



## **Composición del aceite esencial y caracterización físicoquímica de las hojas de *Stachytarpheta mutabilis* (Jacq.) Vahl.**

**Darly Villalobos Osorio<sup>1\*</sup>, Irama Ramírez González<sup>1</sup>, Luis Rojas Fermín<sup>2</sup>, Bertha Santiago Silva<sup>3</sup>, Juan Carmona Arzola<sup>4</sup>, Marisabel Avendaño Meza<sup>1</sup>**

- 1) Grupo de Investigaciones Fitoquímicas, Facultad de Farmacia y Bioanálisis,
  - 2) Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis,
  - 3) Departamento Ciencias de los Alimentos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis,
  - 4) Herbario MERF, Facultad de Farmacia y Bioanálisis,
- Universidad de Los Andes. Sector Campo de Oro. Mérida,  
Apartado Postal 5101, República Bolivariana de Venezuela.

(\*) [darly@ula.ve](mailto:darly@ula.ve).

**Recibido:** 20/01/2014

**Revisado:** 23/04/2014

**Aceptado:** 30/04/2014

---

### **Resumen**

El aceite esencial de las hojas de *S. mutabilis*, fue analizado por CG/EM y se identificaron como componentes mayoritarios: 1-octen-3-ol, (Z)-3-hexen-1-ol, (Z)-4-hexen-1-ol, ácido linolénico, ácido palmítico, octan-3-ol y rosifoliol; siendo importante resaltar que, en la composición química del aceite esencial, los sesquiterpenos destacan por ser los compuestos que se presentaron con mayor frecuencia. Por otro lado, se realizó la caracterización físico-química de las hojas, determinándose humedad (73,70 %), cenizas (2,67 %), grasas (1,25 %), proteínas (3,17 %) y carbohidratos (19,20 %).

**Palabras claves:** aceite esencial; *Stachytarpheta mutabilis*; Verbenaceae; 1-octen-3-ol; (Z)-3-hexen-1-ol

### **Abstract**

Essential oil from *Stachytarpheta mutabilis* was analyzed by GC/MS being identified as major components: 1-octen-3-ol, (Z)-3-hexen-1-ol, (Z)-4-hexen-1-ol, linolenic acid, palmitic acid, octan-3-ol and rosifoliol. It is important to notice that sesquiterpenes were the compounds occurring more frequently in the essential oil chemical composition. Moreover, the physicochemical characterization of the leaves was performed, being determined moisture (73.70 %), ash (2.67 %), fats (1.25 %), proteins (3.17 %) and carbohydrates (19.20 %).

**Keywords:** essential oil; *Stachytarpheta mutabilis*; Verbenaceae; 1-octen-3-ol, (Z)-3-hexen-1-ol

### **Introducción**

*Stachytarpheta mutabilis* Jacq. Vahl pertenece a la familia Verbenaceae, es un arbusto que puede tener una altura entre 1-3 m, con flores de color rosa en grupos de 3 y 12 en forma de trompeta; se localiza en regiones tropicales y subtropicales. El género *Stachytarpheta* se encuentra representado en el mundo por aproximadamente 130 especies y con un centro de diversidad en Brasil<sup>1</sup>; en Venezuela se ubican 9 especies, una de las cuales es endémica, la *S. lopez-palacci* Moldenke<sup>2</sup>. Varias especies de este género son reconocidas por sus usos medicinales. Las hojas de *S. mutabilis* son utilizadas en Veracruz-México para tratar infecciones de la piel provocadas por picadura de

insectos, heridas, golpes o quemaduras<sup>3</sup>. *S. cayennensis* es empleada en Brazil como antiinflamatorio y anti-ulcerogenico<sup>4</sup>, frente a desordenes hepáticos<sup>5</sup>, para la gripe, el estreñimiento y como relajante muscular<sup>6,7</sup>, también es utilizada para combatir el cáncer<sup>8</sup>; en Perú y Nigeria se emplea para tratar la malaria<sup>9</sup> y para la mordedura de serpiente<sup>10</sup>. Otra especie, la *S. jamaicensis* es usada como antiinflamatorio<sup>11</sup>, analgésico<sup>12</sup> y antifúngico<sup>13</sup>.

