaria esencial^{1, 2}, de manera que en 2017 el mercado de productos para el cuidado personal representó una cantidad de US\$12.19 billones y se prevé un incremento mayor². Las plantas aromáticas medicinales, condimentarias y afines (PAMCyA) son una fuente natural de sustancias químicas que proporcionan diversas propiedades biológicas³, razón por la cual países como los Estados Unidos, Brasil, India, Colombia y Cuba le apuestan a la investigación científica que permita argumentar estas propiedades e implementar un mejor aprovechamiento enfocado hacia la bioprospección⁴. En 2013 en el ámbito mundial las plantas medicinales fueron principalmente importadas por Hong Kong, los Estados Unidos, Alemania y China por un valor correspondiente a US\$3.618.530; mientras que los Estados Unidos, Holanda, Japón, Alemania y el Reino Unido contribuyeron con importaciones de especias por US\$2.025.701. Además, las importaciones mundiales de plantas medicinales se relacionaron con China, India, Canadá, los Estados Unidos y Alemania por un valor de US\$3.399.349 y las exportaciones de especias se relacionaron con China, India, Holanda, Turquía, Alemania y España por un valor de US\$1.940.168⁵.

Colombia posee una destacada riqueza florística, entre la cual se incluyen varias PAMCyA promisorias y de interés para diferentes sectores industriales^{4, 6}. En el país, en el periodo 2008–2014, se reporta un portafolio de hierbas aromáticas y condimentarias conformado por las especies albahaca, menta, cebollín, orégano, romero, tomillo, estragón y mejorana, cuyos mayores productores en 2014 fueron los departamentos de Antioquia (3.898,8 ha), Cundinamarca (2.705,3 ha) y Valle del Cauca (2.407,7 ha). Para este portafolio en este periodo 2008–2014 se reportó una área sembrada de 2.606,7 ha, con una área

cosechada de 2.263,8 ha y una producción de 12.315,7 T, y las exportaciones de hierbas aromáticas y condimentarias durante este periodo oscilaron de 3.703 T (11.235 Miles FOB Dol) y 4.188 T (17.295 Miles FOB Dol), y la mayor producción y mayor exportación se presentó en 2013 (5.848 T, con 24.168 Miles FOB Dol) y cuyos principales mercados fueron los Estados Unidos, Canadá y el Reino Unido; sin embargo, la exportación de ingredientes naturales como edulcorantes, aceites esenciales (AE), extracto de té, extractos vegetales, y colorantes para el mismo periodo fue de 3.618 T (8.917 Miles FOB Dol) a 195 T (1.581 Miles FOB Dol), y la mayor exportación fue en 2008⁵.

En el Caribe seco colombiano se priorizaron las PAMCyA introducidas *Ocimum basilicum*, *Aloe vera*, *Calendula officinalis*, *Zingiber officinalis*, *Cymbopogon citratus*, *Anthemis nobilis*, *Rosmarinus officinalis*, *Mentha spicata*, *Ruta graveolens*, *Melissa officinalis* y se recomendaron como promisorias las PAMCyA nativas *Lippia alba* y *Lippia origanoides*, para la apuesta en investigación y desarrollo de la cadena PAMCyA en el país⁴. Se identificó también que Colombia es uno de los países que tiene mayor producción científica relacionada con estas especies nativas; aunque se requiere afianzar el manejo de especies nativas promisorias, también la bioprospección y validación científica de las especies nativas con arraigo cultural y la generación de productos y negocios a partir de estas como alternativas de desarrollo local alrededor de las aromáticas⁴. En las cuencas media y baja del río Las Ceibas, en Neiva (Huila), se hizo un estudio exploratorio de mercado para *L. alba* como alternativa de producción sostenible, en la cual se identificaron las limitaciones y oportunidades que tienen los habitantes de la zona, como también cuáles son los diferentes actores institucionales que pueden contribuir a la implementación del desarrollo agroindustrial a partir de AE de *L. alba* e incursionar en los mercados nacional e internacional mediante la inclusión de esta especie en la cadena productiva PAMCyA⁷. En la región Andina se evaluó el potencial económico de las especies aromáticas *L. alba*, *L. origanoides*, *Tagetes*

caracasana, y *Tagetes zypaquirensis*, y se concluyó que las especie de *Lippia*, por su razonable rendimiento de AE y precio, son potencialmente promisorias, mientras que los *Tagetes* aún no⁸, además, una investigación en la región del Sumapaz (Cundinamarca), identificó la presencia de 163 especies de plantas aromáticas, de las cuales algo más del 50% de ellas son “no cultivadas”, es decir, son recolectadas para su venta, mientras que las especies cultivadas son comercializadas pero su producción es marginal debido a las altas tasas de pérdidas, los pequeños volúmenes de producción y comercialización, y el bajo o nulo valor agregado del producto⁹.

Lippia alba (Mill.) N.E. Br o pronto alivio, es una especie aromática perteneciente a la familia Verbenaceae, cuyo AE debido a sus propiedades biológicas ha sido empleado en la industria cosmética, alimentaria y biomédica^{4,10}, sin embargo, estas propiedades están dadas por la composición fitoquímica que posee la planta, cuya presencia y concentración de metabolitos secundarios está influenciada por ciertas variables, que incluyen su genética o aspectos como el manejo agronómico aplicado para la producción de biomasa, el ciclo fenológico del material cosechado, las condiciones edafoclimáticas, el método empleado para la extracción del AE^{10,11} y la técnica utilizada para identificar la actividad biológica en algunos casos¹².

Con este trabajo se aporta información relevante para reducir el riesgo económico en procesos de innovación y desarrollo de productos, mediante la identificación de oportunidades reales en el mercado y el fortalecimiento de la capacidad científica institucional, debido a que esta información sirve como base para ampliar el alcance de la línea de microorganismos y metabolitos de interés industrial del grupo de Gestión Ecológica y Agroindustrial del Caribe Colombiano de la Universidad Libre (GEA), en los entornos nacional e internacional. En consecuencia, se planteó un estudio descriptivo con el objetivo de identificar los

aspectos específicos donde yacen los vacíos de conocimiento sobre el potencial biotecnológico del AE de *L. alba* y ofrecer una herramienta que permita plantear nuevas preguntas de investigación que acorten el retorno entre la investigación aplicada y la industria, que además, validen científicamente los saberes ancestrales e impulsen la generación de productos y negocios como alternativa de desarrollo rural y transferencia de tecnología alrededor de las PAMCyA.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

El comercio mundial de PAMCyA y su respectivo AE continúa en crecimiento y constituye un impulso importante para la dinámica de la investigación interdisciplinar, dirigida al aumento en la producción de las especies con potencial biotecnológico de cualquier grupo taxonómico específico del reino vegetal¹³.

América del Sur posee una gran diversidad vegetal^{6,14}, y Colombia aunque ocupa solo el 0,77% del total del área terrestre del mundo, posee aproximadamente el 10% de las especies vegetales y animales conocidas, debido a su ubicación geográfica, lo cual le otorga la oportunidad de emprender procesos de transformación de recursos naturales en productos industriales e incentivar el desarrollo del biocomercio nacional e internacional^{6,15}. Colombia tiene una participación inferior al 1% en las exportaciones de hierbas y especias, aunque ha logrado posicionarse como un proveedor para los Estados Unidos, Canadá y la Unión Europea, que representa un gran paso en el ámbito de comercialización para la cadena de PAMCyA¹⁵, consolidada en el 2004 por medio del diseño del Acuerdo de Competitividad de la Cadena Productiva, el cual involucra la interacción de los diferentes actores nacionales, en un escenario de trabajo colaborativo, concretándose inicialmente con la suscripción de los acuerdos sectoriales de competitividad con el departamento de Cundinamarca en mayo de 2006, y con el departamento del Valle del Cauca, en octubre de 2006, contribuyendo con la generación de 8.200 empleos directos en laboratorios, la creación de 100 empresas y algo más de 2.500 establecimientos comercializadores¹⁶; por esta razón diferentes instituciones académicas y centros de investigación han emprendido la dirección de estudios relacionados con la identificación, los usos, producción y comercialización de PAMCyA en las cuencas media y baja del Río

Las Ceibas, Neiva (Huila)⁷, en la región del Sumapaz, (Cundinamarca)⁹ y en el Caribe seco colombiano⁴.

L. alba es una especie cultivada en el ámbito mundial en diferentes zonas tropicales, subtropicales y templadas de África, Asia y América,^{10, 17}, que ha sido propuesta como una especie nativa promisoría en Colombia⁴. *L. alba* está incluida en el Vademécum colombiano de plantas medicinales¹⁸, las partes aéreas de esta planta cuentan con registro del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) para uso por vías tópica y oral¹⁹, y sus insumos se comercializan de manera informal en plazas de mercado como producto fresco para consumo directo, y fresco o deshidratado para laboratorios dedicados a la producción de insumos naturales, los cuales se venden como productos fitofarmacéuticos, cosméticos y fragancias⁷. Un estudio de vigilancia tecnológica indicó que *L. alba* es conocida por parte de la población colombiana y es utilizada ampliamente en forma tradicional para aliviar diferentes malestares⁴, actualmente *L. alba* se encuentra excluida del portafolio de exportación e importación de PAMCyA, a pesar de ser considerada una especie nativa promisoría, en parte atribuido a la carencia de información sistemática, organizada y actualizada sobre las tendencias en investigación y desarrollo tecnológico sobre la aplicabilidad biotecnológica del aceite esencial de *L. alba*.¹⁵

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las líneas de aplicabilidad biotecnológicas del AE de *L. alba* producto del análisis integrado de la vigilancia tecnológica?

1.3 SISTEMATIZACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las tendencias en investigación sobre la actividad biológica del AE de *L. alba*?

¿Cuáles son las características de las patentes que orientan los desarrollos biotecnológicos para AE de *L. alba*?

¿Cuáles son los sectores de aplicabilidad biotecnológica del AE de *L. alba*?

2. JUSTIFICACIÓN

La demanda global en el mercado de AE fue de 226,9 kilotoneladas en 2018 y se proyecta que para el periodo 2019–2025 el mercado se expandirá a una tasa compuesta de crecimiento anual de 8,6%², hasta alcanzar de US\$11 billones y US\$13 billones^{20, 21}, debido al crecimiento en el uso de estos insumos en la industria alimenticia, del cuidado personal, cosmética, y aromaterapia para responder a las demandas crecientes de la población².

En el mundo se registran de 50.000 a 70.000 PAMCyA; de ellas unas 6.000 son potenciales en Colombia¹⁴, de las cuales 2.404 especies tienen reportes de uso medicinal en el país, pero la mayor parte de las especies de uso terapéutico tradicional están poco documentadas por escasos estudios etnobotánicos con colecciones de referencia, porque el 58% cuenta solo con un registro, el 19% alcanza a tener dos reportes, el 9% llega a dos referencias, mientras que tan solo el 14% llega a tener cuatro o más registros, lo cual sugiere la necesidad de plantear y desarrollar investigaciones que promuevan el manejo y conservación sostenible de la biodiversidad considerada como patrimonio natural, cultural y medicinal del país⁶. En 2016, con la participación de distintos actores, surgió el Plan Estratégico de Ciencia y Tecnología e Innovación del Sector Agropecuario colombiano (Pectia) para plantear las líneas de acción en búsqueda de fortalecer al sector agropecuario¹⁶; sin embargo, para el periodo 2008–2014, la siembra y producción de PAMCyA es discontinua⁵, demandando fortalecer la investigación y el desarrollo tecnológico de estrategias y productos innovadores, que permitan cerrar brechas en el sector de las PAMCyA, con la generación de conocimiento químico, bioquímico y biológico del AE de *L. alba* que soporte el desarrollo agroindustrial y empresarial en el país. En este sentido las PAMCyA representan una oportunidad para la reducción de la pobreza en el territorio nacional, asociada a la diversificación del ingreso de los productores primarios y a su vez como estrategia de sostenibilidad en los aspectos

sectorial y nacional, de focalización de la asistencia técnica y el extensionismo rural en su propósito de acompañar al productor en el conocimiento de nuevas tecnologías teniendo en cuenta los hallazgos y capacidades laborales¹⁶. La vigilancia tecnológica constituye una herramienta que permite identificar las líneas de aplicabilidad biotecnológica del AE de *L. alba*, los retos y oportunidades para deducir tendencias, capacidades en investigación, desarrollo y paquetes tecnológicos que promuevan el desarrollo y fortalecimiento de las microeconomías regionales, nacionales e internacionales relacionadas con la actividad biológica del AE de *L. alba*.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar las líneas de aplicabilidad biotecnológica del AE de *L. alba* mediante el análisis integrado de una vigilancia tecnológica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analizar las tendencias en investigación sobre la actividad biológica del AE de *L. alba*.

Caracterizar las patentes que orientan los desarrollos biotecnológicos para AE de *L. alba*.

Identificar los sectores de aplicabilidad biotecnológica del AE de *L. alba*.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1 PLANTAS AROMÁTICAS MEDICINALES CONDIMENTARIAS Y AFINES - PAMCYA EN COLOMBIA.

Colombia cuenta con 37 cadenas productivas conformadas bajo los parámetros descritos por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Una de estas cadenas es la de PAMCyA, la cual se consolidó en 2004 bajo un escenario de trabajo colaborativo entre productores, comercializadores, transformadores, universidades, centros de investigación, entidades de los órdenes nacional y territorial, y otros actores, con el fin de definir estrategias e implementar acciones enfocadas hacia el mejoramiento en la productividad, la competitividad, el desarrollo de mercados, la disminución en los costos transaccionales, el desarrollo de alianzas estratégicas, el manejo de recursos ambientales, la formación de recursos humanos y el fortalecimiento de la investigación y el desarrollo tecnológico¹⁶.

Con respecto a la importación y exportación en el país, la especie con mayor exportación fue el jengibre, con US\$4.253.000 (equivalentes a 918 t), seguido por la pimienta, con US\$3.430.000 (equivalentes a 1.573 t), posteriormente el té, con US\$976.000 (equivalentes a 80 t). Las cifras correspondientes a los AE importados fue US\$11.900.000, y para los exportados, US\$302.000¹⁶.

De acuerdo con los resultados del III Censo Nacional Agropecuario, emitido en 2016 por el DANE, tomo II, en el país el área sembrada de PAMCyA fue de 65.846 ha, que corresponde a 1,2 unidades productoras agropecuarias²². Durante el periodo 2007–2015 la dinámica de cultivos PAMCyA mantuvo un crecimiento sostenido pues pasó de sembrar 1.403,85 ha (cosechadas 1.253,65 ha) en 2007 a 3.194,2 ha (cosechadas 2.709,9 ha) en 2015, y los principales departamentos cultivadores

fueron Valle del Cauca, Cundinamarca, Antioquia, Chocó y Putumayo^{5, 16}. Sin embargo, en el inventario agrícola, el área sembrada de PAMCyA tiene la segunda participación más pequeña (0,8%) después de flores y follajes²², lo cual indica un pobre desarrollo en el cultivo, comercio y transformación de esta cadena productiva^{4, 9}. El 31,4% del total del área sembrada en 2013 en los cultivos de PAMCyA está conformada por los cultivos de manzanilla (11,5%), albahaca (8,3%), perejil (6,2%) sábila (5,4%), y otras plantas aromáticas (68,6%) correspondientes a caléndula, citronela, flor de jamaica, hinojo, jengibre, limoncillo, menta, entre otras²². Los departamentos de Cundinamarca y Meta concentran 6.821 ha (89,9%) del área sembrada en cultivos de manzanilla en el área rural dispersa censada, mientras que, en los cultivos de albahaca, la mayor parte del área sembrada se encuentra en el departamento de Guainía, y el área sembrada de las otras plantas aromáticas se agrupa en los departamentos de Meta, Santander, Norte de Santander y Chocó, con el 52,3% (Tabla 1)²². Los diferentes grupos étnicos también tuvieron participación en la siembra de PAMCyA, cuyos datos censados correspondieron a 6.587 ha para territorios indígenas, 2.878 ha para territorio de comunidades negras, y 2 ha para territorio ancestral raizal²².

Tabla 1. Distribución por departamento de área sembrada de cultivos de plantas aromáticas, condimentarias y medicinales 2013

Departamentos	Manzanilla (ha)	Albahaca (ha)	Perejil (ha)	Sábila (ha)	Otras plantas aromáticas (ha)**
Total nacional	7.585	5.480	4.077	3.523	45.182
Amazonas	0	66	117	1	301
Antioquia	54	14	12	3	638
Arauca	3	0	0	1	581
ASAPSC*	0	0	0	0	2
Atlántico	5	1	2	8	140
Bogotá, D. C.	5	9	0	0	58
Bolívar	77	0	0	2	1.912
Boyacá	88	10	286	125	1.027
Caldas	0	82	81	638	1.562
Caquetá	0	0	12	2	347
Casanare	1	3	18	1	320
Cauca	73	84	45	68	1.158
Cesar	52	0	0	0	165
Chocó	2	94	57	1	3.706
Córdoba	16	0	0	29	421
Cundinamarca	4.153	93	14	23	246
Guainía	0	3.942	126	68	3.082
Guaviare	0	57	0	2	54
Huila	36	0	0	17	619
La Guajira	0	0	0	1	318
Magdalena	45	0	0	40	1.272
Meta	2.668	177	1.590	81	11.014
Nariño	56	151	41	62	1.252
Norte de Santander	10	64	559	759	4.016
Putumayo	7	3	11	0	143
Quindío	0	0	0	625	1.155
Risaralda	0	269	11	15	351
Santander	13	179	861	576	4.880
Sucre	9	0	20	9	438
Tolima	112	44	133	285	2.340
Valle del Cauca	92	104	79	82	1.350
Vaupés	0	11	0	0	30
Vichada	6	23	0	0	284

*ASAPSC: Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina. **Otras plantas aromáticas: yerba-mate, pimienta, anís, canela, clavos, jengibre, flor de Jamaica, tomillo, laurel, romero, salvia, toronjil, entre otras.

Fuente; DANE, Tercer Censo Nacional Agropecuario, tomo II 2016.²²

4.2 GÉNERO *Lippia*

El término *Lippia* se originó por el botánico Auguste Lippi. Este género denominado *Lippia* pertenece a la familia *Verbenácea*, que está conformada por aproximadamente 200 a 250 especies de hierbas, arbustos y árboles pequeños, cuyos especímenes están distribuidos en diferentes zonas tropicales, subtropicales y templadas de África, Asia y América^{10, 23}. La mayor parte de las especies de *Lippia* son plantas aromáticas, cuya propiedad es un parámetro de selección para la utilización en culinaria, como medicina tradicional y para extracción de AE en diferentes sectores industriales^{10, 23}.

En el mundo se han reportado efectos biológicos de las especies *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Lippia multiflora*, *Lippia graveolens*, *Lippia javanica*, *Lippia turbinata*, *Lippia citriodora*, *Lippia nodiflora*, *Lippia gracilis*, *Lippia organoides*, *Lippia beriandieri*, *Lippia chevalicri*. En Colombia las especies registradas en el Herbario Nacional Colombiano son *L. alba*, *L. organoides*, *L. citriodora*, *Lippia micromera*, *Lippia americana*, *L. graveolens* y *Lippia dulcis*, distribuidas en los departamentos de Tolima, Bolívar, Arauca, Santander, Nariño, Cesar, Quindío, Cauca, Antioquia, Boyacá²³⁻²⁶, Cundinamarca²⁷, Amazonas, La Guajira y Magdalena²⁸.

- *L. organoides*: llamada a menudo orégano del monte, en Colombia se han reportado tres quimiotipos ricos en timol, carvacrol o en α -felandrenos y β -felandrenos.
- *L. americana*: contiene AE rico en monoterpenos (sabineno, felandrenos, limoneno, terpinenos) y sesquiterpenos (cariofileno, germacrenos).
- *L. micromera*: a menudo, llamada “falso orégano”; su AE contiene sabineno, limoneno, *p*-cimeno, terpineno, timol y sus éteres.

- *L. dulcis*: llamada, a menudo, lippia mexicana o “hierba dulce de aztecas”; proviene de México y América Central; contiene la hernandulcina, un sesquiterpenoide, más dulce que la sacarosa, pero termoinestable.
- *L. alba*: comúnmente llamada pronto alivio, posee varios quimiotipos; en Colombia se han encontrado los quimiotipos ricos en carvona, citral, y un quimiotipo híbrido (carvona + citral); otro quimiotipo de la *L. alba*, rico en ocimenonas (tagetenonas), posiblemente, se introdujo en Colombia proveniente de América Central o Argentina.
- *L. graveolens*: comúnmente llamado orégano mexicano, su AE rico en timol y carvacrol y sus éteres poseen propiedades antifúngicas y antibacterianas²³.

4.2.1 *Lippia alba*. *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britton y P. Wilson (Verbenaceae), es una planta aromática distribuida a en el mundo en diferentes zonas tropicales, subtropicales y templadas de África, Asia y América 10, 17; conocida popularmente en diferentes países como falsa melissa brasileña, erva cidreira brasileira, hierba de limón brasileña, salvia morada, bushy matgrass, bushy Lippia, oaxaca lemon verbana, melissa, cidrón llanero, quitadolor, orégano de cerro, curalotodo, nativa de América^{10, 29}, falsa melissa, pronto alivio, menta americana, poleo, salvia americana, toronjil de España, toronjil isleño, toronjil mentol, hierba del negro, mirto, orozul, salva brava, cidrila, orozul de menta, orozul de palo, salvavida, cidrela, malojillo extranjero, curalotodo¹⁸.

L. alba es un arbusto de hasta de 2 m de altura, de ramas esparcidas, pecíolos de hasta 14 mm de largo, las hojas de 2 cm a 7 cm de largo, oblongas, oblongo-lanceoladas, oblongo-ovaladas, agudas u obtusas, cuneadas o atenuadas en la base. Los frutos miden cerca de 3 mm de largo, en drupa o cápsula seca con un exocarpo membranáceo de color violeta oscuro, que se separa al final en dos nuececillas. *L. alba* es una especie perenne, florece y fructifica durante todo el año,

ocasionalmente presenta periodos vegetativos cortos (hasta 90 días) durante el invierno y se caracteriza por su aroma intenso. A partir de su material vegetal fresco se obtiene AE con un rendimiento de 0,2% a 0,6%²⁹.

La etnobotánica se describe como el estudio de las relaciones que existen entre el ser humano y las plantas que lo rodean, haciendo referencia específicamente al uso de las plantas silvestres y plantas cultivadas por los aborígenes, cuyas prácticas conservan tradiciones y costumbres ancestrales que en el futuro pueden contribuir significativamente al desarrollo de investigaciones para la adquisición de nuevos conocimientos³⁰. En Colombia muchas comunidades aledañas a los bosques secundarios emplean el recurso forestal no maderable para fines medicinales, alimenticios, ornamentales, cosméticos, artesanales, mágico-religioso, protectores, tintes, forrajes, y para elaboración de utensilios domésticos³¹; además, estas poblaciones conocen de manera tradicional algunas especies cuya composición química y efectos biológicos presentan poco o ningún reporte científico, pero tienen significancia tradicional, lo cual puede ser una oportunidad para la verificación farmacológica y el desarrollo de nuevos insumos farmacéuticos³².

Tradicionalmente, *L. alba* se usa como sedante, digestivo, febrífugo, carminativo, espasmolítico, emenagogo, sudorífico, analgésico y expectorante; también en compresas para tratar hemorroides y como cicatrizante¹⁸.

