

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS DE ESPECIES MESOAMERICANAS DEL GÉNERO *PIPER* COMO NUEVOS RECURSOS AROMÁTICOS

Cruz S¹, Véliz R², Gómez A¹, Álvarez L³, Cáceres A^{4,5}, Morales J³,
Apel M⁶, Henriquez A⁶.

¹Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Escuela de Química Farmacéutica,

²Depto. Análisis Inorgánico, Escuela de Química,

³Herbario USCG del CECON,

⁴Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica de la Facultad de CCQQ y Farmacia USAC,

⁵Laboratorio de Productos Naturales Farmaya S.A.,

⁶Facultad de Farmacia, Universidad Federal Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

RESUMEN

La familia *Piperaceae* comprende 14 géneros y aproximadamente 700 especies, que están distribuidas en las zonas tropicales y subtropicales del mundo. En Guatemala se describen aproximadamente 88 especies de *Piper* distribuidas en diferentes regiones del país, de las cuales se encuentra muy poca información química y farmacológica.

El presente estudio contribuye al estudio químico de las especies aromáticas más importantes del género *Piper* en Guatemala. Se identificaron 16 especies en 3 departamentos de Guatemala; en Suchitepéquez se encontraron 4 especies (*Piper umbellatum*, *P. oradendrum*, *P. patulum* y *P. jacquemontianum*); en Alta Verapaz se encontraron 8 especies (*P. geniculatum*, *P. jacquemontianum*, *P. obliquom*, *P. variable*, *P. phytolaccifolium*, *P. shippianum*, *P. sempervirens* y *P. hispidum*) y en Izabal 4 especies (*P. peltatum*, *P. donnell smithii*, *P. fallens* y *P. diandrum*).

Se obtuvo el aceite esencial de cada especie por hidrodestilación y se calculó su rendimiento. Se realizó la caracterización química de los extractos mediante ensayos macro y semimicro y cromatografía en capa fina determinándose la presencia de alcaloides, flavonoides, antraquinonas, saponinas, principios amargos, aceites volátiles y cumarinas. Se identificaron los constituyentes de los aceites esenciales por CG-EM, se observó que *P. phytolaccifolium* fue la especie que presentó mayor número de constituyentes (42), entre los cuales se identificaron mayoritario germacrano D 18%; *P. umbellatum* (39), presentó como mayoritarios *E*-nerolidol 23.4% y *P. variable* (36), el cual presentó como mayoritario alcanfor 28.4%, y *P. jacquemontianum* que presentó linalool 69.4% como mayoritario, un constituyentes interesante en la industria de perfumería.

INTRODUCCIÓN

El género *Piper* comprende un gran número de especies y tiene interés por su amplia utilización en la medicina tradicional de varios países, presentando una gran complejidad tanto desde el punto de vista botánico como químico. El análisis de los constituyentes volátiles de estas especies ha revelado la presencia de monoterpenos, sesquiterpenos y arilpropanoides que han mostrado propiedades biológicas interesantes tales como insecticidas y antimicrobianos, entre otros (1-4). Investigaciones fitoquímicas de los extractos han identificado la presencia de diversos compuestos activos tales como amidas, alcaloides, lignanos y cromononas (1-4). Reconociéndose

más de 1,000 especies del género *Piper*, menos del 10% ha sido estudiado por su composición química (5)

Es por ello que el estudio de estas especies constituye un recurso promisorio para el país, ya que es un género poco estudiado, se encuentran antecedentes que indican amplio uso tradicional en las zonas de reserva (6), se han demostrado varias propiedades medicinales y tienen potencial de aprovechamiento por sus aromas y en la industria cosmética (5).

METODOLOGIA

Obtención y colecta del material vegetal: Se llevó a

cabo en dos diferentes regiones del país, la zona Norte-Altiplano (Alta Verapaz, Izabal) y Sur-Occidente (Suchitepéquez), realizando la colecta de poblaciones silvestres y cultivadas. El material fue identificado en el Herbario USCG del CECON y se depósito un ejemplar herborizado de cada una de las especies (7,8). Se colectó en su mayoría una muestra representativa de 250-500 g de material vegetal.

Estudio del rendimiento y caracterización de aceites esenciales: La determinación del porcentaje de rendimiento de aceites esenciales se realizó mediante la extracción por hidrodestilación utilizando un equipo Neoclevenger según la Farmacopea Europea (9).

Obtención de extractos: Del material vegetal de cada especie se obtuvieron dos extractos por percolación utilizando disolventes de diferente polaridad (diclorometano y metanol). El menstuo así obtenido se concentró a presión reducida a una temperatura inferior a 45°C en un evaporador rotatorio, y el extracto obtenido se colocó en una desecadora (10).

Caracterización química: Se utilizaron las técnicas convencionales de tamizaje fitoquímico a escala semi-micro (11) en combinación con técnicas de cromatografía en capa fina (TLC) (12).