Desde el punto de vista fitoquímico cabe destacar que las especies pertenecientes al género *Stachytarpheta* son ricas en compuestos del tipo iridoides, los cuales son monoterpenos que tienen como base el esqueleto ciclopentanopirano. De las hojas de *S. cayennensis*, se aisló el iridoide glucosidado

ipolamiida, que mostró actividad antiinflamatoria *in vivo* en ratas<sup>14</sup>; este iridoide se había aislado previamente de *S. indica*<sup>15</sup> y de *S. mutabilis*<sup>16</sup>, así como de las partes aéreas de *S. australis*<sup>17</sup>; más recientemente, se aisló de las hojas de *S. urticaefolia*<sup>18</sup> y de *S. glabra*<sup>19</sup>. De *S. mutabilis*, recolectada en Venezuela, se aisló el iridoide glucosidado 6- $\beta$ -hidroxiipolamida<sup>20</sup> y de las hojas de *S. glabra* se obtuvo fulvoipolamida<sup>19</sup>. Por otro lado, del género *Stachytarpheta* se han obtenido esteroides<sup>21</sup>, flavonoides<sup>22</sup> y glicósidos fenilpropanoides<sup>23</sup>.

Luego de una revisión bibliográfica exhaustiva se pudo establecer que existen muy pocos datos relacionados con la composición química del aceite esencial de especies pertenecientes al género *Stachytarpheta*. Duarte y colaboradores<sup>24</sup>, en 2007, reportan la evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *S. cayennensis*, frente a diferentes serotipos de *Escherichia coli*, encontrando para la mayoría de los casos MIC > 1000  $\mu\text{g/mL}$ , pero no hacen referencia sobre la composición química del aceite esencial ensayado. En otra investigación de las hojas de *S. gesnerioides* se obtuvo la fracción hexánica y el aceite esencial, ambas fueron analizadas por CG-MS, resultando que el componente principal de ambas es guaicol y como componentes secundarios se reportaron  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -sesquifelandreno<sup>25</sup>.

El propósito de este trabajo fue determinar la composición química del aceite esencial de las hojas frescas de *S. mutabilis* (Jacq.) Vahl recolectada en el municipio Campo Elías del estado Mérida, Venezuela, así como la caracterización físico-química de las mismas (valores porcentuales de humedad, cenizas, grasas, proteínas y carbohidratos), ya que hasta la fecha no existen en la literatura científica reportes al respecto.

## Parte experimental

### Material vegetal

Las partes aéreas de *Stachytarpheta mutabilis* (Jacq.) Vahl fueron recolectadas en el sector San Isidro de la carretera Panamericana, vía Jaji, Municipio Campo Elías, Estado Mérida, Venezuela, en Julio 2010, a una altitud de aproximadamente 1200 m.s.n.m. La identificación taxonómica de las muestras botánicas fue determinada en el Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA, y depositadas en el Herbario Merf "Luís Ruiz Terán" de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, bajo el código DV01.

### Extracción del aceite esencial

Las partes aéreas frescas (1190 g) se licuaron y fueron introducidas en un equipo de hidroddestilación, empleando la trampa de Cleveenger durante 4 horas. El aceite obtenido

fue recuperado con n-heptano y almacenado en un vial de vidrio bajo refrigeración a 4°C.

### Elucidación estructural por CG/EM

El análisis químico del aceite esencial se efectuó a través de un cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 6890 acoplado a un espectrómetro de masas HP 5973. El cromatógrafo está equipado con un inyector automático y una columna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm diámetro interno y espesor de película 0,25  $\mu\text{m}$ ). La energía de ionización fue de 70 eV. El gas portador utilizado fue helio con un flujo de 1 mL/min. Se utilizó una temperatura inicial de 60 °C (0 min) y luego se incrementó a razón de 4 °C/min hasta 260 °C. El inyector se mantuvo a 200 °C y el cuadrupolo del detector a 150 °C. La cantidad de muestra inyectada fue de 1,0  $\mu\text{L}$  de una solución al 2 % del aceite esencial en éter etílico con un reparto 100:1. La identificación de los componentes del aceite esencial se efectuó por comparación computarizada de los espectros de masa con la base de datos de la librería Wiley (6<sup>ta</sup> edición) y fue confirmada por comparación de los valores de los índices de Kóvats calculados con los reportados en la literatura<sup>26</sup>.

### Análisis físico-químico

**Determinación de humedad:** el porcentaje de humedad se determinó gravimétricamente, 3 g de material vegetal (hojas) fueron sometidos a desecación en estufa (Memmert Alemania) a 100-105 °C, hasta peso constante, siguiendo el método descrito por la Association of Official Analytical Chemist<sup>27</sup>.