4.2.1.1 Usos fitoterapéuticos. Mediante la Resolución 2834 de 2008 el Ministerio de Salud y Protección Social adopta el *Vademécum colombiano de plantas medicinales*, documento elaborado por la Universidad Nacional de Colombia. Al Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), por medio de la Sala Especializada de Productos Naturales, le corresponde su actualización, para lo cual deberá disponer por cada planta medicinal la siguiente información: nombre científico, sinónimos, nombre vulgar, parte de la planta usada o droga, uso tradicional, principales constituyentes químicos, propiedades terapéuticas o

farmacológicas o ambas (si hubiere estudios sobre el particular, ensayos *in vivo*, ensayos clínicos), indicaciones y posología, precisando si el uso es interno o externo (de acuerdo con lo descrito en la literatura), toxicidad aguda y a dosis repetida, ensayos *in vitro*, contraindicaciones y precauciones, si se cuenta con estudios de seguridad o clínicos, propiedades farmacodinámicas, conservación, formas farmacéuticas, interacciones con fármacos, si se encuentran reportadas, y fotografía a color de la planta¹⁸.

De acuerdo con el *Vademécum*, la infusión o la decocción de las hojas de *L. alba* puede emplearse por vía oral o de uso tópico, según sea el caso, para disminuir el índice de ulceración gástrica, como antioxidante, sedante, ansiolítico, antiséptico y antimicrobiano¹⁸; y de acuerdo con el registro INVIMA (Listado de Plantas Medicinales Aceptadas con Fines Terapéuticos), las partes aéreas de esta planta se emplean para uso tópico como antiséptico de uso externo y por vía oral como sedante, coadyuvante en el tratamiento de la ansiedad de origen nervioso. Las preparaciones farmacéuticas a base de esta planta cuentan con venta libre y están contraindicados cuando se presenta hipersensibilidad a los componentes de la planta, en estado de embarazo, lactancia, y cuando se medica a individuos que requieren ánimo vigilante¹⁹.

4.2.2 Aspectos agronómicos. *L. alba* es una especie con potencial agroindustrial y con diversidad en la composición de su aceite esencial, por influencia de diferentes factores, como son condiciones ambientales y tratamientos agronómicos aplicados a su cultivo para un mejor rendimiento.

4.2.2.1 Condiciones agroecológicas. Las accesiones de *L. alba* se adaptan bien desde el nivel del mar hasta los 1.900 msnm, la temperatura adecuada se ubica entre 15 °C y 25 °C. Sin embargo, las altas temperaturas tienen tendencia a generar un mayor desarrollo vegetativo. En épocas de lluvia es necesario drenar los suelos, ya que no tolera inundaciones; crece en suelos arcillosos, francos y arenosos y el cultivo

se desarrolla mejor en suelos franco a franco arenosos^{28, 29}.

4.2.3 Cultivo. Se establece el cultivo utilizando propagación vegetativa por esqueje, debido a que la semilla tiene bajo porcentaje de germinación o no se produce. “Para el enraizamiento de los esquejes se recomienda que sean porosos, y es importante el grado de maduración y la longitud de la estaca para permitir el flujo de aire y agua; se obtienen mejores enraizamientos con estacas de 25 cm de longitud, con 4 a 5 nudos o yemas, sin hojas”²⁹. “La propagación con estacas con dos a tres nudos, sin hojas, de madera madura, en posición vertical o inclinada, en condiciones de sombra o plena luz, enraíza con facilidad en cuatro semanas, y con estacas de madera joven, con 10 cm a 12 cm enraízan en su totalidad en tres semanas en un sustrato de aserrín de madera, en condiciones controladas de enraizador (humedad constante y sombra de 80%)”³³.

Cuando se emplean acodos la planta tiene la capacidad propia de enraizar cuando las ramas se ponen en contacto directo con el suelo. Luego de enraizar se corta la rama y se lleva al sitio de siembra³³. “Las mejores distancias de siembra para los cultivos de *L. alba*, en climas cálidos y templados, son de 50 cm entre plantas y 90 cm a 100 cm entre surcos, con una densidad de siembra aproximada de 20.000 a 22.000 plantas / ha”²⁹.

4.2.3.1 Preparación del suelo. *L. alba* es una planta rústica que crece fácilmente en distintos tipos de suelo, aunque crece mejor en suelos con buena retención de agua, por lo cual su plantación debe establecerse cuando el suelo está húmedo²⁹ Cuando se realiza siembra directa con estacas, el terreno debe tener buen contenido de humedad; si se disponen estacas enraizadas para trasplante deberán mantenerse bajo sombra y húmedas antes de llevarlas a campo y realizar un riego después del trasplante a su sitio definitivo. Si la siembra se realiza durante periodos secos es recomendable aplicar riegos por aspersión, cada dos días, por un periodo de 30 minutos aproximadamente y después semanalmente por espacio de una hora;

después de cosechar hojas, tallos y flores, se recomienda aplicar riegos abundantes²⁸.

Con el material sin raíz puede realizarse la siembra directa, las estacas se ponen en hileras de 1 m a 1,25 m entre hilera, y de 0,75 m a 0,85 m entre plantas³³. Es necesario aporcar diez días después del trasplante para evitar el volcamiento de las plantas y promover el anclaje. *L. alba* es una especie que requiere pocos cuidados, pero es conveniente mantenerla libre de arvenses (plantas que crecen en los sembrados) durante los estados iniciales de su desarrollo, ya que estas malezas pueden generar competencia y, en muchos casos, cuando tienen un crecimiento más acelerado que el de *L. alba*, compiten con la planta y le impiden una buena absorción de luz. Se recomienda realizar dos limpiezas al mes durante los primeros cuatro meses y luego solo después de cada cosecha^{28, 29}.

4.2.3.2 Requerimientos nutricionales y fertilización. Para la fertilización se recomienda preferentemente utilizar materia orgánica, a razón de 30 t/ha a 40 t/ha; también pueden añadirse 80 kg/ha de nitrato de amonio diez días después de la plantación y después de cada cosecha³⁴.

Un ensayo realizado en el Campo Experimental de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira (CEUNP), aplicando dos fuentes de fertilizantes (nitrógeno, gallinaza y urea) en dos proporciones, 50 kg/ha y 100 kg/ha, para evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada, demostró mayor rendimiento de biomasa fresca con la frecuencia de corte cada dos meses con 100 kg/ha de nitrógeno en forma de urea (46% N), esto puede ser debido a que con la frecuencia de corte cada dos meses, las plantas son más tiernas y con mayor número de hojas, característica relevante para la extracción, industria y comercialización de AE. El rendimiento en materia seca de hojas fue mayor con la aplicación de nitrógeno en forma de urea con la frecuencia de corte cada dos meses, mientras que en los tallos se obtuvo un mayor rendimiento con la frecuencia de corte cada cuatro meses; y el rendimiento de AE de las hojas

de *L. alba* presentó una mayor concentración (1,6%) con la aplicación de 50 kg/ha de nitrógeno en forma de urea con una frecuencia de corte cada dos meses. Los niveles de extracción en *L. alba* son variables al aplicar nitrógeno con 80 kg/ha y 128 kg/ha, fósforo con 25 kg/ha y 30 kg/ha, potasio con 115 kg/ha y 130 kg/ha, magnesio con 22 kg/ha y kg/ha 31 kg/ha, calcio con 102 kg/ha y 152 kg/ha y azufre con 12 kg/ha y 18 kg/ha. Los componentes mayoritarios del AE obtenido fueron carvona (46%) y limoneno (30%)³⁵.

4.2.3.3 Cosecha y poscosecha. La cosecha se realiza en forma manual al producirse la floración. En regiones tropicales húmedas la primera cosecha se realiza en cinco o seis meses, mientras que en región tropical seca es en ocho meses³³, durante la mañana, cortando de 35 cm a 30 cm del suelo²⁸. Después del corte la biomasa se lava con agua potable para su limpieza y desinfección con agua clorada (se añaden dos gotas de cloro comercial a un litro de agua); se escurre y se airea a la sombra. *L. alba* tiene características favorables para su secado debido a que pueden emplearse distintas tecnologías, en bodega techada, secador solar, cubierto con plástico negro, chimenea y bandejas en malla. Si se selecciona un deshidratador artificial, el secado debe realizarse a una temperatura máxima de 40°C, con recirculación de aire, lo cual demora el secado de 8 a 10 horas²⁸.

4.2.4 Aceites esenciales y metabolitos secundarios. Los productos naturales y sus derivados son temas de creciente interés, debido a la amplia diversidad química que estos albergan y los respectivos efectos biológicos que han demostrado poseer³⁶⁻³⁸. Las plantas producen una gran cantidad de compuestos orgánicos denominados metabolitos secundarios, los cuales son responsables de las características organolépticas de las especies, tienen funciones ecológicas durante los procesos de interacción que realiza la planta con su entorno y contribuyen al sistema de defensa de estos organismos frente al ataque de diversos agentes patógenos³⁹. Estos metabolitos secundarios se sintetizan por diferentes rutas metabólicas y generalmente los grupos estructurales definidos son saponinas,

taninos, glucósidos, alcaloides, ácidos orgánicos y componentes volátiles o AE^{39, 40}.

Los AE son líquidos de baja densidad⁴¹ conformados por mezclas de fracciones volátiles⁴²; están ubicados en las glándulas secretoras especializadas conocidas como tricomas glandulares¹⁰, y sus compuestos activos más importantes son terpenoides (monoterpenoides y sesquiterpenoides) y fenilpropanoides³⁹. Los terpenoides son el grupo más numeroso y diversificado de metabolitos secundarios de las plantas, y estos compuestos se caracterizan por derivar de una estructura básica de cinco carbonos (C₅H₈), comúnmente llamada unidad de isopreno, y se clasifican según el número de estas unidades en su esqueleto, mientras los fenilpropanoides son menos comunes en los AE, y están compuestos de una cadena de tres carbonos unidos a un anillo aromático de seis carbonos^{39, 40}.

Los AE se clasifican según distintos criterios: su consistencia, su origen y su naturaleza química. a) según su consistencia pueden, ser esencias, bálsamos y resinas; b) según su origen, se denominan naturales, artificiales y sintéticos; c) según su naturaleza química, pueden variar en la composición del AE, incluso dentro de la misma especie, y se denominan quimiotipos⁴³. El término quimiotipo hace referencia a aquellas variaciones dadas en la composición del AE, el cual puede presentarse incluso dentro de la misma especie y está dada por diferentes aspectos edafoclimáticos y genéticos¹⁰.

L. alba es una especie, cuyos AE son promisorios por la diversidad química que poseen^{4, 10}, lo cual ha categorizado a *L. alba* en siete quimiotipos (Tabla 2)¹⁰.

Tabla 2. Quimiotipos de *Lippia alba*

Quimiotipo	Descripción de la composición del aceite esencial (constituyentes principales)
I	Citral, linalol, β -cariofileno (cuatro subtipos dentro de este quimiotipo)
II	Tagetenona
III	Limoneno en grandes proporciones, cantidad variable de carvona o cetonas monoterpénicas
IV	Mirceno
V	V-tirpeno
VI	Canfora-1,8-cineol
VII	Estragol

Fuente: Tomado de Linde G, *et al.* 2016¹⁰

4.2.5 Metodologías de extracción de aceites esenciales. Los AE pueden extraerse o aislarse de flores, semillas, raíces, hojas y cortezas del fruto de las plantas⁴¹. El rendimiento, la concentración y la abundancia relativa de cada fitoquímico en los AE depende del modo de cultivo, condiciones geobotánicas, técnica de extracción, método de secado de la muestra, el tiempo de extracción, la época de recolección, partes de la planta empleada, métodos de almacenamiento y fisiología del material vegetal^{41, 44, 45}.

Con respecto a los productos naturales, la extracción es el primer paso para la obtención de bioinsumos a partir de las materias primas, y para ello se emplean diferentes métodos (Tabla 3). Los métodos de extracción tradicionales, que incluyen la maceración, la percolación y la extracción por reflujo, suelen utilizar disolventes orgánicos y requieren un gran volumen de disolventes y un largo tiempo de extracción, mientras que algunos métodos de extracción modernos o más amigables con el medio ambiente, como la extracción de fluidos supercríticos, la extracción de

líquidos presurizados y la extracción asistida por microondas, ofrecen algunas ventajas, entre ellas un menor consumo de solventes orgánicos, menor tiempo de extracción y mayor selectividad. También existen otros métodos de extracción, como la sublimación, la presión del expulsor y el *enfleurage*, pero rara vez se utilizan en la investigación fitoquímica actual⁴⁶.

Tabla 3 Resumen de métodos de extracción para productos naturales

Método	Solvente	Temperatura	Condiciones de presión	Tiempo de extracción	Volumen de disolvente orgánico consumido	Polaridad de los productos naturales extraídos
Maceración	Agua, Acuosos/no acuosos...	Ambiente	Atmosférica	Largo	Grande	Depende de la extracción del solvente.
Filtración	Agua, Acuosos/no acuosos...	Ambiente, Bajo calor.	Atmosférica	Largo	Grande	Depende de la extracción del solvente
Decocción	Agua	Bajo calor	Atmosférica	Moderado	Ninguna	Compuestos polares
Extracción de reflujo	Disolventes acuosos/ no acuosos.	Bajo calor	Atmosférica	Moderado	Moderar	Depende de la extracción del solvente
Extracción Soxhlet	Disolventes orgánicos	Bajo calor	Atmosférica	Largo	Moderar	Depende de la extracción del solvente
Extracción de líquidos a presión.	Agua, Acuosos/no acuosos...	Bajo calor	Alta	Corto	Pequeña	Depende de la extracción del solvente
Extracción de fluidos supercríticos.	Fluido supercrítico	Cercana a ambiente	Alto	Corto	Ninguno o pequeño	Depende de la extracción del solvente
Extracción asistida por ultrasonido	Agua, Acuosos/no acuosos..	Ambiente, Bajo calor.	Atmosférica	Corto	Moderar	Depende de la extracción del solvente
Extracción asistida por microondas	Agua, Acuosos/no acuosos..	Ambiente	Atmosférica	Corto	Ninguno Moderado	Depende de la extracción del solvente
Campo eléctrico pulsado	Agua, Acuosos/no acuosos..	Ambiente, Bajo calor.	Atmosférica	Corto	Moderar	Depende de la extracción del solvente
Enzima de extracción asistida	Agua, Acuosos/no acuosos..	Ambiente, Calentada post tratamiento enzimático.	Atmosférica	Moderado	Moderar	Depende de la extracción del solvente
Hidro destilación Destilación al vapor.	Agua	Bajo calor	Atmosférica	Largo	Ninguna	Aceite esencial (generalment e no polar)

Fuente: Tomado de Zhang Q, Lin L, *et al.* 2018⁴⁶

4.2.5.1 Destilación por arrastre de vapor. El método se fundamenta en una destilación de la mezcla de dos líquidos inmiscibles y consiste en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa de vapor de agua. Los vapores que salen del cuello de cisne se enfrían en un condensador, del cual regresan a la fase líquida los dos productos inmiscibles (agua y AE) y, finalmente, se separan en un vaso florentino⁴⁷. Esta técnica se utiliza mucho, en especial para esencias fluidas, especialmente las utilizadas para perfumería; se utiliza en el ambiente industrial por su rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requerir tecnología sofisticada⁴⁴.

4.2.5.2 Extracción con disolventes orgánicos. Los solventes orgánicos penetran la materia vegetal y disuelven las sustancias, los cuales se someten a evaporación y concentración a baja temperatura; después se elimina el disolvente y se obtiene la fracción deseada. Los solventes más utilizados son el benceno, el éter de petróleo, *n*-Hexano (para derivados alimenticios) y el alcohol etílico⁴³

4.2.5.3 Hidrodestilación. Su principio consiste en llevar a estado de ebullición una suspensión acuosa de un material vegetal aromático, permitir que los vapores generados se condensen y colectarlos; posteriormente se separa el AE, que es inmiscible en agua. Debe tenerse en cuenta que el material vegetal debe estar siempre en contacto con el agua⁴⁷. Se precisa de esta técnica para el aislamiento de esencias florales⁴⁸.

4.2.5.4 Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas. En esta técnica el material vegetal se sumerge en agua (aproximadamente una tercera parte del material) en un equipo de destilación tipo Clevenger y se somete a la acción de la radiación de microondas. El agua se calienta hasta la ebullición, se producen vapores que atraviesan las estructuras celulares y permiten la evaporización del AE contenido en ellas. Luego el AE arrastrado por el vapor de agua se condensa y se colecta^{44, 48}.

Los AE se encuentran libres de los productos de combustión y de otros contaminantes, por tal razón este método favorece especialmente la obtención de las esencias de interés en perfumería⁴⁸. Entre las ventajas de este procedimiento están la rapidez, la economía y el hecho de que la extracción se realiza sin afectar la naturaleza química del aceite⁴⁷.

4.2.5.5 Destilación con agua y vapor. Es un método en el cual el material vegetal se pone sobre un tramado (falso fondo) que impide el contacto del material vegetal con el agua. Una vez iniciado el proceso el agua del alambique se lleva hasta la ebullición y el vapor generado pasa a través del material vegetal. En consecuencia, se evita que el material vegetal se queme, ya que la cámara de agua lo protege del calentamiento directo. Es importante que el vapor de agua generado pase a través de la carga uniformemente para garantizar la extracción completa de la esencia. Varias farmacopeas la recomiendan como el método óptimo de obtención de esencias^{47, 48}.

4.2.5.6 Extracción con fluidos supercríticos. En este método el material vegetal se coloca en una cámara de acero inoxidable, y se le hace circular un líquido supercrítico (por ejemplo, CO₂), que actúa como solvente extractor y permite separar los materiales volátiles del material vegetal. Luego el fluido se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y la temperatura ambiente y, finalmente, se obtiene un extracto cuyo grado de pureza depende de las condiciones de extracción⁴⁴. Es fácil y de rápida eliminación del gas extractor por descompresión, sin generar residuos de disolventes⁴³. Aunque presenta varias ventajas, como alto rendimiento, compatibilidad ecológica, fácil eliminación del solvente, sin cambiar químicamente los componentes de la esencia por las bajas temperaturas utilizadas para la extracción, el equipo requerido es relativamente costoso⁴⁴. Esta técnica es más adecuada para materiales muy delicados, costosos y térmicamente inestables.

4.2.6 Composición química de los aceites esenciales. La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC–MS) es un método eficaz para estudiar la

composición de los AE^{38, 40, 49}. La GC–MS es adecuada para la identificación debido a que los componentes del AE son compuestos volátiles y de bajo peso molecular. El proceso inicia con la inyección de la muestra directamente al cromatógrafo sin ningún tratamiento previo, lo cual elimina posibles modificaciones en la composición o la estructura de sus constituyentes, después los componentes del AE se separan en el cromatógrafo y entran al espectrómetro de masas, donde se genera un registro del espectro de cada una de las sustancias separadas. Finalmente, los constituyentes del AE se identifican mediante sus espectros de masas²³.

El aislamiento de los AE y su caracterización mediante GC–MS han permitido demostrar que, de acuerdo con el grupo químico funcional de cada AE, se derivaran sus componentes principales (Tabla 4), los cuales determinan la calidad, las propiedades físicoquímicas, organolépticas y biológicas del AE, e incluso el precio en el mercado^{38, 40, 42}.

Tabla 4 Componentes volátiles de acuerdo con el grupo funcional mayoritario de los aceites esenciales

Grupo químico funcional	Componentes
Fenoles	Carvacrol; Eugenol; timol
Aldehídos	Citral; Citronela; Benzaldehído; Perilaldehído; Cinamaldehído
Alcoholes	Terpenos; Borneol; Mentol; Geraniol; Linalol; Feniletanol
Alcoholes sesquiterpenos	Farnecol; Cedrol
Cetonas	Alcanfor; Carvona; α -tjona
Ésteres	Acetato de linalilo; Salicilato de metilo; Etil acetato; Anetol
Éteres y Oxidos	Metil timol; Anetol; Cineol
Hidrocarburos	Careno; β -cariofileno; α -pineno; Limoneno

Fuente: Tomado de Reyes-Jurado, et al. 2012⁴⁰

4.2.7 Actividad biológica y mecanismos de acción de aceites esenciales. Los AE presentan una amplia variedad de propiedades biológicas, las cuales le han permitido la incursión en las industrias cosmética, alimentaria y biomédica^{4, 10}. Se ha reportado su uso como analgésico, antipirético, antiinflamatorio, antidiarreico, antiséptico, sedante, antimicrobiano, antiolesterolémico, larvicida, repelente, antioxidante, antiproliferativo de células malignas^{10, 39}.

Para realizar la actividad antimicrobiana los terpenoides y los fenilpropanoides interactúan con estructuras celulares bacterianas afectando su función^{39, 50}. Algunos mecanismos de acción de los fitoquímicos sobre células microbianas consisten en afectar la integridad de las membranas celulares, ya sea alterando la composición de ácidos grasos⁵¹, las propiedades físico-químicas de la superficie, como hidrofobicidad, conductividad eléctrica, filtración de proteínas solubles y azúcares reductores^{52, 53} y modificación de la actividad de los canales iónicos de calcio y potasio⁵⁰. También pueden causar daños irreversibles a las membranas citoplasmáticas y producir la muerte del microorganismo, debido a que las membranas son fundamentales para el mantenimiento del estado energético de la célula, el transporte de los solutos, la regulación del metabolismo, el control de la presión de turgencia y la motilidad⁵³.

4.3 VIGILANCIA TECNOLÓGICA

4.3.1 Definición y clasificación de vigilancia tecnológica. La vigilancia tecnológica (VT) es un proceso sistemático y organizado mediante el cual se realiza una observación de los entornos interno y externo de una organización, con el objetivo de captar la información relacionada a tal ambiente, y luego, a partir del análisis de estos datos obtenidos, puedan detectarse tendencias, tecnologías, competidores, proveedores o aliados, obteniendo así una panorámica visual completa de cómo está funcionando un entorno en particular para que después

pueda emplearse este conocimiento para dirigir la toma de decisiones con enfoque hacia la disminución de los riesgos y pueda, por ende, anticiparse a los cambios en una institución, organización o empresa⁵⁴⁻⁵⁶. La VT puede aplicarse en diferentes sectores, por tal razón, cuando se implementa este proceso, debe realizarse una adaptación de acuerdo con el entorno del proyecto personal, empresarial o social e implementar los respectivos enfoques multidisciplinares exigidos⁵⁵.

La VT puede especializarse en diferentes enfoques, según la necesidad o los requerimientos de una institución, los cuales pueden ser de tipo normativo, económico, comercial, ambiental, sociocultural, competitivo, etc.; por tal razón pueden describirse tres clases de VT de mayor utilidad actualmente, a saber:

- Vigilancia competitiva: se ocupa de la información sobre los competidores actuales y los potenciales.
- Vigilancia comercial: estudia los datos referentes a clientes y proveedores.
- Vigilancia del entorno: se basa en la detección de aquellos hechos exteriores que pueden condicionar el futuro, y que competen a áreas como la sociología, la política, el medio ambiente, las reglamentaciones, etc.⁵⁷.

4.3.2 Procedimiento general para realizar una vigilancia tecnológica. La VT proporciona herramientas para obtener información clave en forma estratégica sobre productos, avances tecnológicos, legislación y comportamiento sectorial, para orientar la toma de decisiones asertivas en un sector particular. Este proceso puede implementarse por diferentes actores, ya sean empresas, instituciones, sociedades, conformados por grupos de trabajo pequeños, medianos o grandes, y en diferentes coberturas, ya sean regionales, nacionales o internacionales, pero siempre en función de la toma de decisiones⁵⁵.