Análisis de aceites esenciales por GC-MS: Aceite esencial de 9 especies se analizaron por GC-MS. Se utilizó un cromatógrafo de gases GC-17A (Shimadzu) equipado con inyector, la cuantificación fue obtenida por integración electrónica, por la técnica de normalización. Para la separación de los constituyentes fue utilizada una columna apolar Durabond-DB5 (John Wiley & Sons Scientific, U.S.A.), con 30 m de largo y 0,25 mm de diámetro interno, rellena con polidimetildifenil siloxano conteniendo 5% de grupos fenilo en filme de 0,25 mm de espesor, y columna polar LM-120 (L & M, San Carlos, SP), rellena con propilenglicol, con las mismas especificaciones.

El análisis cualitativo fue realizado utilizando el mismo equipo acoplado a un espectrómetro de masas GC/MS-QP5000 (Shimadzu), equipado con cuadruplo cilíndrico, operando con energía de ionización de 70 eV. La ionización fue obtenida por la técnica de impacto electrónico.

Condiciones del equipo DB5: Programa de temperatura 60-300°C, a 3°C/min; tiempo de análisis 60 minutos, inyector 220°C, detector (DIC)/ Interface (EM): 250°C, cantidad de muestra inyectada: 1ml de dilución en éter etílico.

RESULTADOS

Durante el período comprendido entre febrero y agosto de 2006 se realizaron las colectas del material vegetal y la identificación botánica de las especies, se visitaron cuatro regiones para el muestreo Ecoparcela "El Kakawatal" en Samayac, Suchitepéquez, Parque Ecológico Laguna Lachúa en Cobán, Alta Verapaz, Parque Ecológico Cerro San Gil en Izabal y Aldea Pozo Seco en Chisec, Alta Verapaz

En total se colectaron 18 especímenes del género *Piper* y se identificaron 15 especies, de las cuales 12 son nativas de la región (Cuadro 1).

Cuadro 1. Especies identificadas

Suchitepequez	Alta Verapaz	Izabal
<i>Piper umbellatum</i>	<i>P. geniculatum</i>	<i>P. peltatum</i>
<i>P. oradendrum</i>	<i>P. jacquemontianum</i>	<i>P. donnell smithii</i>
<i>P. patalum</i>	<i>P. obliquom</i>	<i>P. fallens</i>
<i>P. jacquemontianum</i>	<i>P. variable</i>	<i>P. diandrum</i>
	<i>P. phytolaccifolium</i>	
	<i>P. shippianum</i>	
	<i>P. sempivirens</i>	
	<i>P. hispidum</i>	

Extracción de aceites y obtención de extractos: Se extrajo el aceite esencial por hidrodestilación y se obtuvieron los rendimientos en cada una de ellas, presentando mayor rendimiento *P. jacquemontianum*, de la cual se evaluaron dos procedencias la del Cerro San Gil (2.24%) y la de Laguna Lachúa (0.77%), así como *P. peltatum* (1.32%) y *P. variable* (0.72%).

Se hicieron extractos por percolación utilizando diclorometano y metanol, se observó el mayor rendimiento utilizando diclorometano para *P. shippianum* (10.59%), *P. peltatum* (9.33%) y *P. phytolaccifolium* (8.92%), y con metanol los mayores rendimientos fueron para *P. sempivirens* (17.61%), *P. phytolaccifolium* (14.05%) y *P. jacquemontianum* procedente del Cerro San Gil (11.01%).

Si bien el objetivo inicial era realizar extractos

utilizando las hojas, por la abundancia de tallos en algunas especies, se aprovechó para realizar una extracción del aceite y elaborar extractos de los tallos de *P. jacquemontianum* y *P. umbellatum*, de acuerdo al rendimiento extractivo obtenido de las especies el mayor rendimiento en aceite lo presentó *P. jacquemontianum* (1.27%) y en el extracto diclorometánico (2.52%) y *P. umbellatum* presentó el mayor rendimiento del extracto metanólico (7.95%).

Tamizaje fitoquímico: Todas las muestras analizadas presentaron alcaloides, flavonoides, antraquinonas,

saponinas, principios amargos, aceite volátil y cumarinas, excepto *P. schippianum*; ninguna de las muestras presentó taninos; todas las muestras que presentaron positividad se evaluaron por TLC.