**Determinación de cenizas:** se incineraron 3 g de material vegetal (hojas) directamente en llama hasta la desaparición de vapores blancos, luego se llevó a una mufla modelo Heraus tipo MR 170 (Hanau, Alemania) a 550 °C, hasta obtener las cenizas y por diferencia de peso se calculó el porcentaje de cenizas<sup>28</sup>.

**Determinación de grasa:** se pesaron 5 g de material vegetal (hojas), se colocaron en un cartucho de Soxhlet dentro del sistema de extracción con éter etílico, y luego en un balón previamente pesado, ubicado dentro de una manta de calentamiento, se recolectó la grasa con el solvente de extracción, seguidamente se evaporó el éter etílico y la grasa remanente que quedó en el balón se pesó y por diferencia se obtuvo el porcentaje de grasa<sup>29</sup>.

**Determinación de proteínas:** el porcentaje de proteínas se calculó a partir del contenido de nitrógeno total de la muestra analizada por el método Micro Kjeldhal. Fueron pesados 0,1 g de muestra homogénea y se transfirieron a un balón de micro Kjeldahl de 30 mL, el cual contenía perlas de vidrio, se adicionó la mezcla catalizadora formada por 0,01 g de sulfato cúprico, 1 g de sulfato de sodio anhidro y 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. El digestor se sometió a calentamiento, hasta obtener una solución color claro, límpido, la cual se

disolvió en una pequeña cantidad de agua destilada y se llevó a cabo el proceso de destilación, para el cual se utilizó una solución de ácido bórico al 4 % y, como indicadores, una mezcla de azul de metileno y rojo de metilo. Posteriormente el destilado se tituló directamente con ácido clorhídrico 0,02 N. Se obtuvo de esta forma el porcentaje de nitrógeno, el cual se convirtió en porcentaje de proteínas multiplicando por el factor 6,25<sup>30</sup>.

Carbohidratos: fue determinado por diferencia<sup>31</sup>.

## Resultados y discusión

El aceite esencial de *S. mutabilis* (0,3 mL; 0,025 %), fue analizado por CG/EM lográndose identificar el 90,9 % del total de los componentes (Tabla 1). Es de resaltar la diversidad estructural de los metabolitos secundarios identificados: sesquiterpenos, monoterpenos, aldehídos, alcoholes, cetonas y alcanos (Tabla 2). El bajo rendimiento del aceite esencial coincide con lo reportado para otras especies del mismo género, tal es el caso de *S. australis* 0,11 %<sup>32</sup> y *S. gesnerioides* 0,01 %<sup>25</sup>. Es importante destacar que el aceite esencial de *S. mutabilis* presenta una cantidad considerable de componentes, lo que se traduce en que la mayoría de ellos se encuentran en muy bajas concentraciones. Los compuestos mayoritarios fueron: 1-octen-3-ol (24,7 %), (Z)-3-hexen-1-ol (22,5 %), (Z)-4-hexen-1-ol (11,4 %), ácido linolénico (6 %), ácido palmítico (4 %), octan-3-ol (3,8 %) y rosifoliol (3,8 %). El 1-octen-3-ol también ha sido reportado en el aceite esencial de *S. gesnerioides* (0,46 %)<sup>25</sup>, y se ha demostrado a través de estudios genéticos, bioquímicos e inmunológicos, que dicho compuesto causa degeneración de la dopamina neuronal por medio de la disrupción del manejo de la dopamina en modelos de *Drosophila melanogaster*, y puede por lo tanto representar un agente ambiental de origen natural involucrado en la enfermedad de Parkinson<sup>33</sup>. El segundo compuesto en abundancia el (Z)-3-hexen-1-ol, tiene la propiedad de atraer diferentes insectos beneficiosos a la planta<sup>34</sup>. Para otras especies del género *Stachytarpheta* se han reportado como componentes mayoritarios citral y geraniol para la *S. australis*<sup>32</sup> y para *S. gesnerioides* guaiol (56 %), el cual es un sesquiterpeno<sup>25</sup>; de estos compuestos, solo el geraniol fue identificado en el aceite de *S. mutabilis* pero a muy baja concentración (0,1 %).