Para realizar un proceso de VT se requiere implementar una metodología que contemple un proceso de planeación, observación, captación, análisis, comunicación y utilización de la información para la toma de decisiones⁵⁵:

- I) Planeación. Define cuál es la necesidad real de información en las organizaciones, estableciendo unos factores críticos de vigilancia que hacen referencia a las palabras clave que definen la necesidad planteada, a partir de las cuales es posible desarrollar las ecuaciones de búsqueda. En esta fase debe establecerse el alcance del proceso de vigilancia con objetivos claros, así como definir las fuentes de búsqueda e información.
- II) Búsqueda. Se realiza a partir de fuentes de información definidas, las cuales podrán ser formales (documentación interna de la empresa, bases de datos, patentes, ferias, asociaciones, gremios, universidades, estudios de mercado e información generada por la administración pública) o informales (entrevistas con clientes, expertos, proveedores) o ambas.
- III) Captación y análisis. En esta fase es muy importante que quien realiza la vigilancia pueda impartir inteligencia a la información con un alto grado de imparcialidad, y el análisis de la información debe enfocarse en el factor crítico de vigilancia.
- IV) Difusión. La información adquiere valor cuando se presenta a las personas que tienen el poder de tomar decisiones frente a un nuevo proyecto o una nueva inversión que quiera realizarse, y la difusión cobra valor cuando realmente llega a estas personas.
- V) Utilización. En general el producto final del proceso de vigilancia está dado por un informe de vigilancia tecnológica, el cual, si está bien estructurado, siempre tendrá un buen resultado para la toma de decisiones⁵⁵.

4.3.3 Fuentes de información. Las fuentes de información constituyen un factor importante que determina la calidad de los resultados de una VT. Estas fuentes, de acuerdo con su acceso o posibilidad de procesamiento, se clasifican en dos grupos:

- I. Fuentes de información no disponibles electrónicamente.

- II. Fuentes de información disponibles electrónicamente, representadas en bases de datos (artículos, revistas, patentes, etc.).

Las fuentes de información electrónica, de acuerdo con la calidad de la fuente, se dividen en dos grupos:

1. Fuentes informales. Aquellas en las cuales el contenido es de libre acceso, pero sin un respaldo técnico definido en cuanto a su construcción, datos de origen y procesamiento.

2. Fuentes formales. Aquellas fuentes confiables, que pueden usarse con fines de vigilancia sin necesidad de corroborarlas, entre otras, los artículos científicos, las patentes, las bases de datos, etc.

Las bases de datos que contienen artículos científicos constituyen una de las principales herramientas para realizar seguimiento de las tecnologías más recientes, debido a que en algunos casos los temas que abordan son previos al desarrollo de patentes relacionadas; además, permiten identificar autores, tecnologías, países, áreas temáticas de mayor desarrollo y emergentes, instituciones involucradas, fuentes de información adicionales (bibliografía), autores referenciados (bibliografía) y tipos de documentos. Mientras que las bases de datos de patentes permiten el acceso a patentes, las cuales son documentos científicos y tecnológicos de mayor grado de elaboración, donde se plasman los avances más importantes en cada área del conocimiento aplicado y del desarrollo tecnológico; permitiendo entonces, a partir de un análisis de patentes, la posibilidad de evitar la duplicidad de esfuerzos en la

investigación en una área determinada y ofrecer un método invaluable para mantenerse alerta ante los cambios tecnológicos; además, permiten:

- a) Informarse sobre los aspectos más recientes y de manera más rápida sobre una tecnología (incluso con dos o tres años de antelación a la aparición del producto en el mercado).
- b) Obtener información científico-técnica que en algo más de un 70% no aparece reportada en otras fuentes informativas y que solo empieza a aparecer en otras fuentes hasta cinco años después.
- c) Conocer acerca de la utilidad y aplicación práctica de la solución a una problemática.
- d) Orientación sobre la fecha de origen de la solución, lo cual permite evaluar el grado de obsolescencia o de novedad de la solución propuesta.
- e) Permite realizar los análisis de evolución y tendencias en un sector tecnológico específico, rastreando líderes tecnológicos históricos durante la evolución de un sector industrial en particular, facilitando la obtención de las tendencias y diferencias entre líderes, así como los mayores o menores esfuerzos/énfasis que delimitan ciertas áreas en crecimiento, maduración o estancamiento, con lo cual es posible predecir la ruta de cambio o evolución futura.
- f) Permite obtener el perfil del competidor en materia de productos o procesos tecnológicos y análisis detallado de las áreas de conocimiento más importantes y relacionadas mediante el empleo del código de Clasificación Internacional de Patentes (CIP)⁵⁸.

4.3.4 Herramientas para búsqueda y análisis de la información en la vigilancia tecnológica. Para la selección de las herramientas de búsqueda y análisis de la

información pueden tenerse en cuenta algunos atributos que presentan los programas de computador empleados en la VT, por ejemplo, puede ser relevante conocer la descripción y características generales de la herramienta, determinar cuál será el grado de incidencia de la herramienta en cada fase de la VT, determinar si es posible obtener apoyo para el análisis estadístico de los datos, identificar si existe un requerimiento de capacidad, máquina y programas informáticos preinstalados para poder usar la herramienta (programa en computador, en servidor, mixto, etc.); y conocer cómo es el acceso a la herramienta, es decir, si se requiere una licencia o costo de servicio con alguna entidad. Sin embargo, la selección de las herramientas puede tener influencia del costo de la herramienta, la existencia de alianzas o convenios mediante la cual se pueda tener acceso a las herramientas, la disponibilidad de recursos tecnológicos duros, requerimientos de sistemas y presencia de talento humano experto para realizar las diferentes fases de la VT⁵⁸.

Para la búsqueda de literatura científica puede obtenerse el acceso a diversas bases de datos mediante los sistemas de biblioteca de instituciones educativas^{4, 55} o mediante sistemas de búsqueda académicas científicas de acceso gratuito, como Google Académico (Google Scholar), Google Books, Redalyc, SciELO, NCBI, PubChem, PubMed PMC, Directory of Open Access Journals (DOAJ), OARE, SIDALC, Agri 2000, Agris arXiv, Biblioteca Digital Andina, Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes, Biblioteca Virtual en Salud (BVS), Citebase, Index Nominum Genericorum (plantarum), International Plant Names Index (IPNI), Nutrient Database, CinDoc, Education Resources Information Center (ERIC), National Ag Safety Database (NASD), ProQuest, STN International–FIZ Karlsruhe, WIPSGlobal⁵⁵.

Para la búsqueda de patentes se puede tener acceso a las bases de datos del sector público suministradas mediante diferentes plataformas internacionales, nacionales y regionales, tanto de organizaciones gubernamentales como de empresas privadas, entre las cuales destacan la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI, WIPO), Oficina Euroasiática de Patentes, Oficina Europea de Patentes (European

Patent Office, EPO), Google Patent Lens, la Superintendencia de Industria y Comercio (SIC en Colombia), IP Australia (Australia), Canadian Patents Database (Canadá), DEPATISnet (Alemania), Intellectual Property Office's gov.UK (Reino Unido), Intellectual Property Department Hong Kong SAR, Intellectual Property India (India), Israel Patent Office (Israel, en idioma hebreo), J-PlatPat (Japón), Korean Intellectual Property Rights Information Service (KIPRIS, Corea del Sur), Intellectual Property Office of New Zealand (Nueva Zelanda), Search for Patents–USPTO (Estados Unidos de América)⁵⁵.

Después, cuando ya se tiene el acceso a las bases de datos, puede hacerse uso de los gestores bibliográficos EndNote®, Mendeley® o Zotero® para agilizar el procesamiento y organización de la información⁵⁹, y otros programas como Microsoft Office® y SPSS®⁴. También pueden adquirirse programas de computador especializados bajo licenciamiento que permiten optimizar el tiempo y el proceso de VT, como Zotero®, Vantage Point®, Goldfire Innovator®, WebQL®, Vigiale®, Denodo®, Matheo Patent®, Xerka®, Tetralogie®, Vigtech®, SoftVT®, Strategy Finder, KnowledgeWorks, Digimind, Antara, Hontza, Aita, Innova, ICA2, CDE, Clarke® Modet & C^o®, Thomson Innovation®^{4, 55}, Tetralogie®, Matheo Analyzer®, y GoldFire®⁵⁸.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 TIPO DE INVESTIGACION

Se realizó una investigación no experimental descriptiva de aspectos relacionados con AE de *L. alba* y su potencial biotecnológico.

5.2 HERRAMIENTAS METODOLÓGICAS

La propuesta metodológica aplicada fue la vigilancia tecnológica, integrando los resultados de la revisión sistemática exploratoria de artículos científicos y búsqueda de patentes, lo cual permite sistematizar experiencias o procesos relacionados con el potencial biotecnológico de AE de *L. alba*.

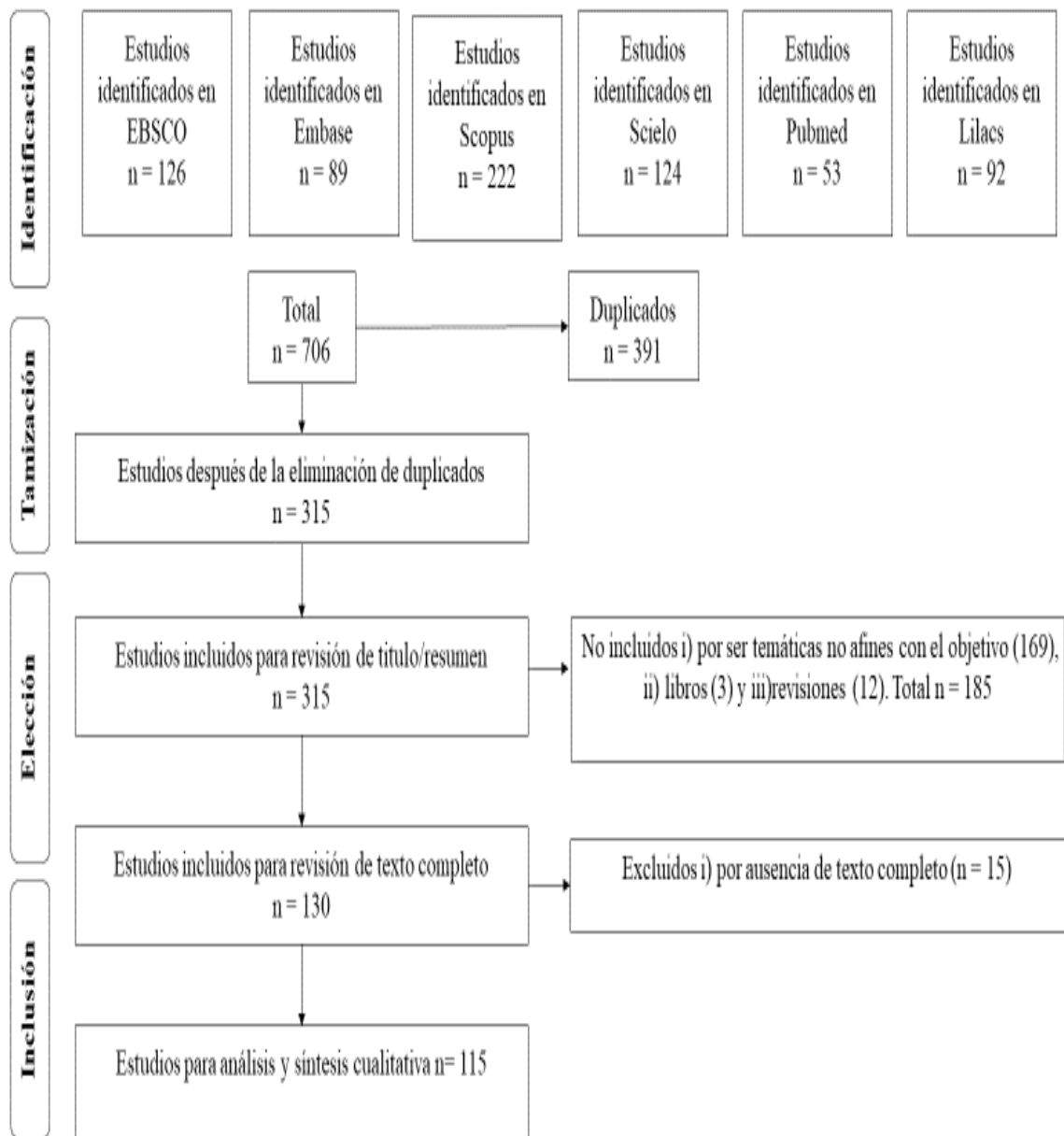
5.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población corresponde a todos los reportes técnico-científicos relacionados con la actividad biológica de AE de *L. alba* hallados en las bases de datos seleccionadas.

5.4 PROCEDIMIENTOS

5.4.1 Revisión sistemática exploratoria de literatura científica. Se realizó una revisión sistemática exploratoria⁶⁰ sobre la literatura científica que describe la actividad biológica del AE de *L. alba*. Empleando los términos “*Lippia alba* y aceite esencial” se planteó una ecuación de búsqueda para recuperar los artículos publicados en las bases de datos EBSCO, Embase, PubMed, Scopus, SciELO y Lilacs desde el inicio de registro en las diferentes bases de datos hasta los publicados el 8 de octubre de 2018; estos registros se sometieron a eliminación de duplicados en Zotero®, y después se aplicaron criterios de inclusión y exclusión, (idioma, temática, tipo de texto, metodología y resultados) hasta finalmente obtener un grupo selecto de documentos al cual aplicar un análisis detallado (figura 1). Las variables de interés (año, país, autor, título, institución, técnica de extracción de AE, actividad biológica evaluada, objeto de estudio y resultado obtenido) se extrajeron y se consignaron en una base de datos en Microsoft Excel® 2016 para después realizar un análisis detallado incluyendo distribuciones de frecuencias con el programa estadístico IBM SPSS® versión 23.0; las figuras se realizaron con el programa GraphPrad® versión 7. La aplicación del protocolo de investigación se realizó por parte de dos investigadores en forma independiente para garantizar la reproducibilidad de la revisión.

Figura1 Resumen del protocolo de revisión sistemática exploratoria aplicado en los estudios reportados para aceite esencial de *Lippia alba*



Fuente: Elaboración propia.

5.4.2 Búsqueda de patentes. Se planteó una metodología de búsqueda de patentes 61,62, con el objetivo de tener una revisión exhaustiva e identificar en bases datos comerciales y gratuitas una gama de patentes. se empleó como palabra

clave el nombre científico de la planta de interés, que corresponde a *Lippia alba*.

Después se procedió a realizar búsquedas en las bases de datos de patentes: Canadian patents database, Espacenet, Google patent, Korean intellectual property rights information service (KIPRIS), Latipat, Patentscope, Superintendencia de Industria y Comercio de Colombia, United States Patent and trademark office (uspto) y en la base de datos comercial PATBASE (Tabla 5). El periodo observado fue desde 1997 hasta septiembre del año 2018).

Tabla 5. Bases de datos de patentes comerciales y gratuitas empleadas para la búsqueda de patentes relacionadas con aceite esencial de *Lippia alba*

Base de datos	Descripción
Base de datos de patentes de la SIC de Colombia	Banco que da acceso a información de marcas, diseños industriales y patentes de la Superintendencia de Industria y Comercio de Colombia
Canadian Patent Database	Esta base de datos ofrece acceso a más de 2.340.000 documentos con información de patentes, marcas, diseños industriales, y derechos de autor publicados por Canadian Intellectual Property Office (CIPO)
Espacenet	Base de datos desarrollada en 1998 por la European Patent Office (EPO) que ofrece acceso libre a información de más de 100 millones de documentos de patentes
Google Patent	Base de datos desarrollado en el año 2006. Permite el acceso a más de 87 millones de documentos de patentes de Europa y EEUU

Tabla 5 (Continuación)

Base de datos	Descripción
Base de datos de patentes de la SIC de Colombia	Banco que da acceso a información de marcas, diseños industriales y patentes de la Superintendencia de Industria y Comercio de Colombia
Canadian Patent Database	Esta base de datos ofrece acceso a más de 2.340.000 documentos con información de patentes, marcas, diseños industriales, y derechos de autor publicados por Canadian Intellectual Property Office (CIPO)
Espacenet	Base de datos desarrollada en 1998 por la European Patent Office (EPO) que ofrece acceso libre a información de más de 100 millones de documentos de patentes
Google Patent	Base de datos desarrollado en el año 2006. Permite el acceso a más de 87 millones de documentos de patentes de Europa y EEUU
Korea Intellectual Property Rights Information Service (Kipris)	KIPRIS es desarrollada por la Oficina Coreana de Propiedad Intelectual (KIPO) en 1996. Esta base de datos permite el acceso a información bibliográfica y texto completo de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad y patentes de la República de Corea del Sur
Latipat	Base de datos de acceso libre desarrollada en 2003 por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI), la Oficina Europea de Patentes (OEP) y la Oficina Española de Patentes y Marcas (OEPM). Provee acceso a información de documentos de patentes de América Latina y España usando la interfaz de Espacenet
Patentscope	Base de datos de la WIPO, provee acceso a más de 71 millones de documentos de patentes con alcance internacional mediante el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT)
United States Patent and Trademark Office (Uspto)	Base de datos que ofrece información en texto completo y bibliográfica de marcas y patentes de los Estados Unidos desde 1790
Patbase	Base de datos comercial de pago, desarrollado por Minesoft Ltd y RWS Group con acceso a patentes de más de 95 autoridades emisoras de todo el mundo: EE. UU., WO, EP, GB, CA, FR, CN, JP, entre otras

Fuente: Elaboración propia

Consecutivamente se hizo un compendio con todas las patentes, se eliminaron los duplicados y las patentes no relacionadas con *L. alba*, (Tabla 6) y en una base de datos del programa Microsoft Excel® 2016 se organizaron los datos en relación con las variables título de la patente, autores (y autor principal), solicitante, país del solicitante, clasificación internacional de patente (CIP), y año de aplicación (o año de prioridad). Los datos se analizaron con el paquete estadístico IBM SPSS® versión 23-

Tabla 6. Resultados de la búsqueda de patentes por Base de datos

Base de datos	Resultados
Base de datos de patentes de la SIC de Colombia	0
Canadian Patent Database	3
Espacenet	3
Google Patent	26
Korea Intellectual Property Rights Information Service (Kipris)	5
Latipat	6
Patentscope	5
United States Patent and Trademark Office (Uspto)	3
Patbase	16
Total con duplicados	67
Total sin duplicados	35
Total de patentes para análisis	22

Fuente: Elaboración propia

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante el análisis integrado de la vigilancia tecnológica (VT), se obtuvo una panorámica de los entornos nacional e internacional que permitió detectar tendencias en aplicabilidad biotecnológica de la actividad biológica del AE de *L. alba*.

6.1 TENDENCIAS EN INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE AE DE *Lippia alba*

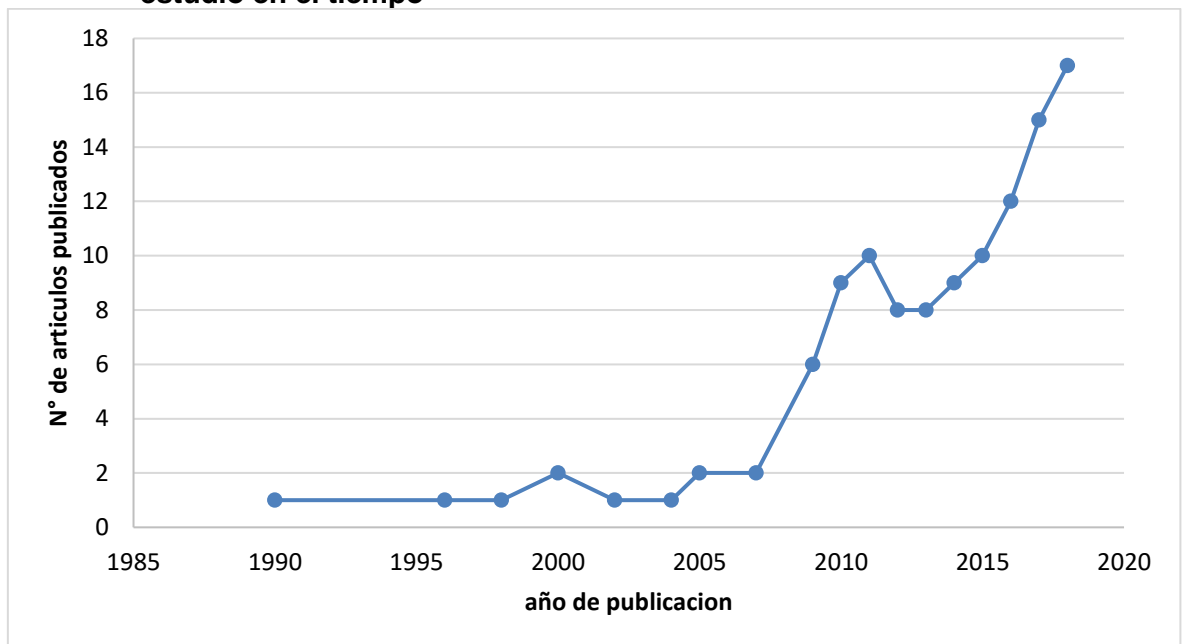
En el transcurso de la historia humana se ha descrito que las plantas medicinales han sido importantes debido a que sus propiedades biológicas contribuyen al cuidado de la salud. Los resultados del estudio evidencian el interés que la comunidad científica tiene hacia el uso seguro de los derivados de estas especies aromáticas

A través de la revisión sistemática exploratoria de las bases de datos disponibles en la web: EBSCO, Embase, PubMed, Scopus, SciELO y Lilacs, utilizando como ecuación de búsqueda el nombre científico de la planta (*Lippia alba*) y aceite esencial, para garantizar exhaustividad, se recuperaron registros en catálogos de bibliotecas. Teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión, se realizó lectura de los títulos y resúmenes; se incluyeron artículos originales que describen la metodología completa y los respectivos resultados; artículos escritos en inglés, español y portugués; cuya temática evaluara la actividad biológica del AE de *Lippia alba*; y se excluyeron revisiones, libros y tesis.

De los 706 artículos científicos recuperados, 115 cumplieron con los criterios de inclusión y fueron revisados en texto completo (Figura 1). Se

identificó que la actividad biológica del AE de *L. alba* es tema de interés en la comunidad científica desde 1990, aunque la publicación de artículos científicos ha sido discontinua, con ausencias prominentes desde 1991 a 1995 y una posterior tendencia ascendente hasta 2018 (Figura 2); los países con mayor producción de artículos de investigación relacionados con la temática corresponden a Brasil (60,5%), Colombia (25,2%) e India (6,2%).

Figura 2 Distribucion de material científico relacionado con la tematica de estudio en el tiempo



Fuente: Elaboración propia

Entre los cinco primeros investigadores con mayor número de publicaciones relacionadas con la temática de estudio se destacaron, en orden descendente, Bernardo Baldisserotto, PhD, adscrito a la Universidad Federal de Santa María. (once publicaciones), Jesús Olivero Verbel, PhD, de la Universidad de Cartagena. (seis publicaciones), Carlos Eduardo Copatti, PhD, de la Universidad Federal de Bahía (cuatro publicaciones), Jonny E. Duque Luna, PhD, de la Universidad Industrial

de Santander (tres publicaciones), y Elena E. Stashenko, del grupo de CENIVAM (tres publicaciones). Estos investigadores han centrado sus evaluaciones en la determinación de los efectos del AE sobre organismos modelos, como bacterias (33,2%), hongos (26,8%), protozoos (6,4%), virus (2,3%) líneas celulares (3,6%) y organismos superiores (27,7%) (Tabla 7).