En el análisis del aceite esencial se observó que *P. phytolaccifolium* fue la especie que presentó mayor número de constituyentes (42), entre los cuales se identificaron germacrano D 18%; *P. umbellatum* (39), presentó como mayoritario *E*-nerolidol 23.4%, *P. variable* (36), el cual presentó alcanfor 28.4% y *P. jacquemontianum* que presentó linalool 69.4% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Rendimiento, número de compuestos y compuestos mayoritarios de los aceites esenciales

Especie	Rendim. (%)	No. Compuestos	Mayoritario 1 (%)	Mayoritario 2 (%)	Mayoritario 3 (%)
<i>P. phytolaccifolium</i>	0.27	42	germacrano D (18.0)	β -cariofileno (16.0)	γ -muuruleno (5.8)
<i>P. umbellatum</i>	0.32	39	<i>E</i> -nerolidol (23.4)	germacrano D (17.4)	β -carifileno (8.5)
<i>P. variable</i>	0.72	36	alcanfor (28.4)	canfeno (16.6)	limoneno (13.9)
<i>P. oradendron</i>	0.59	35	β -pineno (30.3)	germacreno (14.8)	iso-espatulenol (12.8)
<i>P. jacquemontianum</i>	0.78	34	linalool (69.4)	nerolidol (8.0)	α -pineno (3.2)
<i>P. fallens</i>	0.15	32	α y β -pineno (28.7)	viridifloreno (11.5)	β -cariofileno (4.9)
<i>P. geniculatum</i>	0.35	28	γ y Δ -cadineno (14.9)	germacreno D (7.5)	β -cariofileno (3.3)
<i>P. donell-smithii</i>	0.74	22	α -pineno (21.4)	germacreno D (11.8)	biciclogermacrano (8.5)
<i>P. schippianum</i>	0.47	23	dehidroaromadendreno (40)	bisiclogermacrano (9.3)	β -elemeno (8.3)

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La literatura sobre el género *Piper* demuestra que hay una gran variabilidad en la composición química entre las diferentes especies estudiadas, encontrándose como terpenos mayoritarios a alcanfor, linalool, α -pineno, guaiol, colesterol y sitosterol (5), además de alcaloides, lignanos, terpenos, esteroides, propenilfenoles, kavapironas, chalcones, flavonoides, piperóridos que se han encontrado en diferentes órganos de la planta (5). Preliminarmente en el tamizaje fitoquímico realizado a las hojas hemos encontrado alcaloides, flavonoides, antraquinonas, saponinas, principios amargos, aceite volátil y cumarinas.

En las especies de América Latina la composición del aceite es diferente, el análisis de once especies nativas demuestra que los componentes mayoritarios son β -cariofileno (mayoritario en 6 especies), germacrano D y α -farneseno (mayoritarios en 3 especies), siendo de particular importancia la presencia de linalool, nerolidol y mirceno en algunas de las especies (2,13,14).

De las nueve muestras supuestamente nativas estudiadas de Guatemala, solamente de una (*P. umbellatum*) fue encontrada información en otro estudio (2), confirmándose la presencia de β -cariofileno como uno de los tres mayoritarios, aunque los otros dos son diferentes; para las demás especies estudiadas este es el primer informe de su composición química. En el caso de las muestras guatemaltecas, sobresalen como mayoritarios germacrano (mayoritario en 5 especies) y α y β -pineno (mayoritario en 4 especies). Son de particular interés algunas sustancias mayoritarias que representaron una parte importante del aceite esencial, tal es el caso de *P. jacquemontianum* que contiene 69.4% de linalool y *P. schippianum* que contiene 40% de dehidroaromadendreno.

Los hallazgos del presente trabajo confirman la alta variabilidad de la composición química de las especies del género *Piper*, tanto desde el punto de vista del número de compuestos presentes, como desde el punto de vista de su composición cuantitativa.

Es de particular importancia resaltar la presencia de

ciertos componentes mayoritarios que tienen potencial de desarrollo industrial, tal es el caso de *P. jacquemontianum*

que contiene 69.4% de linalool como mayoritario un constituyente interesante en la industria de perfumería.

Cuadro 3. Compuestos mayoritarios de algunas especies del género *Piper* estudiadas en América Latina

Especie de Piper	Rendim. (%)	Mayoritario 1 (%)	Mayoritario 2 (%)	Mayoritario 3 (%)	Ref.
<i>Piper fimbriulatum</i>	1.0	germacreno D (12.8)	β -cariofileno (11.3)	linalool (5.3)	13
<i>Piper arboretum</i>	0.5	δ -cadineno (25.8)	α -copacno (7.4)	β -pinceno (6.6)	13
<i>Piper obliquum</i>	0.8	β -cariofileno (27.6)	Espatuleno (10.6)	oxido de cariofileno (8.3)	13
<i>Piper amplum</i>		α -pineno (16.7)	β -cariofileno (9.8)	nerolidol (8.3)	14
<i>Piper arboretum</i>		α y γ -eudesmol (26.7)	bulnesol (8.1)	C ₁₅ H ₂₂ O (6.2)	14
<i>Piper dilatatum</i>		mirreno (41.7)	α -pineno (17.7)	2-tridcanona (4.4)	14
<i>Piper goesii</i>		germacreno D (28.8)	α -farneseno (14.1)	β -cariofileno (13.3)	14
<i>Piper hispidum</i>		germacreno D (7.1)	β -cariofileno (6.3)	α -farneseno (5.6)	14
<i>Piper hoffmanseggianum</i>		γ -eudesmol (15.9)	β -cariofileno (10.1)	α -farneseno (7.2)	14
<i>Piper mollicumum</i>		nerolidol (23.2)	β -farneseno (5.7)	oxido de cariofileno (3.1)	14
<i>Piper umbellatum</i>	0.13	α y β -pineno (44.4)	β -cariofileno (9.8)	β -ocimeno (6.8)	2