En la caracterización físico-química de las hojas de *S. mutabilis* se evaluaron varios parámetros, tales como: humedad, cenizas, grasas, proteínas y carbohidratos, cuyas determinaciones se realizaron por triplicado. En la tabla 3 se muestran los resultados expresados como valores promedio y desviación estándar. Los metabolitos primarios (grasas, proteínas, carbohidratos) son sintetizados en las plantas a partir de nutrientes inorgánicos y son utilizados

**Tabla 1:** Composición química del aceite esencial de las hojas de *Stachytarpheta mutabilis* por CG/EM

Componentes	%	IK
(Z)-3-hexen-1-ol	22,5	856
(Z)-4-hexen-1-ol	11,4	862
2,4-hexadienal	0,1	908
1-octen-3-ol	24,7	983
octan-3-ol	3,8	993
acetato de (Z)-3-hexenilo	0,2	1003
2-fenilacetaldehído	0,1	1043
$\alpha$ -terpinoleno	1,5	1097
nonanal	0,5	1100
(E,Z)-2,6-nonadienal	0,1	1152
(E,Z)-2,6-nonadienol	0,1	1164
(Z)-6-nonen-1-ol	0,1	1169
$\alpha$ -terpineol	0,4	1188
$\beta$ -ciclocitral	0,1	1220
(Z)-geraniol	0,1	1228
2-metilbutanoato de (Z)-3-hexenilo	0,1	1232
tiglato de (Z)-3-hexenilo	0,1	1327
eugenol	0,2	1359
$\beta$ -damascenona	0,2	1383
$\beta$ -cariofileno	0,2	1416
geranilacetona	0,2	1449
(E)- $\beta$ -farneseno	0,3	1453
germacreno D	0,1	1478
$\beta$ -ionona	0,5	1482
$\alpha$ -selineno	0,1	1491
pentadecano	0,1	1493
tridecanal	0,2	1504
$\delta$ -cadineno	0,1	1519
$\alpha$ -muuroleno	0,1	1531
trans-nerolidol	0,4	1560
(E,E)-pseudoionona	0,4	1581
hexadecano	0,7	1593
rosifoliol	3,8	1606
$\gamma$ -eudesmol	0,1	1628
$\beta$ -eudesmol	0,7	1648
$\alpha$ -eudesmol	0,3	1651
$\alpha$ -bisabolol	0,2	1681
(2Z,6Z)-farnesol	0,4	1698
pentadecanal	1,9	1708
(2E,6E)-farnesol	0,2	1716
$\alpha$ -sinensal	0,8	1759
fitona	0,5	1838
ciclohexadecano	0,1	1872
linolenato de metilo	0,3	1885
nonadecano	0,1	1891
(E,E)-farnesilacetona	0,1	1910
ácido palmítico	4,0	1968
heneicosano	0,1	2090
(Z)-fitol	1,5	2105
ácido linolénico	6,0	2147
tricosano	0,1	2289
<b>Porcentaje Total = 90,9 %</b>		

%: área debajo del pico, **IK cal:** índice de Kovats calculado

como base para la síntesis de los metabolitos secundarios. La cantidad de cenizas varía considerablemente según la parte de la planta, la edad y tratamiento<sup>35</sup>. En relación al género, solo existen reportes de 21 % de cenizas totales para los tallos de *S. jamaicensis*<sup>36</sup>.

**Tabla 2:** Concentración porcentual de los componentes del aceite esencial de *S. mutabilis*, según sus características estructurales y grupos funcionales.

Tipo de Compuesto	%
Monoterpenos	9,80
Diterpenos	1,96
Sesquiterpenos	29,41
Aldehídos	11,76
Alcoholes	11,76
Esteres	7,84
Cetonas	9,80
Ácidos orgánicos	3,92
Alcanos	11,76

**Tabla 3:** Valores porcentuales de humedad, cenizas, grasa, proteínas y carbohidratos de las hojas de *S. mutabilis*.

Parámetro	% (g/100 g)
Humedad	73,70 ± 0,19
Cenizas	2,67 ± 0,19
Grasas	1,25 ± 0,24
Proteínas	3,17 ± 0,04
Carbohidratos	19,20 ± 0,39

## Conclusiones

Se reporta por primera vez la composición del aceite esencial de las hojas de *S. mutabilis*, cuyo análisis se realizó por CG/EM, habiéndose logrado identificar como componentes mayoritarios: 1-octen-3-ol, (Z)-3-hexen-1-ol y (Z)-4-hexen-1-ol, ácido linolénico, ácido palmítico, octan-3-ol y rosifoliol, siendo este último un sesquiterpeno oxigenado del tipo *epi*-eudesmano. Así mismo se destacan en mayor porcentaje los sesquiterpenos oxigenados específicamente del tipo eudesmano. En la caracterización físico-química de las hojas se evidenció un alto contenido de humedad.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico Humanístico Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes, Mérida, República Bolivariana de Venezuela, por el financiamiento de este trabajo a través de los proyectos: FA-435-08-03-C y FA-496-11-08-A.