Tabla 7. Objetos de estudio en la evaluación de la actividad biológica del aceite esencial de *Lippia alba* por sector de aplicación

Microorganismos /Sector de aplicación	Biomédica		Industrial		Alimentos		Etnofarmacológica		Cosmética		rec total	%
	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n		
Bacterias	48	61	12	7	7	2	Np	Np	100	3	3	33,2
Hongos	20	25	36	21	45	13	Np	Np	Np	Np	59	26,8
Protozoos	6	8	10	6	0	0	Np	Np	Np	Np	4	6,4
Virus	4	5	0	0	0	0	Np	Np	Np	Np	5	2,3
Líneas celulares	6	8	0	0	0	0	Np	Np	Np	Np	8	3,6
Organismos superiores	15	19	42	25	48	14	00	3	Np	Np	61	27,7
	100	126	00	59	00	29	00	3	100	3	20	100

Fuente: Elaboración propia

El estudio reveló que los quimitipos I y III son los más comunes. El quimiotipo I presenta mayor reporte sobre el efecto biológico, sin embargo, debe considerarse que las características celulares y moleculares de cada microorganismo u organismo también interfieren con el espectro de los AE, porque sobre los parásitos *Tribolium castaneum* y *Sitophilus zeamais* el quimiotipo III fue más efectivo que el I⁹⁰, pero sobre *Candida krusei* y *Aspergillus fumigatus* el quimiotipo I fue más efectivo¹¹⁴, además, el quimitipo

I presentó efecto anestésico sobre *Hypsiboas geographicus*⁸⁴, pero no en *Neohelice granulata*¹³⁸, y el quimiotipo III fue antiinflamatorio en la línea celular murina RAW 264.7⁸³, mientras en *Oreochromis niloticus* no¹³⁹.

Los AE provenientes de plantas quimiotipos I y III presentan efecto antiespasmódico⁷⁴⁻⁷⁸, anticonvulsivo^{79,80}, ansiolítico^{81,82}, antiinflamatorio⁸³; al contacto con la piel no son irritantes ni alteran la histopatología⁶⁶, son potenciadores del sueño⁷⁹, anestésicos y sedantes⁸⁴; también presentan actividad antioxidante, aunque en esta propiedad, el sitio de colecta es muy determinante, debido a que el quimiotipo I fue un buen antioxidante mientras que otros especímenes quimiotipo III presentaron efecto moderado y ausente^{11,85}.

En acuicultura, para los AE de *L. alba* quimiotipo I se han reportado resultados prometedores, debido a que estos tienen efecto sedante sobre *Rhamdia quelen* (20–40 µL/L)^{126, 127}; efecto anestésico sobre *Litopenaeus vannamei* (mayor a 30 µL/L)¹²², *Colossoma macropomum* (62,5–375 µL/L)¹²⁸, *Echinometra lucunter* (150 µL/L)¹²¹, *Rhamdia quelen* (20 y 150–450 µL/L)^{125, 126, 129, 130}, *Argyrosomus regius* (200 µL/L)¹³¹, *Serrasalmus rombeus* (50–200 µL/L)¹³², *Sparus aurata* (100–300 µL/L)¹³³; y reducen el estrés en *Rhamdia quelen* (10–40 µL/L)^{134, 135}, *Oreochromis niloticus* (20 µL/L)¹²⁴, *Litopenaeus vannamei* (mayor a 30 µL/L)¹²², *Echinometra lucunter* (150 µL/L)¹²¹, híbridos *tambacu* (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*) (200 µL/L)¹²³.

Los AE quimiotipo I pueden emplearse para potenciar las técnicas acuícolas porque mantienen la frescura del pescado almacenado en hielo¹²⁷, no modifican las características organolépticas^{124, 125, 129} ni afectan la calidad de los peces¹²³. Sin embargo, se requiere la realización de otros estudios, debido a que Lima *et al.* (2018) reportaron que las concentraciones de 30–40 µL/L no presentan actividad antimicrobiana sobre mesófilos y psicrófilos¹²⁷, y Veit *et al.* (2017) obtuvieron que 375 mL/L no previene los cambios físico-químicos producidos

por el aturdimiento eléctrico o la hipotermia en filetes de *Rhamdia quelen* durante el almacenamiento en congelación¹³⁰, pero se han generado algunas recomendaciones importantes para el uso de AE en esta área:

- 1) Para el transporte de peces vivos no se recomienda aplicar 15 µL/L de AE para *Argyrosomus regius*, 100–300 µL/L para *Sparus aurata* ni 62,5–375 µL/L para *Colossoma macropomum* porque estas no previenen la respuesta al estrés^{128, 131, 133}.
- 2) No se recomienda sedación previa con 200 µL/L durante tres minutos con AE de *L. alba* para reducir la agitación inicial y tratamiento con 30–40 µL/L de AE para el transporte porque no se evita el estrés oxidativo en el hígado¹³⁶; para *Argyrosomus regius* 15 µL/L no se recomiendan para el transporte de peces vivos, porque esta no inhibe el estrés¹³¹.
- 3) Las concentraciones de 1.600 y 3.200 µL/L de aceites quimiotipo III son efectivas contra *Anacanthorus spathulatus*, *Notozothecium janauachensis* y *Mymarothecium boegeri*, parásitos naturales de *Colossoma macropomum*, pero estas dosis son tóxicas, por lo cual se indica la necesidad de plantear estrategias que permitan aprovechar el efecto antihelmíntico de estos productos¹³⁷.

La actividad insecticida ha sido reportada para los quimiotipos I y III. Se reportó sobre *Rhipicephalus microplus* repelencia 50 (RP₅₀) de 0,47–5,07 mg/cm²,⁸⁶ y CL₅₀ de 8,8–27 mg/mL^{87, 88}; sobre *Tribolium castaneum*, porcentaje de repelencia (RP) de 34%–96% en las concentraciones 0,00002–0,2 µL/cm²,⁸⁹ y CL₅₀ de 19,7–107,8 µL/mL; y sobre *Sitophilus zeamais*, CL₅₀ de 15,2–70,8 µL/mL⁹⁰. El quimiotipo III presenta disuasión mayor de 80% en la ovoposición de *Aedes aegypti* en concentraciones de 0,005–0,2 µg/mL⁹¹, y este también posee actividad larvicida en concentraciones variables: Vera *et al.* (2014) reportaron Cl₅₀ de 0,042–0,044

$\mu\text{g/mL}$ y IC_{95} de 0,089–0,099 $\mu\text{g/mL}$ ⁹²; Muñoz *et al.* (2014), CL_{50} de 0,11 $\mu\text{g/mL}$ y CL_{99} de 0,211 $\mu\text{g/mL}$ ⁹³; Ríos *et al.* (2017), CL_{50} de 63,610–72,340 $\mu\text{g/mL}$ y CL_{95} de 98,910–110,840 $\mu\text{g/mL}$ ⁹⁴; y Aldana *et al.* (2017), CL_{50} de 84–367 $\mu\text{g/mL}$ y CL_{95} de 118–506 $\mu\text{g/mL}$ ⁹⁵.

La actividad antiviral no se evidenció para el quimiotipo I²⁷, pero el quimiotipo III presenta efecto preventivo sobre células infectadas con virus del dengue (serotipos DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4)⁹⁶; en concentración de 11,1 $\mu\text{g/mL}$ redujo los títulos virales de virus de la fiebre amarilla (VFA)⁷⁰. Las concentraciones de 125 $\mu\text{g/mL}$ y 250 $\mu\text{g/mL}$ a las 24 y 48 horas, respectivamente, redujeron $10^{1.5}$ unidades logarítmicas la carga viral de un aislado HSV-1 sensible al Aciclovir²⁷.

La actividad amebicida del quimiotipo III se reportó sobre trofozoítos de *Acanthamoeba polyphaga* con concentración mínima de inhibición 50 (IC_{50}) de 31,79 $\mu\text{g/mL}$ ⁹⁷ y actividad leishmaniacida sobre *Leishmania braziliensis* (promastigote concentración efectiva 50 (CE_{50}) de 8,88 $\mu\text{g/mL}$ y amastigote CE_{50} de 9,19 $\mu\text{g/mL}$) y sobre *Leishmania chagasi* (promastigote CI_{50} de 18,9–100 $\mu\text{g/mL}$)^{24, 66}. El efecto tripanocida es variable, porque para *Trypanosoma cruzi*⁷¹ determinaron que el quimiotipo I tenía IC_{50} de 14,22 a 74 $\mu\text{g/mL}$ sobre epimastigote, trypomastigote y amastigote, mientras que el quimiotipo III presentó IC_{50} de 88,45 $\mu\text{g/mL}$ y mayor que 150 $\mu\text{g/mL}$ para las mismas formas parasitarias⁷¹. Escobar *et al.* (2010) obtuvieron para el quimiotipo I bioactividad sobre epimastigotes IC_{50} de 5,5–8,8 $\mu\text{g/mL}$, y amastigote IC_{50} de 12,2–17,47 $\mu\text{g/mL}$ ²⁴; y para el quimiotipo III epimastigote IC_{50} de 8,8 $\mu\text{g/mL}$ y amastigote IC_{50} de 17,47 $\mu\text{g/mL}$ ²⁴. Además, Baldissera *et al.* (2017) reportaron que el quimiotipo I en tratamientos de 0,5–2% *in vitro* presentó efecto dosisdependiente sobre *Trypanosoma evansi*, pero en tratamientos de 1,5 mL/kg^{-1} *in vivo* en ratón no tuvo eficacia curativa⁹⁸.

La actividad nematocida de los quimiotipos I y III se reportó sobre *Meloidogyne incognita* en las concentraciones 0,1–2,5 mL/L , las cuales

presentaron porcentajes medios de mortalidad desde 22% a 100% en dosis dependiente, y disminución en la tasa de eclosión de 47% a 9%⁹⁹.

Los AE de *L. alba* son antigenotóxicos⁶⁴⁻⁶⁶ pero son tóxicos para *Artemia franciscana*, sobre la cual presentaron dosis letal (DL) de 6,17–24,87 µg/mL⁶⁷, dosis letal 50 (DL₅₀) de 4–21,05 µg/mL¹¹. En ratones la administración oral de dosis de 2.000 mg/kg es letal, y dosis de 900–1.500 mg/kg es compatible con la vida, pero genera signos y síntomas de daño neurológico y motor (ataxia, letargia, salivación y convulsiones transitorias) moderado y severo⁶⁸, mientras que la administración intraperitoneal de dosis mayor que o igual a 1.500 mg/kg causa daños neurológicos, y dosis de 1.000 mg/kg genera daño hepático leve⁶⁹. Sobre células de ovario de hámster chino (CHO) los aceites no inhibieron la proliferación celular en las concentraciones de 0,01–1 µg/mL²⁶; y para las células de riñón de mono verde africano (VERO) se ha reportado concentración citotóxica 50 (CC₅₀) de 25,3–200 µg/mL^{24, 70-72}; para células de carcinoma pulmonar humano (A549), CI₅₀ de 47,80 µg/mL⁷³; para células de monocitos leucémicos humanos (THP-1), CC₅₀ de 16,8–43,17 µg/mL^{24, 66}; para células de linfocitos T de niño con leucemia linfoide aguda (Jurkat), CI₅₀ de 16,6–>31,6 µg/mL; para células hepatocelulares del hígado (HepG2), CI₅₀ de 21,5–200 µg/mL⁷²; y para células de carcinoma epitelial de cérvix humano (HeLa), CI₅₀ de 5–80,5 µg/mL^{27, 72}.

La actividad antimicrobiana y antifúngica se ha reportado sobre microorganismos periodontopatógenos^{100, 101}, cariogénicos¹⁰¹, enterobacterias^{102, 103}, dermatofitos^{104, 105}, fitopatógenos^{106, 107}, sulfato-reductasas¹⁰⁸, patógenos importantes en acuicultura¹⁰⁹⁻¹¹¹, candidiasis¹¹²⁻¹¹⁴, aspergilosis^{112, 114, 115}, criptococosis¹¹³ infecciones gastrointestinales, cutáneas y nosocomiales^{102, 103, 116}; comprendiendo CMI entre 4,0–9.370 µg/mL y CBM 6,5–100.000 µg/mL para bacterias, CMI 31,25–2000 y CMB/CFM 500–1.250 µg/mL (Tabla 8 y Tabla 9).

Tabla 8. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Bactericida Mínima (CBM) de aceites esenciales quimiotipo I y III de *Lippia alba* para especies bacterianas

M.O	Cepa/ aislado	CMI (µg/ml)	CMB (µg/ml)	Quimiotipo	REF
<i>Aeromonas</i> spp	Aislados, ATCC 7966	2.862 – 5.000	781,3 – 6.000	I	109-111
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	ATCC 43717	>3.200	>3.200	III	100
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 7001	630	1.250	III	102
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285	400 -1.600	400 -16.00	III	100
<i>Desulfovibrio alaskensis</i>	NCIMB 13491	78 – 2.500		I	108
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13088	2.500	2.500	III	102
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 19433	630 – 4.000	1.250	I y III	102,113
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922, 201389, 10536, Aislados	400 – 4.000	2.500 – 1.170	I y III	102,103, 113,117
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ATCC 25586	125	125	I	101
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	2.500	2.500	III	102
<i>Listeria innocua</i>	ATCC 19115	580 – 1.330	1.330 – 1.170	I	103
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 33090	580 – 1.330	580 – 1.330	I	103
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	ATCC 33277	6.5 – 250	6.5 – 250	I y III	100,101
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	5.340 – 9.370	5.340 – 9.370	I	103
<i>Salmonella choleraesuis</i>	ATCC 10708	5.340 – 9.370	5.340 – 9.370	I	103
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 8100, CBMAI 469	630 – 4.000	1.250	I y III	102, 113
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, ATCC 25923	290-1.000	290-2.000	I y III	102, 103, 116
<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC 903	250	-	I	101
<i>Streptococcus sanguis</i>	ATCC 10556	250	100.000	I	101

Fuente: Elaboración propia

Tabla 9. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Fungicida Mínima (CFM) de aceites esenciales quimiotipo I y III de *Lippia alba* para hongos

M.O	Cepa/aislado	MIC µg/ml	CFM µg/ml	Quimiotipo	REF
<i>Aspergillus flavus</i>	ATCC 204304	180-1.600	-	I y III	112,114
<i>Aspergillus fumigatus</i>	ATCC 204305, ATCC9142	35-570	1.250	I y III	112, 114, 115
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC6275	600	600	I	115
<i>Aspergillus ochraceus</i>	ATCC12066	300	600	I	115
<i>Aspergillus versicolor</i>	ATCC11730	300	600	I	115
<i>Candida albicans</i>	CBMAI 560, ATCC 10231, CBS 562	250 – 2.000	500	I	101, 113, 118
<i>Candida dubliniensis</i>	ATCC 7978	500	-	I	113
<i>Candida glabrata</i>	ATCC 90030	2.000	-	I	113
<i>Candida krusei</i>	ATCC 6258, aislado clinico	140-2.000	-	I y III	112-114
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019, aislado clinico	280 – 2.000	-	I y III	112-114
<i>Candida tropicalis</i>	ATCC 13803	2.000	-	I	113
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Aislados	300 - 900	-	I	106,107
<i>Cryptococcus gattii</i>	ATCC MYA-4560, MYA-4563, ATCC 208821	1.000 – 2.000	-	I	113
<i>Cryptococcus grubii</i>	ATCC 208821	1.000	-	I	113
<i>Cryptococcus neoformans</i>	ATCC MYA-4560	1.000	-	I	113
<i>Fusarium oxysporum</i>	ATCC 48112	>500	-	I y III	105
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Aislados	800 – 1.200	-	I	106
<i>Microsporum gypseum</i>	Aislados humanos	156	-	I	104
<i>Penicillium funiculosum</i>	ATCC10509	1.250	1.250	I	115
<i>Penicillium ochrochloron</i>	ATCC9112	600	1.250	I	115
<i>Phytophthora capsici</i>	Aislados	50 - 150	-	I	106
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC MYA-4567	2.000	-	I	113
<i>Trichoderma viride</i>	ATCC5061	600	1.250	I	115
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	ATCC 24198	125 - 500	-	I y III	105
<i>Trichophyton rubrum</i>	ATCC 28188, aislados humanos	31,25 – 354,98	-	I y III	104,105

Fuente: Elaboración propia

Esta revisión exploratoria presentó algunas restricciones considerando la pluralidad, la heterogeneidad metodológica de los artículos científicos y la diversidad biológica y química de *L. alba*. De acuerdo con lo anterior, no resultó viable la aplicación de un metaanálisis con los resultados recopilados. Sin embargo, es destacable la exhaustividad obtenida a través de diferentes fuentes de información bibliográfica y el amplio espectro temporal definido, lo cual permite tener una visión extensa sobre la evidencia relacionada con el tema objetivo.

6.2 ANÁLISIS DE PATENTES

Para identificar las tendencias y capacidades en investigación y desarrollo tecnológico relacionados con la actividad biológica del AE de *L. alba*, se estableció una búsqueda de patentes de acuerdo con la clasificación internacional de patentes (IPC) de la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI)⁶². Se obtuvo un total de 67 patentes (Tabla 10); sin embargo, luego de eliminar duplicados se obtuvieron 35 patentes; posteriormente se revisó cuidadosamente cada documento, encontrándose que 11 no eran acordes con la especie de interés, y finalmente, fueron seleccionadas para análisis 22 patentes que tenían relación con *L. alba*

Tabla 10. Listado de patentes utilizadas en el estudio

Database Patent	Title
KIPRIS; Canadian; Google patents; Patbase	Wipe article comprising lotion composition comprising omega-6 fatty acid and method of improving skin barrier function
KIPRIS; Canadian	Absorbent article comprising lotion composition comprising omega-6 fatty acid
KIPRIS; Canadian; Google patents; Patbase	Absorbent article comprising lotion composition comprising a cooling agent
Spacenet; Google patents; USPTO; Patbase	<i>Lippia alba</i> plant named "Bhurakshak'
Spacenet; patentscope; Google patents; Patbase	Skin care preparation
Spacenet; patentscope; Google patents; Patbase	Antioxidant
Latipat; patentscope; Patbase	Phytotherapeutic composition and use of the <i>Lippia alba</i> extract
Latipat; patentscope	Producto fungicida, método para eliminar fitopatógeno lasiodiplodia theobromae con uso de AE de <i>Lippia alba</i>
Latipat; Patbase	Process of obtaining antiprotozoal extract of medicinal plants, extract obtained, antiprotozoal compound and use of plant extracts
Latipat; Patbase	Process of obtaining antimicrobial extract of <i>Lippia alba</i> ,extract obtained, and, antimicrobial composition

Tabla 10 (Continuación)

Latipat; Patbase	Process of obtaining anesthetic compound of <i>Lippia alba</i> anesthetic compound obtained and use of compound as an anesthetic
Latipat; patentscope; Patbase	Compositions for anesthetizing fish and method of fish anesthesia
Google patents	Chemical compositions for the elaboration of an organic antimicrobial spray
Google patents; Patbase	Micro-nutritional speciality made of calcium carbonate and plants
Google patents; Patbase	Absorbent article comprising a cooling system
Google patents	Melanin formation inhibitory material
KIPRIS; Google patents; USPTO	Delivery systems
Patbase	Process for the production of nutraceutical capsules, tablets and micelle flour of edible and medicinal fungi mycelia from substrates with medicinal plants
Google patents	Composition for treating pain and/or inflammation comprising eugenol and <i>beta</i> -caryophyllene
Google patents	Hot washable poly- <i>n</i> -isopropylacrylamide hydrogel delivery systems
Google patents	Discoloring inhibitor
Google patents	Methods and compositions for environmentally friendly pest control
Google patents	Vegetated roofing system
Google patents	Agent for promoting vitamin C transporter production
Google patents	Composition for external use

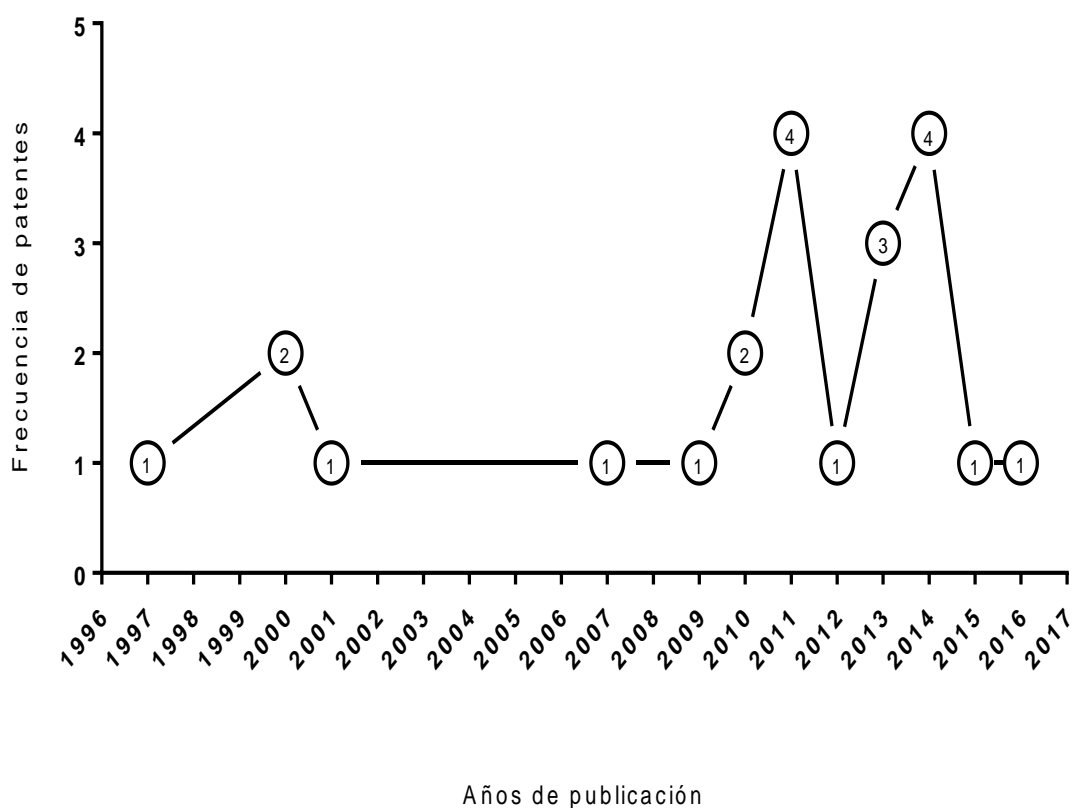
Tabla 10. (Continuación)

Base de datos	Título de patente
Google patents	Phytotherapeutic pharmaceutical combination of <i>Lippia salviifolia</i> and <i>Lippia sidoides</i> , phytotherapeutic pharmaceutical composition, process for preparing a phytotherapeutic pharmaceutical composition and veterinary uses thereof
Google patents	Phytotherapeutic pharmaceutical association, phytotherapeutic pharmaceutical composition, method for producing phytotherapeutic pharmaceutical composition and using it in veterinary science
Google patents	Spiroindolinones and therapeutic uses thereof
Google patents	Compositions and/or products containing solid active substance with improved solubility
Google patents	Compound particularly for treating depression and anxiety
Google patents	Systems, apparatuses, and methods for classification
Google patents; KRISP	Jasmonate derivative and compositions thereof
Patbase	Compound liquid ready for consumption
Patbase	Vegetated roofing system
Patbase	Formulation to be reborn and prevent hair loss

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, se observa que las patentes relacionadas con *L. alba* han sido publicadas a partir del año 1997, pero con una baja tasa de publicación (usualmente 1 publicación en los años registrados), la cual ha sido más frecuente durante los años 2011 y 2014 (Figura 3).