CONCLUSIONES

1. Se identificaron 16 especies, en Suchitepéquez se colectaron 4 especies (*Piper umbellatum*, *P. oradendrum*, *P. patulum* y *P. subcitrifolium*); en Alta Verapaz 8 especies (*P. geniculatum*, *P. jacquemontianum*, *P. obliquum*, *P. variabile*, *P. phytolaccifolium*, *P. shippianum*, *P. sempervirens* y *P. hispidum*) y en Izabal 4 especies (*P. peltatum*, *P. donnell-smithii*, *P. fallens* y *P. diandrum*).
2. El mayor rendimiento del aceite esencial lo presentó *P. jacquemontianum* procedente del Cerro San Gil (2.24%) y Laguna Lachúa (0.77%), *P. peltatum* (1.32%) y *P. variabile* (0.72%).
3. El extracto diclorometánico con mayor rendimiento fue *P. shippianum* (10.59%) y el extracto metanólico con mayor rendimiento fue *P. sempervirens* (17.61%).
4. Todas las muestras presentaron alcaloides, flavonoides, antraquinonas, saponinas, principios amargos, aceites volátiles, cumarinas excepto *P. shippianum*, y ninguna de las muestras presentó taninos.
5. En el análisis del aceite esencial se observó que *P. phytolaccifolium* fue la especie que presentó mayor número de constituyentes y *P. jacquemontianum* que presentó linalool en un 69.4% como mayoritario, el cual es un constituyente interesante en la industria de perfumería.

RECOMENDACIONES

1. Realizar muestreos en diferentes regiones y épocas del año para identificar diferencias entre las especies de *Piper* y determinar cómo influye en la composición química y actividad biológica.
2. Evaluar otras partes de la planta para determinar si presentan actividad biocida y si existe diferencia en cuanto a la composición química.
3. Fraccionar los extractos que presentaron actividad para aislar y elucidar la naturaleza química de las moléculas responsables de la bioactividad.
4. Realizar estudios agronómicos de las especies promisorias con el fin de generar un cultivo sustentable a largo plazo.
5. Continuar con el estudio químico y biológico de las especies potenciales con la finalidad de llegar a formular un producto que pueda tener un uso medicinal, agrícola, aromático y/o cosmético.

REFERENCIAS

1. Parmar, V.S. et al. 1997. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochem.* 46:597-673.

2. Martins, AP. *et al.* 1998. Essential oils from four *Piper* species. *Phytochem.* 49:2019-2023.
3. Moreira, D.L. *et al.* 1998. Essential oil analysis of two *Piper* species (Piperaceae). *An. Acad. Bras. Ci.* 70:751-754.
4. Vasques da Silva *et al.*, 2002. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochem.* 59:521-527.
5. Dyer, L.A. *et al.* 2004. Isolation, synthesis, and evolutionary ecology of *Piper* amides. In: Dyer, L.A., Palmer, A.D.N. – *Piper. A model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution.*—New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers, pp. 117-139.
6. Cleaves, C. 2001. Etnobotánica participativa en siete comunidades de la zona de influencia del Parque Nacional Laguna Lachúa, Cobán, Alta Verapaz. Guatemala. 282 p. Tesis Escuela de Biología, Guatemala, USAC.
7. Standley PC, Steyermark JA (1952) Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany* 24(3):275.
8. Stevens, WD, *et al.*, (2001). Flora de Nicaragua. USA. Missouri Botanical Garden Press. (3), 2510.
9. European Pharmacopoeia 2002. Strasbourg, Conseil de L'Europe
10. Solis P *et al.* 2005. Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Guatemala, Proyecto AICD/AE-089, 132 p.
11. Lock de Ugaz, O. 1994. Investigación fitoquímica. 2ª edición, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.
12. Wagner H, Bladt S. 1996. Plant Drug Analysis. Berlin, Springer Verlag
13. Mundina, M. *et al.* (1998). Leaf essential oils of three Panamanian *Piper* species. *Phytochem.* 47:1277-1282.
14. Dias dos Santos, P. *et al.* (2001) Essential oil analysis of 10 *Piperaceae* species from the Brazilian Atlantic forest. *Phytochem.* 58:547–551.