## Referencias

1. S Atkins. The genus *Stachytarpheta* (*Verbenaceae*) in Brazil. **Kew Bull.**, **60**, 161-172 (2005).

- O Hokche, P Berry, O Huber. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, p. 655 (2008).
- L Navarro, S Avendaño. Flora útil del Municipio de Astacinga, Veracruz, México. **Polibotánica**, **14**, 67-84 (2002).
- D Garcia, M Domingues, E Rodrigues. Ethnopharmacological survey among migrants living in the Southeast Atlantic Forest of Diadema, São Paulo, Brazil. **J. Ethnobiol. Ethnomedicine**, **6(29)**, 19 páginas (2010).  
Disponible en: <http://www.ethnobiomed.com/content/6/1/29>
- F Braga, M Bouzada, R Fabri, M Matos, F Moreira, E Scio, E Coimbra. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, **111**, 396-402 (2007).
- S Mesia-Vela, C Souccar, M Lima-Landman, A Lapa. Pharmacological study of *Stachytarpheta cayennensis* Vahl in rodents. **Phytomedicine**, **11**, 616-624 (2004).
- I Costa, F Rios, R Melo, M Martinez, M Macedo, U de Albuquerque, Domingos de Oliveira. Ethnopharmacology of medicinal plants of the Pantanal Region (Mato Grosso, Brazil). **Evid-Based. Complement. Altern. Med.**, **2012**, 36 páginas (2012).  
Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/272749/>
- J de Melo, A Santos, E de Amorim, S Nascimento, U de Albuquerque. Medicinal plants used as antitumor agents in Brazil: An Ethnobotanical Approach. **Evid. Based. Complement. Altern. Med.**, **2011**, 14 páginas (2011).  
Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21528006>
- J Okokon, E Ettebong, B Antia. *In vivo* antimalarial activity of ethanolic leaf extract of *Stachytarpheta cayennensis*. **Indian J. Pharmacol.**, **40(3)**, 111-113 (2008).
- G Luziatelli, M Sørensen, I Theilade, P Mølgaard. Asháninka medicinal plants: a case study from the native community of Bajo Quimiriki, Junín, Peru. **J. Ethnobiol. Ethnomedicine**, **6(21)**, 23 páginas (2010).  
Disponible en: <http://www.ethnobiomed.com/content/6/1/21>
- M Sulaiman, Z Zakaria, H Chiong, S Lai, D Israf, T Shah. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl (Verbenaceae) in experimental animal models. **Med. Princ. Pract.**, **18**, 272-279 (2009).
- J Anbu, K Anandarajagopal, Ch Dinesh, G Rejitha, R Suraj, H Hj, M Vignesh, P Proom. Ethnomedical survey of plants used by the Orang Asli in Kampung Bawong, Perak, West Malaysia. **J. Ethnobiol. Ethnomedicine**, **6(5)**, 6 páginas (2010).  
Disponible en: <http://www.ethnobiomed.com/content/6/1/5>
- S Maregesi, O Ngassapa, L Pieters, A Vlietinck. Ethnopharmacological survey of the Bunda district, Tanzania: Plants used to treat infectious diseases. **J. Ethnopharmacol.**, **113**, 457-470 (2007).