Figura 3 Frecuencia de patentes relacionadas con *Lippia alba* respecto a los años de publicación

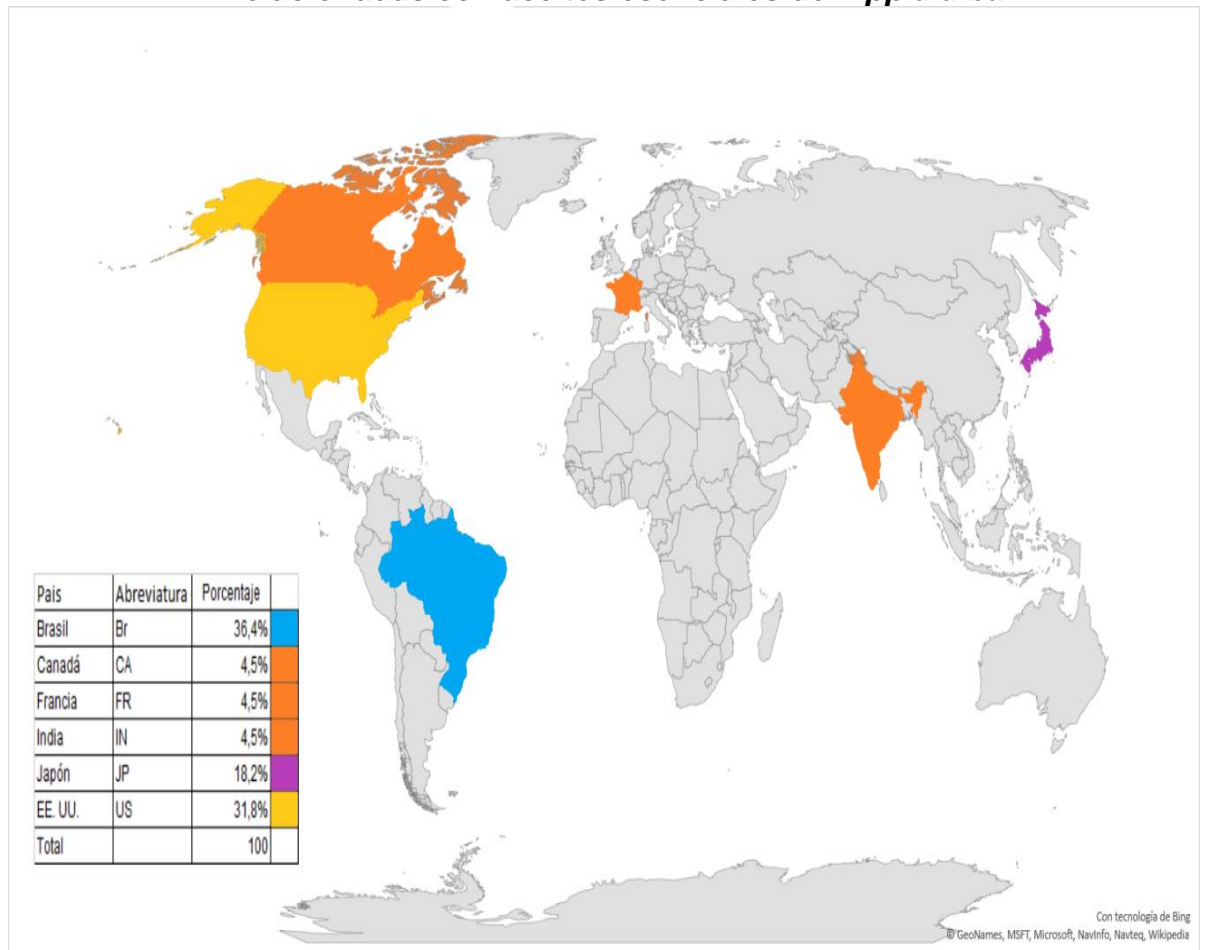


Fuente: Elaboración propia

Se observó también que las patentes han sido solicitadas en mayor frecuencia por empresas e instituciones ubicadas en países desarrollados, siendo en orden descendente Brasil 36% (8 solicitudes), EE. UU. (32%) (7 solicitudes) y Japón 18% (4 solicitudes). Aunque se observó, que otros países con alto nivel de desarrollo como Canadá y Francia registraron una solicitud cada uno y un

país no desarrollado, pero rico en diversidad como es la India también registro una solicitud de patente relacionada con *L. alba*. Siendo entonces las empresas e instituciones solicitantes acordes a estos países, lo cual suministra una visión de cuáles son los principales actores interesados en la industrialización de esta especie en el mundo y especialmente en Latinoamérica (Figura 4).

Figura 4 Países solicitantes según actividad de patentamiento relacionadas con aceites esenciales de *Lippia alba*



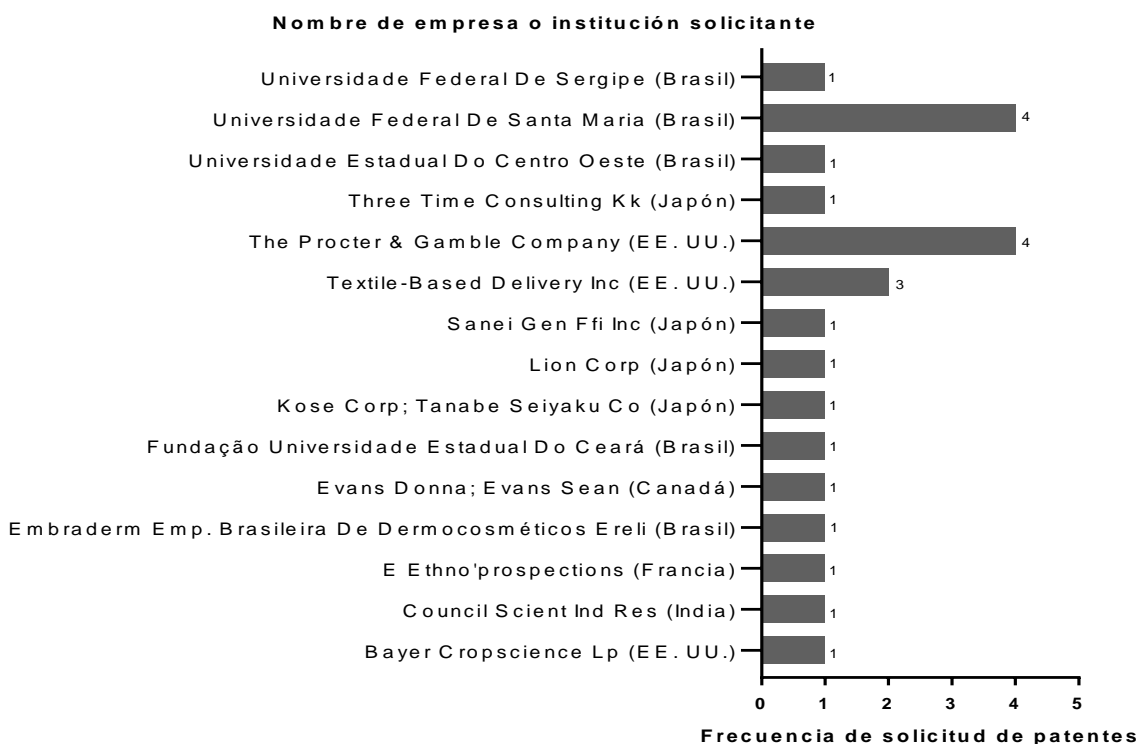
Fuente: Elaboración propia

Se destacan entonces los autores Heinzmann Berta Maria y Raphael Warren con cuatro patentes cada uno, y otros autores con una patente, correspondiente a: Anderson David, Catherine Hanras, David Anderson, Durinézio José De Almeida,

Evans Donna, Hoshino Hiroshi, José Jackson Coelho Sampaio, Kato Yoshiaki, Kumar Sushil, Marcos De Vasconcelos Barbosa, Nascimento Alberto Ferreira Do Junior, Satoshi Takamatsu, Sugimoto Masanori, Vandock Kurt.

Las entidades autoras son principalmente The Procter & Gamble Company y Universidade Federal De Santa Maria con cuatro patentes cada uno seguido de Textile-Based Delivery Inc. con dos patentes y con una patente cada una, las compañías: Bayer Cropscience LP, Council Scient Ind Res, E Ethno'prospections, Embraderm Emp. Brasileira De Dermocosméticos Erelí, Evans Donna; Evans Sean, Fundação Universidade Estadual Do Ceará, Kose Corp; Tanabe Seiyaku Co, Lion Corp, Sanei Gen Ffi Inc, Textile-Based Delivery Inc, Three Time Consulting Kk, Universidade Estadual Do Centro Oeste – Unicentro, Universidade Federal De Sergipe (Figura 5).

Figura 5 Frecuencia de solicitantes líderes de patentes que incluyen aceites esenciales de *Lippia alba*



Fuente: Elaboración propia

La vigilancia de patentes aplicada arrojó resultados similares a los referidos por Tofiño *et al.*, (2017), en los que se indicó que la principal aplicación industrial de las plantas aromáticas y sus derivados se asociaba a las necesidades de la vida, correspondiente a la categoría A. Por otro lado, este mismo estudio refiere 47 patentes para *L. alba*, principalmente ligadas a Brasil, Colombia e India, en orden de importancia⁴. Sin embargo, dado que el presente estudio se enfocó específicamente en AE, solo se identificaron 22 registros que en sus reivindicaciones indicaban la novedad del uso del AE de esta especie. Específicamente se identificaron dos grandes categorías, necesidades corrientes de la vida (A) y química-metalúrgica (C) (Tabla 11).

Tabla 11. Clasificación de las patentes identificadas para aceite esencial de *Lippia alba*, según la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual – OMPI

Subclase	Descripción de la subclase
A01N	Conservación de alimentos o productos alimenticios A23; Preparaciones de uso médico, dental o para el aseo que eliminan o previenen el crecimiento o la proliferación de organismos no deseados A61K Productos que atraen o repelen a los animales; reguladores del crecimiento de los vegetales (mezclas de pesticidas con fertilizantes C05G)
A01P3	Fungicidas
A21D	Conservación de productos de panadería por adición de ingredientes
A23B	Conservación de alimentos, productos conservados, madurados o enlatados
A23L	Alimentos, productos alimenticios o bebidas no alcohólicas no cubiertos por las subclases A21D o A23B-A23J; conservación de alimentos o de productos alimenticios, en general
A61F	Filtros implantables en los vasos sanguíneos; prótesis; dispositivos que mantienen la luz o que evitan el colapso de estructuras tubulares

Tabla 11 (Continuación)

A61K	Preparaciones de uso médico, dental o para el aseo (dispositivos o métodos especialmente concebidos para conferir a los productos farmacéuticos una forma física o de administración particular A61J 3/00; aspectos químicos o utilización de substancias químicas para, la desodorización del aire, la desinfección o la esterilización, vendas, apósitos, almohadillas absorbentes o de los artículos para su realización A61L; composiciones a base de jabón C11D)
A61L	Procedimientos o aparatos para esterilizar materiales u objetos en general; desinfección, esterilización o desodorización del aire; aspectos químicos de vendas, apósitos, compresas absorbentes o
A61P	Actividad terapéutica específica de compuestos químicos o de preparaciones medicinales
A61Q	Uso específico de cosméticos o de preparaciones similares para el aseo
C07C	Compuestos acíclicos o carbocíclicos (compuestos macromoleculares c08; producción de compuestos orgánicos por electrolisis o electroforesis C25B 3/00, C25B 7/00)
C09K	Sustancias para aplicaciones no previstas en otro lugar; aplicaciones de sustancias no previstas en otro lugar

En mayor detalle dentro de estas categorías, se especifican A1N (conservación de cuerpos humanos, animales o vegetales o parte de ellos, biocida), A1P (fungicida); A61P (los filtros implantables en los vasos sanguíneos; prótesis; dispositivos que proporcionan potencia para prevenir el colapso de estructuras tubulares del cuerpo; A61K (preparaciones medicinales que contienen ingredientes orgánicos activos/ aspectos particulares), A61Q (preparaciones para cuidados de los dientes, la cavidad bucal o la dentadura), A61L (métodos o aparatos para esterilizar materiales u objetos en general); A21 (horneado, masas comestibles). A21D (tratamiento de preservación, de harina o de masa, p. ej. por adición de materiales). A23 (alimentos o productos alimenticios). A23B (conservación, carne, pescado, huevos, frutas,

verduras, semillas comestibles; maduración química de frutas o verduras; los productos preservados, madurados o envasados). A23L (alimentos, alimentos, o bebidas no alcohólicas, no cubiertas por las subclases A23B - A23J; su preparación o tratamiento, p. ej. cocción, modificación de las calidades nutritivas, tratamiento físico).

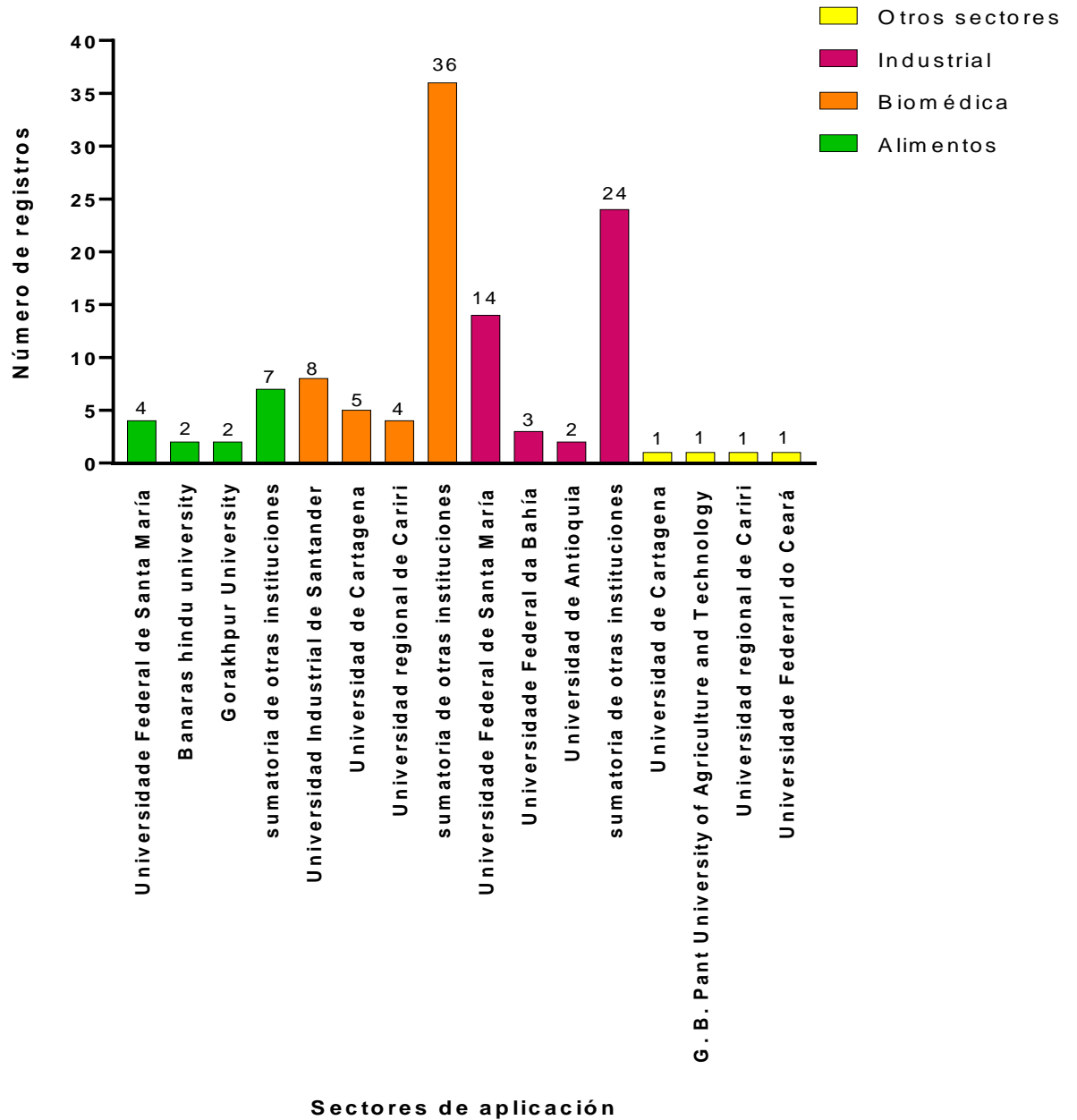
El otro gran sector, corresponde a la categoría C QUÍMICA; METALURGIA. C07 (química orgánica). C07C (compuestos acíclicos o carboxílicos, producción de compuestos orgánicos para electrólisis o electroforesis); C09 (pinturas; pulidos; resinas naturales; adhesivos; composiciones no proporcionadas de otra manera; aplicaciones de materiales no disponibles de otra manera); C09K materiales para aplicaciones no dispuestas de otra manera; aplicaciones de materiales no disponibles de otra manera.

6.3 SECTORES DE APLICABILIDAD BIOTECNOLÓGICA DEL AE DE *L. ALBA*

De acuerdo con los resultados de la vigilancia tecnológica, los AE de *L. alba* son bioinsumos de interés, debido a su posibilidad de bioprospección.

Las publicaciones científicas relacionadas con la actividad biológica de los AE de *L. alba* se enmarcaron en los sectores de alimentos (12%), biomédico (46%), cosméticos (1%), industrial (37%) y etnofarmacológico (4%), y de acuerdo con las filiaciones descritas, se reportaron por instituciones ubicadas en Brasil, India y Colombia (Figura 6).

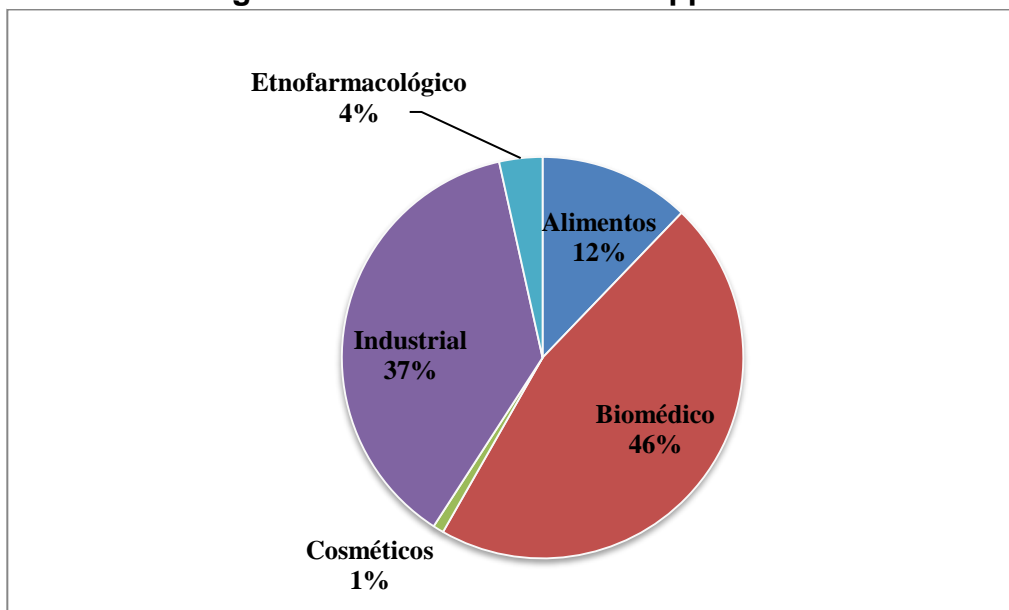
Figura 6 Sectores de aplicación y las respectivas instituciones en las cuales se ha reportado la actividad biológica del aceite esencial de *Lippia alba*



Fuente: Elaboración propia

En esta revisión, se encontró que el área de mayor número de registros de la actividad biológica de AE de *L. alba* fue el biomédico, seguido del industrial, alimentos y etnofarmacológico (Figura 7).

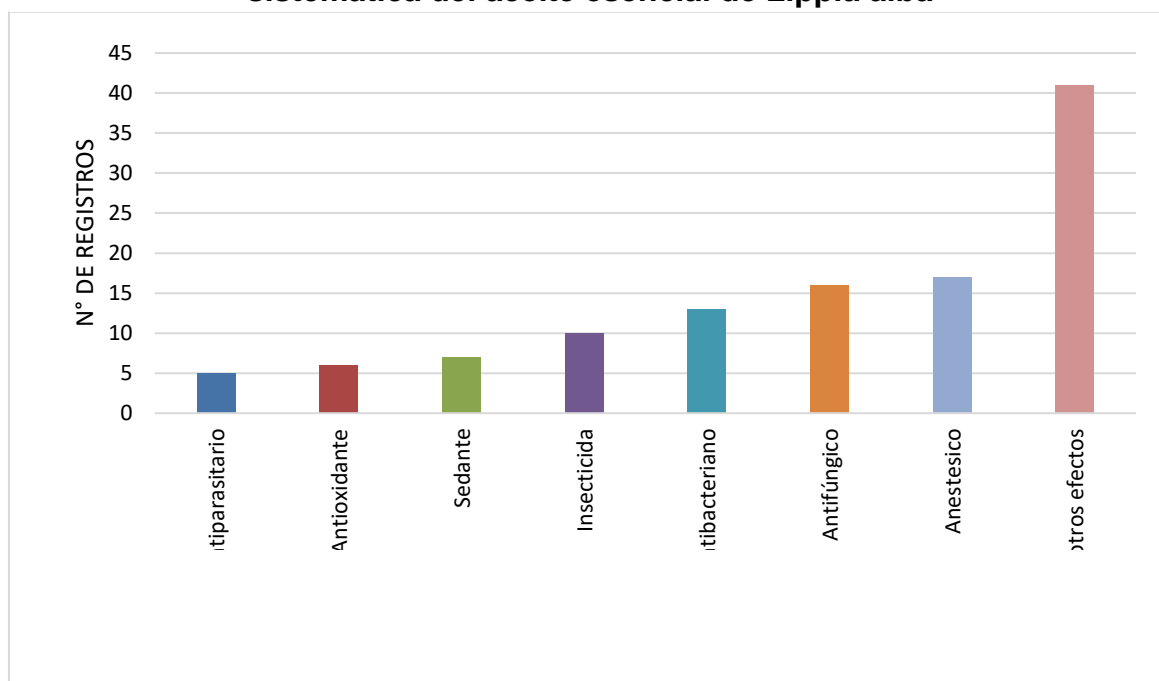
Figura 7 Sectores de aplicación de las investigaciones de la actividad biológica del aceite esencial de *Lippia alba*



Fuente: Elaboración propia

Dentro de estos sectores, las actividades biológicas más relevantes fueron anestésico-ansiolítico-sedante (organismos superiores), antifúngico, insecticida, antibacteriano y antiparasitario (Figura 8).

Figura 8 Actividades biológicas más relevantes identificadas en la revisión sistemática del aceite esencial de *Lippia alba*



Fuente: Elaboración propia

En ciencias biomédicas se han dirigido investigaciones que proporcionan herramientas efectivas para solventar las problemáticas relacionadas con infecciones amebianas⁹⁷, herpéticas²⁷, enfermedades tropicales, como dengue⁹⁶, leishmaniasis^{24, 66}, tripanosomiasis^{24, 71, 98}, fiebre amarilla⁷⁰, control de vectores, como *Aedes aegypti*^{91, 92, 94, 95}, micosis^{112, 113, 115}, enfermedades intrahospitalarias^{102, 103, 113} y enfermedades relacionadas con la cavidad bucal^{100, 101}; mientras que el sector agroindustrial se ha enfocado en el uso de AE de *L. alba* para controlar eficientemente parásitos que afectan la producción de hortalizas⁹⁹, mejorar la conservación de granos^{89, 90, 119}, la calidad de productos derivados del ganado vacuno⁸⁶⁻⁸⁸, para transporte adecuado de especies acuáticas ornamentales, como *Hippocampus reidi*¹²⁰, anestésicos para organismos modelos, como *Hypsiboas geographicus*⁸⁴, sedantes, anestésicos y conservantes en erizos¹²¹, camarones¹²² y peces de importancia económica¹²³⁻¹²⁵ (Anexo C y anexo E).

En este estudio se evidenció que en relación con los constituyentes químicos de los AE de *L. alba*, la carvona y el linalool fueron los de mayores registros bibliográfico, con un 30,4% y 23,5% respectivamente. A su vez la carvona estuvo relacionada en mayor proporción con estudios del área biomédica seguido del industrial, por su parte el linalool referenciado mayoritario en estudios de aplicabilidad industrial, seguido del biomédico, alimentos y etnofarmacológico. Respecto al geranial, su uso se enfocó en el área biomédica, seguido en igualdad de proporciones por el industrial y alimentario. Le sigue en importancia el citral, en el que se refiere un uso equitativo en el sector biomédico e industrial, seguido en menor proporción por los sectores alimentario y etnofarmacológico con igual número de registros. 21 artículos no refieren el componente mayoritario o el quimiotipo del AE, asociados ocho registros en biomédica, ocho en industrial, cuatro en alimentos y uno en cosmética (Tabla 12).

Tabla 12. Componentes mayoritarios del aceite esencial de *Lippia alba* y el área de aplicación

Area de Aplicación / Componente Mayoritario	Biomedica	Industrial	Alimentos	Etnofarmacologica	Cosmetica	Frecuencia total	%
Carvona	22	10	2	1	0	35	30,4%
Linalool	6	15	5	1	0	27	23,5%
Citral	7	7	1	1	0	16	14,0%
Geranial	9	3	3	0	0	15	13,0%
Nerol/Geraniol	1	0	0	0	0	1	0,86%
No Presentan	8	8	4	0	1	21	18,3%
Total	53	43	15	3	2	115	100%

Fuente: Elaboración propia

Se identificó que existe una correlación entre los artículos científicos y las patentes;

no obstante, la verificación de patentes reflejó un aprovechamiento limitado de la actividad biológica del AE de *L. alba*, dado que la información registrada en la revisión exploratoria reporta un amplio espectro biológico. Por otro lado, los principales componentes del AE de *L. alba* identificados en Colombia son citral²⁶, limoneno, y carvona^{44, 49}; cuya composición permite considerar que los AE de *L. alba* presentan una similitud funcional con el grupo de *Menta piperita* y *Menta spicata*; y de acuerdo con lo registrado por Tofiño *et al.*, (2017), *Mentha spicata*, es la especie con mayor tendencia de patentamiento en el área de la salud oral (56%), cuyas patentes agrupadas en las clases A61K (36%), C12N (12%) y A61P (8%), y el 44% agrupadas en otras clases⁴. Por consiguiente, el AE de *L. alba*, nativa promisorio, especie nep con metabolitos secundarios y propiedades similares a las mentas, es un bioinsumo de interés, dada su posibilidad de bioprospección y escalamiento de sus formulados en sectores de aplicación de acuerdo con las demandas regionales, nacionales e internacionales. Además, se requiere el desarrollo de bioproductos que contribuyan positivamente en la actividad pesquera artesanal e industrial, en la conservación y calidad de productos¹⁴⁰, y apoyen a nivel de salud pública la implementación de estrategias de promoción y prevención para el control sostenible de vectores de enfermedades tropicales, dada las dinámicas poblacionales, variabilidad y cambio climático¹⁴¹

7. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados de la revisión de la literatura científica sobre la actividad biológica del AE de *L. alba*, se evidenció interés en la temática desde la década del 90; y desde 1997 se registran desarrollos tecnológicos que permiten hacer uso productivo de estos AE en diferentes sectores. Aunque ha sido un avance pasivo en comparación con otras plantas medicinales, se han propuesto invenciones de aplicación industrial relacionadas con necesidades corrientes de la vida (A) y química-metalúrgica (C), para mejorar la conservación de alimentos, protección de superficies bióticas y abióticas, también se ha enfocado el interés en la formulación de sustancias con efectos terapéuticos, desinfectantes, biocidas, cosméticos, entre otras aplicaciones; lo cual es debido principalmente a su amplio espectro de acción sobre organismos eucariotas y procariotas, como se describe en los artículos científicos sobre los AE de *L. alba*. Por otro lado, este mismo estudio refiere patentes para *L. alba*, principalmente ligadas a Brasil, Colombia e India, en orden de importancia.

En el estudio se identifica la oportunidad de desarrollo de bioproductos que contribuyan positivamente en la actividad pesquera artesanal e industrial, en la conservación y calidad de productos, y apoyen a nivel de salud pública la implementación de estrategias de promoción y prevención para el control sostenible de vectores de enfermedades tropicales, dada las dinámicas poblacionales, variabilidad y cambio climático.

La información identificada en esta VT promueve y respalda la formulación de proyectos enfocados hacia el uso de *L. alba* y sus respectivos derivados; lo cual puede ser promisorio para el desarrollo industrial y productivo del país. Colombia posee una destacada diversidad vegetal, maneja un portafolio de producción y exportación de hierbas aromáticas y condimentarias, dentro de las cuales se encuentran las mentas (*Mentha piperita* y *Mentha spicata*), cuyos componentes

tienen similitud funcional a *L. alba*; especie aromática que presenta un desarrollo prominente de investigación científica relacionada con la actividad biológica del insumo en estudio.

El estudio ratificó la asociación entre la fitoquímica del AE y el área de aplicación, encontrándose que los componentes mayoritarios identificados en los AE de las accesiones de *L. alba* cultivadas en el territorio nacional corresponden a citral, limoneno y carvona (quimiotipos I y III), y de acuerdo con la información recopilada en esta VT el potencial biotecnológico del AE de *L. alba* está relacionado principalmente con los dos quimiotipos. Como conclusiones de este análisis de vigilancia se determina que los sectores económicos en los cuales es posible el desarrollo de biotecnologías derivadas a partir de aceites esenciales son el biomédico, seguido del industrial, alimentos y etnofarmacológico

No obstante, dado que en el país, el mercado de las plantas medicinales está poco desarrollado y para varias especies como *L. alba*, la mayor distribución se da mediante mercados informales, no hay un buen aprovechamiento del potencial económico de tales insumos; por tal razón, se requiere gestionar alianzas estratégicas, para la consolidación de la cadena PAMCyA, contemplando la priorización de los efectos más consistentes registrados en esta VT y abordar retos en biotecnología soportados por las ciencias básicas y aplicadas, teniendo en cuenta que la biotecnología es parte de la convergencia tecnológica que permite que el país encuentre retos y oportunidades de investigación, desarrollo tecnológico e innovación. Se deben enfocar dichos planteamientos en concordancia con las demandas regionales, nacionales y hasta globales, que permitan fomentar las áreas de siembra, productividad, encadenamiento de la academia con la industria para el escalamiento de los formulados e implementación de estrategias que permitan la bioprospección e inclusión de especies nativas promisorias como *L. alba* y sus derivados a los mercados internacionales como Estados Unidos, Alemania y Francia, los cuales están

dedicados a la industria cosmética, farmacéutica y agroindustrial.

Hoy, ciencia, tecnología e innovación se convierten en una estrategia de Estado, para garantizar tecnologías con valor agregado para el aprovechamiento de la biodiversidad colombiana; sin embargo, la situación actual de pérdida de biodiversidad y disminución de áreas cultivadas son retos para intervenir. Así, la academia, los institutos de investigación, articulados con el sector empresarial impulsarían el desarrollo, sostenibilidad y competitividad de una economía. Además, las expectativas de haber sido aceptados en la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico - OCDE hace necesaria una agenda de prioridades y desde la misión de sabios es imperativo abordar retos en biotecnología soportados por las ciencias básicas y aplicadas y así aportar al desarrollo rural y agroindustrial en donde las cadenas de las PAMCyA y en particular la nativa promisoría *L. alba* son bioinsumos importantes para el desarrollo de los sectores priorizados en el presente estudio de vigilancia tecnológica.

REFERENCIAS

- 1 Plantlife International, Vines G. Plantlife. Herbal Harvests with a Future – Towards Sustainable Sources for Medicinal Plants. 2004. p. 12. Disponible en: <https://goo.gl/N66iRp>.
- 2 Grand view research. market research report. Organic Personal Care Market Size, Share & Trends Analysis Report By Application (Skin Care, Hair Care, Cosmetics, Oral Care), By Region (North America, Europe, APAC, CSA, MEA), and Segment Forecasts, 2018 - 2025. 2018. p. 187. Disponible en: <https://bit.ly/2S1bL8T>.
- 3 Bouyahya A, Guaouguaou F, Nadia Dakka N, Bakri Y, Dakka N, Bakri Y. Pharmacological activities and medicinal properties of endemic Moroccan medicinal plant *Origanum compactum* (Benth) and their main compounds. *Asian Pacific J Trop Dis.* 2017;7(10):628–40.
- 4 Tofiño-Rivera A, Ortega-cuadros M, Melo-Ríos A, Mier-Giraldo H. Vigilancia tecnológica de plantas aromáticas: desde la investigación a la consolidación de la agrocadena colombiana. *Corpoica Cienc y Tecnol Agropecu.* 2017;18(2):353–77.
- 5 MinAgricultura. Cadena productiva de plantas aromaticas, medicinales, condimentarias y afines (PAMC). Bogotá, Colombia; 2014. Disponible en: <https://bit.ly/2Uzwi6d>.
- 6 Bernal H, García H, Londoño C, Molano M, Quevedo G, Vásquez C. Pautas para el conocimiento, conservación y uso sostenible de las plantas medicinales nativas en Colombia. 1ra ed.; 2011. 236 p. Disponible en: <http://bit.ly/2w60mvG>.
- 7 Fajardo S, Lizcano P. Estudio exploratorio de mercado para *Lippia alba* como alternativa de producción sostenible en la cuenca media y baja del Rio Las Ceibas,

Neiva Colombia. Rev Ing y Región. 2015;13 (1):125–37.

8 Barrientos J, Reina M, Chacón M. Potencial económico de cuatro especies aromáticas promisorias para producir aceites esenciales en Colombia. Rev Colomb Ciencias Hortícolas. 2012;6(2):225–37.

9 Cardona J, Barrientos J. Producción, uso y comercialización de especies aromáticas en la región Sumapaz, Cundinamarca. Rev Colomb Ciencias Hortícolas. 2015;5(1):114–29.

10 Linde G, Colauto N, Albertó E, Gazim Z. Quimiotipos, Extracción, Composición y Aplicaciones del Aceite Esencial de *Lippia alba*. Rev bras plantas med. 2016;18(1):191–200.

11 Olivero-Verbel J, González-Cervera T, Güette-Fernandez J, Jaramillo-Colorado B, Stashenko E. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. Brazilian J Pharmacogn. 2010;20(4):568–74.

12 Ramírez L, Castaño D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Sci Tech Año XV. 2009;(42):263–8.

13 Sangwan N, Farooqi A, Shabih F, Sangwan R. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regul. 2001; 34:3–21.

14 MinAgricultura. Ingredientes Naturales: Una alternativa de desarrollo rural sostenible. Villavicencio, Colombia; 2014. Disponible en: <https://bit.ly/2Uya700>,

15 Mier H. Cadena Plantas Aromáticas, Medicinales, Condimentarias y Afines. Estrategias para incrementar exportaciones de hierbas aromáticas y condimentarias colombianas. Bogotá, Colombia; 2014. Disponible en: <https://bit.ly/2Y00CZB>.

16 Corpoica, MinAgricultura, Colciencias. Plan Estratégico de Ciencia, Tecnología e Innovación del Sector Agropecuario Colombiano. Cadena de Plan Estratégico de Ciencia, Tecnología e Innovación del Sector Agropecuario Colombiano. Bogota, Colombia; 2016. Disponible en: <https://bit.ly/2EXxABo>.

17 Hennebelle T, Sahpaz S, Joseph H, Bailleul F. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. J Ethnopharmacol. 2008;116(2):211–22.

18 Ministerio de la Protección Social. Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales. Bogota, Colombia; 2008. Disponible en: <https://bit.ly/2UGvNXD>.

19 Invima. Listado de Plantas Medicinales Aceptadas con Fines Terapéuticos diciembre - 2018. 2018. p. 1–69. Disponible en: <https://bit.ly/2HmGxb0>.

20 Ahuja K, Singh S. Global market insights. Essential Oils Market worth over \$13 bn by 2024. 2018. Disponible en: <https://bit.ly/2TE0LDF>.

21 Markets and Markets. Essential Oils Market by Product Type (Orange, Lemon, Lime, Peppermint, Citronella, Jasmine), Method of Extraction, Application (Food & Beverage, Cosmetics & Toiletries, Aromatherapy, Home Care, Health Care), and Region - Global Forecast to 2022. 2018. Disponible en: <https://bit.ly/2T6lFpK>.

22 Departamento Administrativo Nacional de Estadística, Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). 3 Censo Nacional Agropecuario. Tomo II. Tercer Censo Nacional Agropecuario - 2014 -3er CNA. Bogotá, Colombia; 2016. Disponible en: <http://bit.ly/2q3NoH0>.

23 Stashenko E, Martínez J, Durán D, Córdoba Y, Caballero D. Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género *Lippia* (Verbenaceae) cultivadas en

Colombia. Rev Acad Colomb Cienc. 2014;38:89–105.

24 Escobar P, Leal S, Herrera L, Martinez J, Stashenko E. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp essential oils and their major components. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2010;105(2):184–90.

25 Lozada B, Herrera L, Perea J, Stashenko E, Escobar P. Efecto in vitro de aceites esenciales de tres especies de *Lippia* sobre *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans et al., agente causante de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.). Acta Agron. 2012;61(2):102–10.

26 Tofiño-Rivera A, Ortega-Cuadros M, Galvis-Pareja D, Jimenez-Rios H, Merini L, Martinez-Pabon M. Effect of *Lippia alba* and *Cymbopogon citratus* essential oils on biofilms of *Streptococcus mutans* and cytotoxicity in CHO cells. J Ethnopharmacol. 2016;194(2016):749–54.

27 Agudelo-Gómez L, Gómez Ríos G, Durán García D, Stashenko E, Betancur-Galvis L. Composición química y evaluación de la actividad antiherpética in vitro de aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown y sus componentes mayoritarios. Rev la Univ Ind Santander Salud. 2010;42(3):230–9.

28 Bonilla C, Sánchez S, Guzman S. El Cultivo de Pronto Alivio *Lippia alba* (Miller.) N.E. Brown ex Britton & Wilson. Palmira; 2004. 16 p. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/5409/>.

29 Bonilla C, Sánchez M, Delgado J, Zambrano E, Buitrago L, Castro D. Descripción botánica, manejo del cultivo y poscosecha de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown ex Britton & P. Wilson. 1ra ed. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2013. 30 p.

30 Schultes R. La etnobotánica: su alcance y sus objetos. Caldasia. 1941;(3):7–12.

- 31 Briceño L, Mahecha A, Triana M. Recuperación etnobotánica del uso tradicional no maderable del bosque secundario en el municipio de Nocaima, Cundinamarca. *Rev Mutis*. 2017;7(1):48–66.
- 32 Rodríguez E, Chepe L, Valencia E. Estudio Etnobotánico de Especies Medicinales Utilizadas por la Comunidad de la Vereda Campo Alegre del Corregimiento De Siberia – Cauca (Colombia). *Rev Ciencias*. 2013;17(2):35–49.
- 33 Ocampo RÁ, Valverde R. Manual de cultivo y conservación de plantas medicinales. Tomo I. 1ra ed. San José, Costa Rica: Tramil, Centroamerica; 2000. 152 p.
- 34 Fuentes V, Ciro L, Rodriguez C, Germosén-Robineau L. Manual de cultivo y conservación de plantas medicinales. Tomo II. 1ra ed. Centenario S., editor. Cuba; 2000. 204 p.
- 35 Hernández H, Bonilla C, Sánchez O. Efecto de la fertilización nitrogenada en la producción de biomasa y calidad de aceite esencial en *Lippia alba* (Miller), Pronto alivio. *Acta Agronómica*. 2004;53(1):1–7.
- 36 Cos P, Vlietinck A, Berghe D Vanden, Maes L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro “proof-of-concept.” *J Ethnopharmacol*. 2006;106(3):290–302.
- 37 Butler M. Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. *Nat Prod Rep*. 2008;25(3):475–516.
- 38 Lang G, Buchbauer G. A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr J*. 2012;27(1):13–39.

- 39 Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo P, Castillejos L, Ferret A. Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci.* 2007; 90:2580–95.
- 40 Reyes-Jurado, F; Palou, E; López-Malo A. Vapores de aceites esenciales: alternativas de antimicrobianos naturales. *Temas Sel Ing Aliment.* 2012;6(1):29–39.
- 41 Nadeem F, Azeem M, Jilani M. Isolation of Bioactive Compounds from Essential Oils – A Comprehensive Review. *Int J Chem Biochem Sci.* 2017;12:75–85.
- 42 Lahlou M. Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils. *Phyther Res.* 2004; 18:435–48.
- 43 Bermúdez-Cañete M. Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales. Tema 7. Aceites esenciales. 2010. p. 10. Disponible en: <https://bit.ly/2XWSaul>.
- 44 Stashenko E, Jaramillo B, Martínez J. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia verbenaceae. *Rev Acad Colomb Cienc.* 2003;27(105):579–97.
- 45 Gómez G, Durán D, Martínez J, Stashenko E, Verbel J. Comparación de la composición química y de la actividad biológica de los aceites esenciales de *Lippia alba* (mill.) n.e.br., obtenidos variando las condiciones de extracción y secado. *Sci Tech.* 2007; XIII (33):227–9.
- 46 Zhang Q, Lin L, Ye W. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chin Med.* 2018;13(1):1–26.
- 47 Bandoni A. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. UNLP-

CYTED, editor. Buenos aires; 2000. 410 p.

48 Jirovets L, Buchbauer G. Processing of the essential oil plant, in Processing, Analysis and Application of Essential Oils. India: Har Krishan Bhalla & Sons; 2005. 23 p.

49 Durán D, Monsalve L, Martínez J, Stashenko E. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia, y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. Sci Tech Año XIII. 2007; 33:435–8.

50 Saad N, Muller C, Lobstein A. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. Flavour Fragr J. 2013;28(5):269–79.

51 Pasqua R, Hoskins N, Betts G, Mauriello G. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. J Agric Food Chem. 2006;54(7):2745–9.

52 Lopez-Romero J, González-Ríos H, Borges A, Simões M. Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Evid Based Complement Alternat Med; 2015:795435.

53 Li C-M, Yu J-P. Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Mechanism of Action of Essential Oil from the Leaves of *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. J Food Saf. 2015;35(2):1-10.

54 AENOR. Norma española UNE 166002. Gestión de la I+D+i: Requisitos del Sistema de Gestión de la I+D+i. 2006. p. 24. Disponible en: <https://bit.ly/2YmVC1A>.

55 González A, Gómez D. Guía Práctica InnoViTech. Rionegro, Antioquia; 2015.

56 Marulanda C, Hernández A, López M. Vigilancia tecnológica para estudiantes universitarios. El caso de la universidad nacional de Colombia, sede manizales. Form Univ. 2016;9(2):17–28.

57 Aguirre J, Cataño G, Roja M. Análisis prospectivo de oportunidades de negocios basados en vigilancia tecnológica. Puente. 2013;7(1):29–39. Disponible en: <http://bit.ly/2VKKTjU>.

58 León A, Castellanos O, Vargas F. Valoración, selección y pertinencia de herramientas de software utilizadas en vigilancia tecnológica. Rev Ing E Investig. 2006;26(1):92–102.

59 Varón C. Gestores bibliográficos: recomendaciones para su aprovechamiento en la academia. 2017. Disponible en: <http://bit.ly/2Q6fu56>.

60 Armstrong R, Hall B, Doyle J, Waters E. “Scoping the scope” of a cochrane review. J Public Health (Bangkok). 2011;33(1):147–50.

61 Díaz-Pérez M, de Moya-Anegón F. El análisis de patentes como estrategia para la toma de decisiones innovadoras. El Prof la Inf. 2008;17(3):293–302.

62 Organización Mundial de la Propiedad Intelectual. Las patentes: fuente de información. Ginebra; 2015. Disponible en: <https://bit.ly/2EIKsDA>.

63 Silva N, Fernandes A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2010;16(3):402–13

64 Vera A, Olivero J, Jaramillo B, Stashenko E. Efecto protector del aceite

esencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E.: Brown sobre la toxicidad del mercurocromo en raíces de *Allium cepa* L. Rev Cuba Plantas. 2010;15(1):27–37.

65 López M, Stashenko E, Fuentes J. Chemical composition and antigenotoxic properties of *Lippia alba* essential oils. Genet Mol Biol. 2011;34(3):479–88.

66 Neira L, Mantilla J, Stashenko E, Escobar P. Toxicidad, genotoxicidad y actividad anti-Leishmania de aceites esenciales obtenidos de cuatro (4) quimiotipos del género *Lippia*. Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat. 2018;17(1):68–83.

67 Olivero-Verbel J, Güette-Fernandez J, Stashenko E. Acute toxicity against *Artemia franciscana* of essential oils isolated from plants of the genus *Lippia* and *Piper* collected in Colombia. Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat. 2009;8(5):419–27.

68 Aular Y, Villamizar M, Pérez Y, Pérez V. Composición química y toxicidad aguda oral del aceite esencial de *Lippia alba* en ratones. Salus. 2016;20(1):43–51.

69 Olivero-Verbel J, Guerrero-Castilla A, Stashenko E. Toxicity of the essential oil of the cytral chemotype of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. Acta toxicol argent. 2010;18(1):21–7.

70 Meneses R, Ocazonez R, Martínez J, Stashenko E. Inhibitory effect of essential oils obtained from plants grown in Colombia on yellow fever virus replication in vitro. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2009;8(8):8.

71 Moreno É, Leal S, Stashenko E, García T. Induction of programmed cell death in *Trypanosoma cruzi* by *Lippia alba* essential oils and their major and synergistic terpenes (citral, limonene and caryophyllene oxide). BMC Complement Altern Med. 2018;18(1):225.

72 Zapata B, Betancur-Galvis L, Duran C, Stashenko E. Cytotoxic activity of Asteraceae and Verbenaceae family essential oils. J Essent Oil Res. 2013;26(1):50–7.

73 Gomide M, Lemos F, Lopes M, Alves T, Viccini L, Coelho C. The effect of the essential oils from five different *Lippia* species on the viability of tumor cell lines. Rev Bras Farmacogn. 2013;23(2013):895–902.

74 Viana G, Vale T, Silva C, Matos F. Anticonvulsant activity of essential oils and active principles from chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. Biol Pharm Bull. 2000;23(11):1314–7.

75 Blanco M, Colareda G, Baren C, Bandoni A, Ringuet J, Consolini A. Antispasmodic effects and composition of the essential oils from two South American chemotypes of *Lippia alba*. J Ethnopharmacol. 2013;149(3):803–9.

76 Sousa D, Sousa S, Silva R, Silva-Alves K, Ferreira-da-Silva F, Kerntopf M, et al. Essential oil of *Lippia alba* and its main constituent citral block the excitability of rat sciatic nerves. Brazilian J Med Biol Res. 2015;48(8):697–702.

77 Silva R, Morais L, Silva A, Bastos C, Pereira-Gonçalves Á, Kerntopf M, et al. Vasorelaxant effect of the *Lippia alba* essential oil and its major constituent, citral, on the contractility of isolated rat aorta. Biomed Pharmacother. 2018;108

78 Carvalho P, Macêdo C, Ribeiro T, Silva A, Silva R, Morais L, et al. Effect of the *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its main constituents, citral and limonene, on the tracheal smooth muscle of rats. Biotechnol Reports. 2018; 17:31-34.

79 Fauth S, Campos A, Silveira E, Rao V. Efeitos de óleos essenciais de plantas

no tempo de sono induzido por cetamina em camundongos. Rev bras Farm. 2002;12(supl.1):112–3.