14. E Schapoval, M Winter, C Chaves, R Bridi, J Zuanazzi, A Henriques. Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis*. **J. Ethnopharmacol.**, **60**(1), 53-59 (1998).
15. B Tantisewie, O Sticher. Isolation of Ipolamiide from *Stachytarpheta indica*. **Phytochemistry**, **14**(5-6), 1462-1463 (1975).
16. C de Luca. Isolation of Ipolamiide from *Stachytarpheta mutabilis*. **Fitoterapia**, **51**(6), 279-280 (1980).
17. G Akisue, M de Alvarenga, D Barros, O Gottlieb. Ipolamiida from *Stachytarpheta australis* Moldenke. **An. Farm. Quim. S. Paulo**, **21**(1), 57-60 (1981).
18. R Chowdhury, M Rashid, O Khan, C Hasan. Ipolamiide and  $\alpha$ -spinasterol from *Stachytarpheta aurticaefolia*. **Biochem. Syst. Ecol.**, **31**, 1209-1211 (2003).
19. L Viccini, P Silva, M de Almeida, M Saraiva, P Peixoto, F Salimena, R Diniz, B Rodrigues, I Scowen, H Edwards, L de Oliveira. Ipolamiide and Fulvoipolamiide from *Stachytarpheta glabra* (Verbenaceae): A structural and spectroscopic characterization. **J. Mol. Struct.**, **875**, 27-31 (2008).
20. C de Luca, M Guiso, C Martino.  $6\beta$ -Hydroxyipolamiide, an iridoid glucoside from *Stachytarpheta mutabilis*. **Phytochemistry**, **22**(5), 1185-1187 (1983).
21. S Ganapaty, G Babu, K Naidu. Phytoconstituents from the roots of *Stachytarpheta indica*. **J. Med. Aromat. Plant Sci.**, **20**, 697-699 (1998).
22. S Duret, H Jacquemin, R Paris. Plantes malgaches N° XIX. Sur la composition chimique de *Stachytarpheta jamaicensis* (L) Vahl (= *S. indica* Vahl), Verbénacées. **Plant Med. Phytother.**, **10**(2), 96-104 (1976).
23. G Leitao, P de Souza, A Moraes, L Brown. Step-gradient CCC separation of phenylpropanoid and iridoid glycosides from roots of *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl. **J. Liq. Chromat. Relat. Technol.**, **28**, 2053-2060 (2005).
24. M Duarte, E Leme, C Delarmelina, A Almeida, G Figueira, A Sartoratto. Activity of essentials oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **J. Ethnopharmacol.**, **111**(2), 197-201 (2007).
25. P Souza, E Yoko, A Moreira, N Barbosa, T Almeida, L Viccini. *Stachytarpheta gesnerioides* Cham.: chemical composition of hexane fraction and essential oil, antioxidant and antimicrobial activities. **Bol. Latinoam. Caribe Plantas Med. Aromát.**, **11**(6), 542-548 (2012).
26. R Adams. Identification of essentials oil components by gas chromatography /mass spectroscopy. Carol Stream, Illinois (USA): Allured Publishing Corporation (2007).
27. AOAC **Official Methods 930.04: Moisture in plants**. 17<sup>th</sup> Edition. Maryland (USA) (2000).
28. AOAC. **Official Methods 930.05: Ash of plants**. 17<sup>th</sup> Edition. Maryland (USA) (2000).
29. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). **Determinación de la grasa libre: 3218**. Caracas (Venezuela) (1996).
30. AOAC. **Official Methods 978.04: Nitrogen (Total) (Crude Protein) in Plants**. 16<sup>th</sup> Edition. Maryland (USA) (1998).
31. N Raghuramulu, N Madhavan, S Kalyanasundaram. **Manual of Laboratory Techniques**. National Institute of Nutrition. Indian Council of Medical Research. Hyderabad (India), 56-58 (2003).
32. A Pereira, G Akisue, M Kubota, F de Oliveira. Caracterização farmacognóstica de óleo essencial e do extrato fluido de gervaõ *Stachytarpheta australis* Moldenke Verbenaceae. **Rev. Bras. Farmacogn.**, **2**, 45-52 (1989).
33. A Inamdar, M Hossain, A Bernstein, G Miller, J Richardson, J Wennstrom. Fungal-derived semiochemical 1-octen-3-ol disrupts dopamine packaging and causes neurodegeneration. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **110**(48), 5 páginas (2013).  
Disponible en: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1318830110>.
34. D James. Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. **J. Chem. Ecol.**, **31**(3), 481-495 (2005).
35. A Vermani, N Prabhat, A Chauhan. Physico-chemical analysis of ash of some medicinal plants growing in Uttarakhand, India. **Nat. Sci.**, **8**(6), 88-91 (2010).
36. K Ramakrishanan, R Sivaranjani. Pharmacognostical and phytochemistry studies on stem of *Stachytarpheta jamaicensis* (L) Vahl. **Int. Res. J. Pharm.**, **4**(10), 44-47 (2013).