80 Maynard L, Santos K, Cunha P, Barreto A, Peixoto M, Arrigoni-Blank F, et al. Chemical composition and vasorelaxant effect induced by the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. (Verbenaceae) in rat mesenteric artery. Indian J Pharmacol. 2011;43(6):694–8.

81 Hatano V, Torricelli A, Giassi A, Coslope L, Viana M. Anxiolytic effects of repeated treatment with an essential oil from *Lippia alba* and (R)-(-)-carvone in the elevated T-maze. Brazilian J Med Biol Res. 2012;45(3):238–43.

82 Junior G, Abreu M, Rosa J, Pinheiro C, Heinzmann B, Caron B, et al. *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* essential oils are anxiolytic without inducing aversiveness in fish. Aquaculture. 2018;482 (2018):49–56.

83 Sepúlveda-Arias J, Veloza L, Escobar L, Orozco L, Lopera I. Anti-inflammatory effects of the main constituents and epoxides derived from the essential oils obtained from *Tagetes lucida*, *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba* and *Eucalyptus citriodora*. J Essent Oil Res. 2013;25 (3):186–93.

84 Salbego J, Maia J, Toni C, Rodrigues A, Sousa E, Silva L, et al. Anesthesia and sedation of map treefrog (*Hypsiboas geographicus*) tadpoles with essential oils. Ciência Rural. 2017;47 (11):1–6.

85 Stashenko E, Jaramillo E, Martínez J. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. J Chromatogr A. 2004;1025 (1):93–103.

86 Silva L, de Carvalho J, Peixoto M, Blank A, Borges L, Costa Junior L, et al.

Assessment of the repellent effect of *Lippia alba* essential oil and major monoterpenes on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Med Vet Entomol.* 2016;30 (1):73–7.

87 Peixoto M, Costa-Júnior L, Blank A, Lima A, Menezes T, Santos D, et al. Acaricidal activity of essential oils from *Lippia alba* genotypes and its major components carvone, limonene, and citral against *Rhipicephalus microplus*. *Vet Parasitol.* 2015 May;210(1–2):118–22.

88 Chagas A, Oliveira M, Giglioti R, Santana R, Bizzo H, Gama P, et al. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016;7(3):427–32.

89 Caballero-Gallardo K, Olivero-Verbel J, Stashenko E. Repellent activity of essential oils and some of their individual constituents against *Tribolium castaneum* herbst. *J Agric Food Chem.* 2011;59(5):1690–6.

90 Peixoto M, Bacci L, Fitzgerald A, Araújo A, Alves P, Silva J, et al. Toxicity and repellency of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenes against stored grain insects. *Ind Crops Prod.* 2015;71(2015):31–6.

91 Castillo R, Stashenko E, Duque J. Insecticidal and Repellent Activity of Several Plant-Derived Essential Oils Against *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc.* 2017;33(1):25–35.

92 Vera S, Zambrano D, Méndez-Sánchez S, Rodríguez-Sanabria F, Stashenko E, Duque J. Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.* 2014;113(7):2647–54.

93 Muñoz J, Staschenko E, Ocampo C. Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Rev*

Colomb Entomol. 2014;40(2):198–202.

94 Ríos N, Stashenko E, Duque J. Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Rev Bras Entomol. 2017;61(4):307–11.

95 Aldana F, Cruz S. Larvicidal activity of essential oils of *Lippia alba* and *Lippia graveolens*, on *Aedes aegypti* L. Rev Cient. 2017;26(2):36–48.

96 Ocazonez R, Meneses R, Torres F, Stashenko E. Virucidal activity of Colombian *Lippia* essential oils on dengue virus replication in vitro. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2010;105(3):304–9.

97 Gomes I, Scher R, Brittes, Rocha L, Vilaca E, Cabral S, et al. Amebicidal activity of the essential oils of *Lippia spp.* (Verbenaceae) against *Acanthamoeba polyphaga* trophozoites. Parasitol Res. 2016;115(2):535–40.

98 Baldissera M, Freitas C, Mourão R, Silva L, Monteiro S. Trypanocidal action of *Lippia alba* and *Lippia organoides* essential oils against *Trypanosoma evansi* in vitro and in vivo used mice as experimental model. J Parasit Dis. 2017;41(2):345–51.

99 Moreira F, Santos C, Innecco R. Hatching and mortality of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* race 2 in essential plant oils. Rev Cienc Agron. 2009;40(3):441–8.

100 Juiz P, Lucchese A, Gambari R, Piva R, Penolazzi L, Di Ciano M, et al. Essential oils and isolated compounds from *Lippia alba* leaves and flowers: Antimicrobial activity and osteoclast apoptosis. Int J Mol Med. 2015;35(1):211–7.

101 Bersan S, Galvão L, Goes V, Sartoratto A, Figueira G, Rehder V, et al. Action

of essential oils from Brazilian native and exotic medicinal species on oral biofilms. BMC Complement Altern Med. 2014 Jan;14(1):1–12.

102 Pino J, Ortega A, Rosado A, Rodríguez M, Baluja R. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. Rev Cuba Farm. 1996;30(1):29–35.

103 Machado T, Nogueira N, Pereira R, de Sousa C, Batista V. The antimicrobial efficacy of *Lippia alba* essential oil and its interaction with food ingredients. Braz J Microbiol. 2014;45(2):699–705.

104 Costa D, Vermelho A, Almeida C, Dias E, Cedrola S, Arrigoni-Blank M et al., Inhibitory effect of linalool-rich essential oil from *Lippia alba* on the peptidase and keratinase activities of dermatophytes. J Enzyme Inhib Med Chem. 2014;29(1):12–7.

105 Tangarife-Castaño V, Roa-Linares V, Betancur-Galvis L, Durán García D, Stashenko E, Mesa-Arango A, et al. Antifungal activity of Verbenaceae and Labiatae families essential oils. Pharmacologyonline. 2012;1(SPL. 1):133–45.

106 Mena-Rodríguez E, Ortega-Cuadros M, Merini L, Melo-ríos AE, Tofiño-rivera A. Efecto de agroinsumos y aceites esenciales en el suelo de hortalizas en el Caribe colombiano. Corpoica Cienc y Tecnol Agropecu. 2018;19(1):103–24.

107 Anaruma N, Schmidt F, Duarte M, Figueira G, Delarmelina C, Benato E, et al. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Sacc. In yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. Brazilian J Microbiol. 2010;41(1):66–73.

108 Souza P, Goulart F, Marques J, Bizzo H, Blank A, Groposo C, et al. Growth Inhibition of Sulfate-Reducing Bacteria in Produced Water from the Petroleum Industry Using Essential Oils. Molecules. 2017;22(4):1–10.

- 109 Souza R, Costa M, Baldisserotto B, Heinzmann B, Schmidt D, Caron B, et al. Antimicrobial and synergistic activity of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Lippia alba* against *Aeromonas* spp. *Microb Pathog*. 2017;113(2017):29–33.
- 110 Majolo C, Rocha S, Chagas E, Chaves F, Bizzo H. Chemical composition of *Lippia* spp. essential oil and antimicrobial activity against *Aeromonas hydrophila*. *Aquac Res*. 2017;48(5):1–8.
- 111 Sutili F, Cunha M, Ziech R, Krewer C, Zeppenfeld C, Heldwein C, et al. *Lippia alba* essential oil promotes survival of silver catfish (*Rhamdia quelen*) infected with *Aeromonas* sp. *An Acad Bras Cienc*. 2015;87(1):95–100.
- 112 Mesa-Arango A, Betancur-Galvis L, Montiel J, Bueno J, Baena A, Durán D, et al. Antifungal activity and chemical composition of the essential oils of *Lippia alba* (Miller) n.e brown grown in different regions of colombia. *J Essent Oil Res*. 2010;22(6):568–74.
- 113 Santos N, Pascon R, Vallim M, Figueiredo C, Soares M, Lago J, et al. Cytotoxic and Antimicrobial Constituents from the Essential Oil of *Lippia alba* (Verbenaceae). *Med (Basel, Switzerland)*. 2016;3(3):2–9.
- 114 Mesa-Arango A, Montiel-Ramos J, Zapata B, Durán C, Betancur-Galvis L, Stashenko E. Citral and carvone chemotypes from the essential oils of Colombian *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009 Sep;104(6):878–84.
- 115 Glamočlija J, Soković M, Tešević V, Linde G, Colauto N. Chemical characterization of *Lippia alba* essential oil: an alternative to control green molds. *Brazilian J Microbiol*. 2011;42(4):1537–46.

116 Porfírio E, Melo H, Matheus A, Pereira G, Thays T, Cavalcante A, et al. In Vitro Antibacterial and Antibiofilm Activity of *Lippia alba* Essential Oil, Citral, and Carvone against *Staphylococcus aureus*. Sci World J. 2017; 2017:1-7

117 Duarte M, Leme E, Delarmelina C, Soares A, Figueira G, Sartoratto A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. J Ethnopharmacol. 2007;111(2):197–201.

118 Duarte M, Figueira G, Sartoratto A, Rehder V, Delarmelina C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2005;97(2):305–11.

119 Shukla R, Kumar A, Singh P, Dubey N. Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. Int J Food Microbiol. 2009;135(2):165–70.

120 Cunha M, Silva B, Delunardo F, Benovit S, Gomes L, Heinzmann B, et al. Anesthetic induction and recovery of *Hippocampus reidi* exposed to the essential oil of *Lippia alba*. Neotrop Ichthyol. 2011;9(3):683–8.

121 Simões L, Campos L, Heinzmann B, Loro V, Carvalho L, Silva D, et al. Essential oil of *Lippia alba* as a sedative and anesthetic for the sea urchin *Echinometra lucunter* (Linnaeus, 1758). Mar Freshw Behav Physiol. 2017;50(3):205–17.

122 Parodi T, Cunha M, Heldwein C, De Souza D, Martins A, Garcia L, et al. The anesthetic efficacy of eugenol and the essential oils of *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* in post-larvae and sub-adults of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae). Comp Biochem Physiol - C Toxicol Pharmacol. 2012;155(3):462–8.

123 Sena A, Teixeira R, Ferreira E, Heinzmann B, Baldisserotto B, Caron B, et al. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in

reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). *Aquaculture*. 2016;465(2016):374–9.

124 Hohlenwerger J, Baldisserotto B, Couto R, Heinzmann B, da Silva D, Caron B, et al. Essential oil of *Lippia alba* in the transport of *Nile tilapia* | Óleo essencial de *Lippia alba* no transporte de tilápia-do-Nilo. *Cienc Rural*. 2017;47(3):1–4.

125 Cunha M, de Barros F, de Oliveira G, de Lima A, Heinzmann B, Loro L, et al. Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*. 2010;306(1–4):403–6.

126 Salbego J, Toni C, Becker A, Zeppenfeld C, Menezes C, Loro V, et al. Biochemical parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transport with eugenol or essential oil of *Lippia alba* added to the water. *Brazilian J Biol*. 2017;77(4):696–702. A.

127 Lima A, Daniel A, Klein B, Quatrin A, de Souza Rezer A, Milani L, et al. Chemical, microbiological, and sensory parameters during the refrigerated storage of silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed in vivo to the essential oil of *Lippia alba*. *J Food Sci Technol*. 2018;55(4):1416–25.

128 Santos E, Brandão F, Majolo C, Inoue L, Maciel P, de Oliveira M, et al. *Lippia alba* essential oil as anesthetic for tambaqui. *Aquaculture*. 2018;495(2018):545–9.

129 Toni C, Becker A, Simões L, Pinheiro C, de Lima L, Heinzmann B, et al. Fish anesthesia: Effects of the essential oils of *Hesperozygis ringens* and *Lippia alba* on the biochemistry and physiology of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiol Biochem*. 2014;40(3):701–14.

130 Veit J, Piccolo J, Scherer A, Machado I, Peres M, Schwerz J, et al. Stability of frozen fillets from silver catfish anesthetized with essential oil of *Lippia alba* prior to electrical stunning or hypothermia. *J Food Process Preserv.* 2017;41(5):1–10.

131 Cárdenas C, Toni C, Martos-Sitcha J, Cárdenas S, de las Heras V, Baldisserotto B, et al. Effects of clove oil, essential oil of *Lippia alba* and 2-phe anaesthesia on juvenile meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). *J Appl Ichthyol.* 2016;32(4):693–700.

132 Almeida A, Heinzmann B, Val A, Baldisserotto B. Essential oils and eugenol as anesthetics for serrasalmus rhombeus. *Bol do Inst Pesca.* 2018;44(1):44–50.

133 Toni C, Martos-Sitcha J, Baldisserotto B, Heinzmann B, Lima L, Martínez-Rodríguez G, et al. Sedative effect of 2-phenoxyethanol and essential oil of *Lippia alba* on stress response in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Res Vet Sci.* 2015; 103:20–7.

134 Azambuja C, Mattiazzi J, Riffel A, Finamor I, Garcia L, Heldwein C, et al. Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. *Aquaculture.* 2011;319(1–2):156–61.

135 Veeck A, Klein B, Ferreira L, Becker A, Heldwein C, Heinzmann B, et al. Lipid stability during the frozen storage of fillets from silver catfish exposed in vivo to the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown. *J Sci Food Agric.* 2013;93(4):955–60.

136 Salbego J, Becker A, Gonçalves J, Menezes C, Heldwein C, Spanevello R, et al. The essential oil from *Lippia alba* induces biochemical stress in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transportation. *Neotrop ichthyol.* 2014;12(4):811–

137 Soares B, Neves L, Oliveira M, Chaves F, Dias M, Chagas E, et al.

Antiparasitic activity of the essential oil of *Lippia alba* on ectoparasites of *Colossoma macropomum* (tambaqui) and its physiological and histopathological effects. *Aquaculture*. 2016;452(2016):107–14.

138 Souza C, Lima T, Baldissera M, Geihs M, Maciel F, Nery L, et al. Nanoencapsulated *Melaleuca alternifolia* essential oil exerts anesthetic effects in the brachyuran crab using *Neohelice granulata*. *An Acad Bras Cienc*. 2018;90(3):2855–64.

139 Rodrigues-Soares J, Jesus G, Gonçalves E, Moraes K, Chagas E, Chaves F, et al. Induced aerocystitis and hemato-immunological parameters in Nile tilapia fed supplemented diet with essential oil of *Lippia alba*. *Brazilian J Vet Res Anim Sci*. 2018;55(1):1–12.

140 FAO- MinAgricultura. Política integral para el desarrollo de la pesca sostenible en Colombia. Colombia; 2015. Disponible en: <http://bit.ly/2w3zkF3>

141 MinSalud Lineamiento para la conformación y operación de los equipos funcionales del programa de promoción, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vectores. Bogotá, Colombia; 2017. Disponible en: <http://bit.ly/30qTjeR>.

ANEXOS

ANEXO A: Listado de plantas medicinales aceptadas con fines terapéuticos

ANEXO B: Registro en el vademecum colombiano de plantas medicinales de Pronto alivio, Menta y Yerbabuena

ANEXO C: Objetos de estudio y sectores de aplicación

ANEXO D: Objeto de estudio, técnica de evaluación y técnica de extracción

ANEXO E: Componentes mayoritarios respecto al objeto de estudio y efecto evaluado

ANEXO A: Listado de plantas medicinales aceptadas con fines terapéuticos

	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO	DROGA	USO APROBADO	CONTRAINDICACIONES Y ADVERTENCIAS	PREPARACIONES ARMACÉUTICAS	CONDICIÓN DE VENTA DE LAS PREPARACIONES FARMACÉUTICAS
85	Menta	<i>Mentha piperita</i> var. <i>citrata</i> (Ehrh.) Briq.	Tallos y hojas	Antiespasmódico y carminativo.	Hipersensibilidad a los componentes de la planta Embarazo y lactancia. Niños menores de tres años.	ACEITE: Aceite de menta (aceite esencial de <i>Mentha piperitae</i> L.) estandarizado con un contenido de Mentol entre el 35 y 55%, Mentona 16-22% y Metilacetato entre el 6-7%. (Acta 29 de 2000).	Venta libre
139	Yerbabuena	<i>Mentha spicata</i> L.	Tallos y hojas	Antiflatulento Coadyuvante en el tratamiento sintomático de trastornos digestivos	Hipersensibilidad a los componentes de la planta Embarazo y lactancia. Menores de 12 años. El Aceite esencial esta contraindicado en pacientes con gastritis, úlceras gastroduodenales, síndrome del intestine irritable, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn		

**ANEXO A
(CONTINUACIÓN)**

	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	DROGA	USO APROBADO	CONTRAINDICACIONES Y ADVERTENCIAS	PREPARACIONES FARMACÉUTICAS	CONDICIÓN DE VENTA DE LAS PREPARACIONES FARMACÉUTICAS
88	Oregano	<i>Origanum vulgare L.</i>	Hojas y sumidades floridas	Coadyuvante en el tratamiento de procesos inflamatorios y en el tratamiento de trastornos spastics del tracto gastrointestinal. Carminative.	Hipersensibilidad a los componentes de la planta Embarazo y lactancia.	CÁPSULA: Orégano 250 mg (Acta 09 de 2003). SOLUCIÓN ORAL: Cada ml contiene: Hojas y flores de (<i>Origanum vulgare</i>) 0.2 en alcohol al 36% (Acta 14 de 2009).	Venta libre
100	Pronto alivio (via tópica)	<i>Lippia alba</i> (Mill) N.F. Br ex Britton & P. Wilson	Partes aéreas.	Antiséptico de uso externo.	Hipersensibilidad a los componentes de la planta. Embarazo y lactancia		Venta libre
101	Pronto alivio (via oral)	<i>Lippia alba</i> (Mill) N.F. Br ex Britton & P. Wilson	Partes aéreas.	Sedante, coadyuvante en el tratamiento de la ansiedad de origen nervioso.	Hipersensibilidad a los componentes de la planta. Embarazo y lactancia. Menores de tres años. Personas que requieran ánimo vigilante		Venta libre

**ANEXO A
(CONTINUACIÓN)**

	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	DROGA	USO APROBADO	CONTRAINDICACIONES Y ADVERTENCIAS	PREPARACIONES FARMACÉUTICAS	CONDICIÓN DE VENTA DE LAS PREPARACIONES FARMACÉUTICAS
88	Oregano	<i>Origanum vulgare</i> L.	Hojas y sumidades floridas	Coadyuvante en el tratamiento de procesos inflamatorios y en el tratamiento de trastornos espásticos del tracto gastrointestinal. Carminative.	Hipersensibilidad a los componentes de la planta Embarazo y lactancia.	CÁPSULA: Orégano 250 mg (Acta 09 de 2003). SOLUCIÓN ORAL: Cada ml contiene: Hojas y flores de (<i>Origanum vulgare</i>) 0.2 en alcohol al 36% (Acta 14 de 2009).	Venta libre
100	Pronto alivio (via tópica)	<i>Lippia alba</i> (Mill) N.F. Br ex Britton & P. Wilson	Partes aéreas.	Antiséptico de uso externo.	Hipersensibilidad a los componentes de la planta. Embarazo y lactancia		Venta libre
101	Pronto alivio (via oral)	<i>Lippia alba</i> (Mill) N.F. Br ex Britton & P. Wilson	Partes aéreas.	Sedante, coadyuvante en el tratamiento de la ansiedad de origen nervioso.	Hipersensibilidad a los componentes de la planta. Embarazo y lactancia. Menores de tres años. Personas que requieran ánimo vigilante		Venta libre

Fuente: INVIMA 2015

ANEXO B: Registro en el vademecum colombiano de plantas medicinales de Pronto alivio, Menta y Yerbabuena

Registro Pronto alivio



Nombre científicos: *Lippia alba* (Mill) N.E.Br.

Sinónimos: *Lantana alba* Mill., *Lantana geminata* (Kunth) Spreng., *Lippia geminata*

Kunth, *Lippia geminata* var. *microphylla* Griseb., *Lippia globiflora* var. *geminata* (Kunth) Kuntze, (Missouri Botanical Garden, 2007).

Nombres comunes: Falsa melissa, pronto alivio, quita dolor, menta americana, poleo, salvia americana, toronjil de España, toronjil isleño, toronjil mentol, hierba del negro, mirto, orozul, salva-brava, cidrila, orozul de menta, orozul de palo, salvavida, cidrela, malojillo extranjero, curalotodo.

Parte utilizada: Partes aéreas

Usos tradicionales.

Se emplea como sedante, digestivo, febrífugo, carminativo, espasmolítico, emenagogo, sudorífico, analgésico y expectorante. Las hojas son útiles en el tratamiento de diarrea, cólicos y dolores en general, gripe, tos, disentería, cólicos hepáticos y diversas afecciones estomacales. Por vía externa se utiliza en compresas para el tratamiento de hemorroides y como febrífugo y cicatrizante (Pascual M. y col., 2001; Holetz F. y col., 2002; Zétola M. y col., 2002; Stashenko E. y col., 2004; Luize P. y col., 2005; Oliveira D. y col., 2006).

Principales constituyentes.

Contiene alcaloides, flavonoides, taninos e iridoides. Por estudios efectuados con el aceite esencial de las hojas es posible distinguir en esta especie tres quimiotipos citralmirceno, citral-limoneno y carvona-limoneno. En las hojas se han encontrado alcaloides, flavonoides, aceite esencial (geranial, cariofileno, citronelal y otros terpenos) (Gupta M., 1995; Martins E. y col., 2000; Lorenzi H. y col., 2002; Gazola R. y col., 2004; Andrighetti-Frohner C. y col., 2005).

Actividad farmacológica.

La infusión de hojas administrada vía oral a ratas, en dosis de 12.5g de planta seca/Kg de peso, disminuye significativamente el índice de ulceración gástrica (Pascual M. y col., 2001). El extracto hidroalcohólico presentó actividad antimicrobiana (Holetz F. y col., 2002) y buen potencial como captador de radicales libres (Ramos A. y col., 2003).

Indicaciones.

Uso interno: Sedante, ansiolítico.

Uso externo: Antiséptico.

Posología.

Modo de empleo: Oral.

Decocción (30-50g de las partes aéreas en un litro de agua): 1-3 tazas al día.

Infusión: (30 g de las partes aéreas en medio litro de agua) : 4-6 tazas al día.

Modo de empleo: Tópico

Decocción de 30-50 g de hojas por litro de agua: aplicar 1-3 veces al día.

Contraindicaciones y precauciones.

No se conocen para uso externo.

Toxicidad.

La DL50 del extracto alcohólico, por vía intraperitoneal, es de aproximadamente 1g/Kg de peso.

Formas farmacéuticas y otras preparaciones.

Decocción e infusión de las hojas de la planta.

Registro Menta



Nombre científicos: *Mentha piperita var. citrata*.

Sinónimos: *Mentha aquatica var. Glabra* Benth., *Mentha x piperita var. Citrata* (Missouri Botanical Garden, 2007).

Nombres comunes: Menta.

Parte utilizada: Hojas.

Usos tradicionales.

La planta es empleada como carminativo y antiflatulento, para el tratamiento del dolor de estómago, náuseas, fiebre y dolor de cabeza. Las hojas y las flores se usan como antiespasmódico, diaforético y estomáquico (Lagarto A. y col., 1999).

Principales constituyentes.

La planta contiene β -pineno, linalool, acetato de linalool, mentol, mentona, carbona e isocamfona (Lincoln D. y col., 1986; Kumar P. y col., 1996; Crowell A. y col., 2002).

Actividad farmacológica.

No se encuentran estudios para *Mentha piperita var. citrata*.

Indicaciones.

Uso interno: Antiespasmódico, antiflatulento

Posología.

Modo de empleo: Oral

Tintura (1:5 en alcohol de 45%): 2-3 mL tres veces al día.

Contraindicaciones y precauciones.

Las preparaciones de menta deben estar libres de tujona, cetona terpénica aromática que se encuentra en muchos aceites esenciales. Su ingestión puede producir convulsiones. Las inhalaciones pueden producir irritación y broncoespasmo. No debe ser administrada a mujeres embarazadas.

Toxicidad.

El extracto etanólico de la planta tiene una DL50 oral en ratas de 715.73 mg/Kg, con síntomas de toxicidad como respiración acelerada y convulsiones previas a la muerte. (Lagarto A. y col., 1999).

Formas farmacéuticas y otras preparaciones.

Tintura 1:5 en alcohol de 45%. Aceite esencial.

Bibliografía.

- Crowell A., Williams D., Davis E., Wildung M., Croteau R., (2002), Molecular cloning and characterization of a new linalool synthase, *Archiv. Biochem. Biophysics*, **405**(1), 112-121.
- Kumar P., Haseeb A., (1996), Effectiveness of some nematicides and oil cakes in the management of *Pratylenchus thornei* on *Mentha citrata*, *M. piperita*, *M. spicata*,
- Lagarto A., Tillán J., Vega R., Cabrera Y., (1999), Toxicidad aguda oral de extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales, *Rev. Cubana Plant. Med.*, **4**(1), 26-28
- Lincoln D., Murray M., Lawrence B., (1986), Chemical composition and genetic basis for the isopinocampone chemotype of *Mentha citrata* hybrids, *Phytochemistry*, **25**(8), 1857-1863.
- Missouri Botanical Garden, (10-2007), [Http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast](http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast)
- www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/Forms/DispForm.aspx?ID=14336

Registro de Yerbabuena

Nombre científicos: *Mentha piperita* L.

Sinónimos: Ninguno. (Missouri Botanical Garden, 2007)

Nombres comunes: Menta, hierbabuena de menta, piperita.

Parte utilizada: Tallos y hojas.

Usos tradicionales.

La infusión de las hojas se usa por vía oral para tratar afecciones gastrointestinales (atonía del estómago e intestino, dolor de estómago, flatulencia, indigestión, náuseas), respiratorias (resfrío, tos) y nerviosas (insomnio, nerviosismo, tensión, vértigo), así como fiebre, dolor de cabeza y migraña. Tópicamente se aplica en inhalaciones para resfríos, infecciones de la garganta y heridas y en cataplasmas para el prurito de la piel. El aceite esencial se usa en inhalaciones para reducir la fiebre, aliviar las náuseas y el vómito, mejorar la digestión y suavizar el sistema respiratorio (Roig J., 1988; Cáceres A., 1996; Krapp K. y col., 2005).

Principales constituyentes.

Las hojas contienen flavonoides (apigenol, luteol), monoterpenos (mentol, mentona), diterpenos, ácidos fenólicos, triterpenos y taninos, aminoácidos libres (arginina, glicina, alanina, asparagina, triptofano). El aceite esencial contiene mentol y sus ésteres, mentona, cineol, limoneno, pulegona y carvona (Cáceres A., 1996; Cañigual E. y col., 1998; Longwood Herbal, 2007).

Actividad farmacológica.

Cápsulas de la planta, administradas a niños con síntomas de síndrome de colon irritable, presentaron disminución significativa de los síntomas, sin efecto adverso alguno (Sadgduyu K., 2002). Estudios realizados en ratas con tintura de la planta administrada por vía intragástrica evidenciaron actividad antidiarreica (De La Paz N. y col., 2004). La decocción de las hojas de la planta mostró actividad frente a la lombriz terrestre del género rojo California (De La Paz N. y col., 2006). Estudios en cobayos y en humanos produjeron reducción en la frecuencia de la tos. En pacientes sometidos a colonoscopia, la administración del aceite esencial disminuyó los espasmos de colon. (Longwood Herbal, 2007).

Indicaciones.

Uso interno: Antiflatulento, coadyuvante en el tratamiento sintomático de trastornos digestivos.

Posología.

Modo de empleo: Oral

Aceite esencial: 2-9 gotas/día

Extracto seco (5:1): 0.3-1g/día

Extracto fluido (1:1): 15-30 gotas cada 8 horas

Tintura (1:5): 50 gotas cada 8-24 horas.

Infusión: 2-3 tazas diarias ..v **Contraindicaciones y precauciones.**

Se han descrito reacciones alérgicas, dermatitis, latidos cardíacos lentos y temblores musculares; dosis altas pueden causar daño renal (Krapp K., 2005). Niños menores de dos años. Embarazo y lactancia. El mentol induce cambios hepatocelulares en ratas; su inhalación puede causar apnea y laringoconstricción en pacientes susceptibles (Longwood Herbal, 2007).

Interacción con otros medicamentos

Antiácidos y medicamentos que reducen el pH del estómago, como inhibidores de bomba de protones (Krapp K., 2005)

Toxicidad.

El aceite de yerbabuena es tóxico si se ingiere. La DL50 del aceite, por vía intraperitoneal, es de 820mg/Kg. La mentona, a dosis altas, puede causar convulsiones (Germosén-Robineau L., 1995). La pulegona, un compuesto tóxico presente en la menta, administrada a ratas en dosis de 80 y 160mg/día por 28 días, causó atonía, pérdida de peso, disminución de creatinina en sangre y cambios histopatológicos en el hígado y en la materia blanca del cerebelo.

Formas farmacéuticas y otras preparaciones.

Aceite esencial. Extracto seco de las hojas. Extracto fluido. Tintura 1:5. Infusión.

Bibliografía.

- Cáceres A., (1996), Plantas de uso Medicinal en Guatemala, Editorial Universitaria, Universidad de San Carlos de Guatemala, pp. 265-267.
- Cañigueral S., Vila R., Wichtl M., (1998), Plantas Medicinales y Drogas Vegetales Para Infusión y Tisana. Un Manual de Base Científica Para Farmacéuticos y Médicos, Editorial OEMF International, Milán, Italia. pp. 354-357.
- De la Paz N. J., Corral S.A., Martínez R.C., Martínez M.S., (2004), Efecto antidiarreico de la tintura al 20% de *Mentha piperita* L. en ratas, *Revista Cubana de Farmacología*, **38**(2) (11-2007). <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v38n2/far09204.pdf>
- De la Paz N, J. Maceira M, A. Corral S, A. González C., (2006), Actividad antiparasitaria de una decocción de *Mentha piperita* L., *Revista Cubana de Medicina Militar*, **35**(3) (11-2007). http://www.bvs.sld.cu/revistas/mil/vol35_3_06/mil13306.pdf
- Germosén-Robineau L., (1995), Hacia una Farmacopea Caribeña. Investigación Científica y Uso Popular de Plantas Medicinales en el Caribe, Edición TRAMIL 7, Santo Domingo, República Dominicana. pp. 370-373.
- Krapp K., Longe J., (2005), Enciclopedia de las Medicinas Alternativas. Editorial Océano, Barcelona, pp. 1017-1021.
- Longwood Herbal Task Force, (11-2007). <http://www.mcp.edu/herbal/default.htm>
- Missouri Botanical Garden (11-2007). http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast
- Roig J., (1988), Plantas Medicinales Aromáticas o Venenosas de Cuba. A-L, M-Z. Editorial Científico-Técnica, La Habana, pp. 945-946.
- Sagduyu, K., (2002), Peppermint oil for irritable bowel syndrome, *Psychosomatics*, **43**(6), 508-509.
- www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/Forms/DispForm.aspx?ID=14336

ANEXO C: Objetos de estudio y sectores de aplicación

Anexo C: Objetos de estudio y sectores de aplicación								
MICROORGANISMOS /AREA DE APLICACIÓN	BIOMEDICA	INDUSTRIAL	ALIMENTOS	ETNOFARMACOLOGICA	COSMETICA	FRECUENCIA TOTAL		
BACTERIAS	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	1	<i>Aeromona hydrophila</i>	1	<i>Pseudomonas putida</i>	1	<i>Propionibacterium acnes</i>	1
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	<i>Aeromonas sp.</i>	3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	<i>Staphylococcus epidermidis.</i>	1
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	1	<i>Geotoga petraea</i>	1			<i>Staphylococcus aureus</i>	1
	<i>Bacillus cereus</i>	1	<i>Marinobacterium sp.</i>	1				
	<i>Bacillus subtilis</i>	2	<i>Pelobacter sp</i>	1				
	<i>Bacteroides fragilis</i>	1						
	<i>Chromobacterium violaceum</i>	1						
	<i>Cryptococcus gattii</i>	1						
	<i>Cryptococcus grubii</i>	1						
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1						
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1						
	<i>Enterococcus faecalis</i>	1						
	<i>Escherichia coli</i>	9						
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1						
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1						
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1						
	<i>Lactobacillus casei</i>	1						
	<i>Listeria innocua</i>	1						
	<i>Listeria monocytogenes</i>	1						
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1						
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2						
	<i>Proteus mirabilis</i>	1						
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6						
	<i>Pseudomonas sp</i>	2						
	<i>Salmonella choleraesuis</i>	1						
	<i>Serratia marcescens</i>	2						
	<i>Staphylococcus aureus</i>	8						
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2						
<i>Staphylococcus intermedia</i>	2							
<i>Streptococcus faecalis</i>	1							
<i>Streptococcus mitis</i>	1							
<i>Streptococcus mutans</i>	3							
<i>Streptococcus sanguis</i>	1							
HONGOS	<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	<i>Aspergillus flavus</i>	2	<i>Alternaria alternata</i>	1		
	<i>Aspergillus niger</i>	1	<i>Alternaria solani</i>	1	<i>Aspergillus flavus</i>	2		
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	1	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	<i>Aspergillus niger</i>	1		
	<i>Aspergillus versicolor</i>	1	<i>Candida krusei</i>	2	<i>Aspergillus Spp</i>	1		
	<i>Candida albicans</i>	5	<i>Candida parapsilosis</i>	2	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1		
	<i>Candida dubliniensis</i>	1	<i>Colletotrichum falcatum</i>	1	<i>Erwinia herbicola</i>	1		
	<i>Candida glabrata</i>	1	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	2	<i>Fusarium oxysporum</i>	1		
	<i>Candida krusei</i>	1	<i>Curvularia lunata</i>	1	<i>Fusarium spp</i>	1		
	<i>Candida parapsilosis</i>	1	<i>Desulfoplanae alaskensis</i>	1	<i>Penicillium italicum</i>	1		
	<i>Candida tropicalis</i>	1	<i>Desulfoplanae formicivorans</i>	1	<i>Penicillium spp</i>	1		
	<i>Epidermophyton floccosum</i>	1	<i>Helminthosporium sp</i>	1	<i>Rhizopus spp</i>	1		
	<i>Fusarium oxysporum</i>	1	<i>Macrophomina phaseolina</i>	1	<i>Rhizopus stolonifer</i>	1		
	<i>Microsporium gypseum</i>	1	<i>Monilophthora roreri</i>	1				
	<i>Penicillium funiculosum</i>	1	<i>Phytophthora capsici</i>	1				
	<i>Penicillium ochrochloron</i>	1	<i>Pleurotus ostreatus</i>	1				
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	<i>Ustilago scitaminea</i>	1				
	<i>Trichoderma viride</i>	1						
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	2						
	<i>Trichophyton rubrum</i>	2						

Anexo C: Objetos de estudio y sectores de aplicación (CONTINUACIÓN)								
MICROORGANISMOS /ÁREA DE APLICACIÓN	BIOMEDICA	INDUSTRIAL	ALIMENTOS	ETNOFARMACOLOGICA	COSMETICA	FRECUENCIA TOTAL		
PROTOZOOS	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	1	<i>Meloidogyne</i>	1				
	<i>Leishmania braziliensis</i>	1	<i>Meloidogyne incognita</i>	1				
	<i>Leishmania chagasi</i>	2	<i>Rhipicephalus microplus</i>	3				
	<i>Leishmania spp</i>	1	<i>Vernonia sp</i>	1				
	<i>Trypanosoma cruzi</i>	2						
	<i>Trypanosoma evansi</i>	1						
VIRUS	Herpesvirus Humano	2						
	Virus de la fiebre amarilla	1						
	Virus del dengue (DENV)	2						
LINEAS CELULARES	Jurkat	1						
	Células fagocíticas	1						
	HeLa	2						
	HepG2	1						
	THP-1	1						
	Vero (Mamíferos)	2						
ORGANISMOS	<i>Aedes aegypti</i>	4	<i>Argyrosomus regius</i>	1	<i>Rhardia quelen</i>	5	<i>Wistar rattus</i>	2
		1	<i>Callosobruchus maculatus</i>	1	<i>Allium cepa</i>	1	<i>Lippia alba</i>	1
	Camarones en general	1	<i>Colossoma macropomum</i>	3	<i>Callosobruchus chinensis</i>	1		
		1	<i>Culex quinquefasciatus</i>	1	<i>Echinometra lucunter</i>	1		
	<i>Aloystia triphylla</i>	1	<i>Hippocampus reidi</i>	1	<i>Oreochromis niloticus</i>	1		
		1	<i>Hypsiobaas geographicus</i>	1	<i>Sitophilus zeamais</i>	1		
	<i>Artemia franciscana</i>	1	<i>Litopenaeus vannamei</i>	1	<i>Tribolium castaneum</i>	2		
		1	<i>Mus musculus</i>	1	<i>Wistar rattus</i>	2		
	<i>Neohelice granulata</i>	1	<i>Nasutitermes corniger</i>	1				
		1	<i>Oreochromis niloticus</i>	3				
	<i>Wistar rattus</i>	10	<i>Rhardia quelen</i>	8				
		1	<i>Serrasalmus rombeus</i>	1				
		1	<i>Sparus aurata</i>	1				
		1	<i>Spodoptera frugiperda</i>	1				

ANEXO D: Objeto de estudio, técnica de evaluación y técnica de extracción

Anexo D: Objeto de estudio, técnica de evaluación y técnica de extracción							
TECNICA DE EVALUACIÓN	TECNICA DE EXTRACCIÓN	OBJETOS DE ESTUDIO					
		BACTERIAS	HONGOS	PROTOZOOS	VIRUS	LINEAS CELULARES	ORGANISMOS
Difusión	H	<i>Erwinia herbicola</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> (2) <i>Lactobacillus casei</i> <i>Staphylococcus intermedia</i> <i>Streptococcus mutans</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2) <i>Bacillus cereus</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Alternaria solani</i> <i>Candida albican</i> <i>Fusarium spp</i> <i>Rhizopus spp</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium spp</i>	<i>Acanthamoeba polyphaga</i> <i>Leishmania braziliensis.</i>	NP	NP	NP
	HAM	<i>Chromobacterium violaceum</i> (2) <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Monilophthora roleri</i> <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Leishmania braziliensis.</i>	NP	NP	NP
	DAV	NP	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida krusei</i> <i>Aspergillus fumigatu</i>	<i>Leishmania braziliensis.</i>	NP	NP	NP
	N.E	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Dilución	H	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Enterobacter aerogenes,</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Aeromonas sp</i>	<i>Aspergillus Spp</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Penicillium italicum</i> <i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	NP	Virus del dengue (DENV)	NP	<i>Hippocampus reidi</i> <i>Mus musculus</i> <i>Argyrosomus regius</i> <i>Aloysia triphylla</i> <i>Collossoma macropomum</i> (2) <i>Litopenaeus vannamei</i> <i>Echinomtra lucunter</i> <i>Oreochromis niloticus</i> (4) <i>Rhamdia quelen</i> (6) <i>Sparus aurata</i> <i>Hypsiboas geographicus</i> <i>Serrasalmus rambeus</i>
	HAM	NP	<i>Fusarium oxysporum, Trichophyton rubrum</i> T. <i>mentagrophytes</i>	<i>Leishmania chagasi</i> <i>Trypanosoma cruzi</i>	Virus de la fiebre amarilla (YFV)	Líneas celulares Jurkat, HeLa, HepG2 y Vero, (3) THP-1 Macrófagos murinos	<i>Artemia franciscana</i> <i>Aedes aegypti</i> (3) Ratones Camarones
	DAV	<i>Aeromonas sp.</i>	NP	NP	NP	NP	<i>Rhamdia quelen</i> (3)
	N.E	NP	NP	leishmania spp	NP	NP	<i>Allium cepa</i> <i>Rhamdia quelen</i> (2) <i>Neohelice granulata</i> Ratones
Microdilución	H	<i>Aeromonas sp.</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas sp</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (2) <i>Aeromona hydrophila</i> <i>Pelobacter sp</i> <i>Geotago petraea</i> <i>Desulfoplanes formicivorans</i> <i>Marinobacterium sp.</i> <i>D. alaskensis</i> <i>Listeria innocua</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella choleraesuis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Spergillus ochraceus</i> <i>Aspergillus versicolor</i> <i>A. niger</i> <i>A. fumigatus</i> <i>Penicillium ochrocloron</i> <i>Penicillium funiculosum</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>C. krusei</i> <i>C. parasilopsis</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>A. flavus</i> <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	NP	NP	NP	NP
	HAM	<i>Propionibacteriumacnes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	NP	NP	NP	NP	NP
	DAV	<i>Propionibacterium acnes</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> (2) <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus mutans</i> <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Propionibacteriumacnes,</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (2) <i>Streptococcus sanguis</i> <i>Streptococcus mitis</i> <i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Candida albicans</i> (2)	NP	NP	NP	NP
	N.E	NP	NP	NP	NP	NP	NP

Anexo D: Objeto de estudio, tecnica de evaluación y tecnica de extracción (CONTINUACIÓN)							
TECNICA DE EVALUACIÓN	TECNICA DE EXTRACCIÓN	OBJETOS DE ESTUDIO					
		BACTERIAS	HONGOS	PROTOZOOS	VIRUS	LINEAS CELULARES	ORGANISMOS
Tópico	H	NP	NP	<i>Helminthosporium sp</i>	NP	NP	Ratones <i>Nasutitermes corniger</i> <i>Spodoptera frugiperda</i>
	HAM	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	DAV	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	N.E	NP	NP	NP	NP	NP	Ratas Wistar rattus (2)
Inyección	H	NP	NP	NP	NP	NP	Ratas Wistar rattu s
	HAM	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	DAV	NP	NP	NP	NP	NP	Ratas Wistar macho (2)
	N.E	NP	NP	NP	NP	NP	<i>Culex quinquefasciatus</i>
Impregnación	H	NP	NP	<i>Rhipicephalus microplus</i> (NP	NP	<i>Sitophilus zeamais</i> y <i>Tribolium castaneum</i>
	HAM	NP	NP	<i>Trypanosoma cruzi</i>	NP	NP	NP
	DAV	NP	NP	<i>Meloidogyne incognita</i>	NP	NP	NP
	N.E	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Fumigante	H	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Ustilago scitaminea</i> , <i>Colletotrichum falcatum</i> , <i>Curvularia lunata</i>	NP	NP	NP	<i>Aedes aegypti</i> <i>Calliosobruchus maculatus</i> <i>Calliosobruchus chinensis</i> L
	HAM	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	DAV	NP	NP	<i>Meloidogyne</i>	NP	NP	<i>Tribolium castaneum</i>
Dilución_fumigante	H	NP	NP	NP	NP	NP	<i>Anopheles aegypti</i>
	HAM	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	DAV	NP	NP	NP	NP	NP	NP
	N.E	NP	NP	NP	NP	NP	Ratas Wistar rattus <i>Culex quinquefasciatus</i>

ANEXO E: Componentes mayoritarios respecto al objeto de estudio y efecto evaluado.

Anexo E: Componentes mayoritarios respecto al objeto de estudio y efecto evaluado						
B A C T E R I A S	Inhibición	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Aeromona hydrophila</i> <i>Aggregatibacter</i> <i>Actinomycetemcomitans</i> Bacteroides <i>Fragilis</i> <i>Bacillus cereus</i>. <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Chromobacterium violaceum</i> Enterobacter <i>aerogenes</i> <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 <i>Escherichia coli</i>, <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 9027 <i>Porphyromonas</i> <i>gingivalis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> S <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus</i> <i>intermedio</i> <i>Streptococcus mutans</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Chromobacterium</i> <i>violaceum</i></p>	<i>Aeromonas</i> sp . (3)	<i>Staphylococcus aureus</i> (2) <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Streptococcus mutans</i>	<i>Aeromona hydrophila</i>
HONGOS	Inhibición	<p><i>Moniliophthora roreri</i> <i>C. krusei</i> <i>C. parasilopsis</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus flavus</i></p>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> <i>Alternaria solani</i>	<p><i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida krusei</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Pleurotus ostreatus</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Aspergillus versicolor</i> <i>A. niger</i> <i>Penicillium ochrochloron</i> <i>Penicillium juniculosum</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Trichophyton rubrum</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>Aspergillus Spp</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Penicillium italicum</i> <i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Ustilago scitaminea</i>, <i>Colletotrichum falcatum</i>, <i>Curvularia lunata</i></p>	<i>Candida dubliniensis</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida krusei</i> Clinical <i>Candida albicans</i> <i>Cryptococcus grubii</i> <i>Cryptococcus gattii</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	NP
PROTOZOOS	Tiempo de muerte	<p><i>Rhipicephalus microplus</i> (2) <i>Trypanosoma cruzi</i> (2) <i>Acanthamoeba polyphaga</i> <i>Meloidogyne incognita</i> <i>Leishmania chagasi</i></p>	NP	<i>Leishmania spp</i>	NP	NP
VIRUS	Tiempo de muerte	<p>Virus de la fiebre amarilla (YFV) Línea celular VERO Virus del dengue (DENV)</p>	NP	NP	NP	NP
LINEAS CELULARES	Antiansiolítico	NP	NP	NP	NP	NP
	Antioxidante	NP	NP	NP	NP	NP
	Toxicidad	NP	NP	NP	NP	NP
	Citotóxico	Jurkat, HeLa, HepG2 y Vero líneas celulares tumorales	NP	NP	NP	NP
ORGANISMOS	vasorelajante	NP	NP	Ratas Wistar	NP	NP
	Anestésico	<i>(Oreochromis niloticus Colossoma macropomum</i>	<i>Echinometra luunter</i> <i>Rhampia quelen</i> (6) <i>Sparus aurata</i> <i>Litopenaeus vannamei</i> <i>Aloysisa triphylla</i> <i>Serrasalmus rombeus</i> <i>Neohelice granulata</i> <i>Ratas Wistar</i> <i>Mus musculus</i> <i>Oreochromis niloticus</i>	Ratas Wistar	NP	NP
	Antiinflamatorio	NP	NP	Ratas Wistar	NP	NP
	Ansiolítico	NP	NP		NP	NP
	Antioxidante	NP	<i>Rhampia quelen</i> <i>Lippia alba</i>	Camarones	NP	NP
	Toxicidad	<i>Artemia franciscana</i>	NP	NP	NP	NP
	Repelente	<i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> <i>Sitophilus zeamais</i> y <i>Tribolium castaneum</i> (2)	NP	NP	NP	NP
	Inmunomodulador	NP	<i>Oreochromis niloticus</i>	NP	NP	NP
	Antiespasmódico	NP	Ratas Wistar	NP	NP	NP
	Larvicida	<i>Anopheles aegypti</i>	NP	NP	NP	NP
	Fungistático	NP	NP	NP	NP	NP
	Relajante	ratones wistar Rattus	NP	NP	NP	NP
	Anticonvulsivos	NP	ratas Wistar	NP	NP	NP
	Insecticida	<i>Aedes aegypti</i> (4) <i>Culex quinquefasciatus</i> <i>Nasutitermes corniger</i>	NP	<i>Callasobruchus chinensis</i>	NP	NP
	Antiparasitaria	<i>Rhipicephalus microplus</i> (2) <i>Meloidogyne incognita</i>	<i>Colossoma macropomum</i>	NP	NP	NP