

## Constituyentes del aceite esencial de las hojas de *Piper terrabanum* (Piperaceae)

José F. Ciccio

Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA) y Escuela de Química, Universidad de Costa Rica, 2060 San José, Costa Rica.

(Rec. 9-V-1995. Rev. 5-IV-1995. Acep. 3-VII-1995)

**Abstract:** The essential oil of the leaves of *Piper terrabanum* C. DC. (Piperaceae) was obtained by hydrodistillation with a yield of 0.10 % of fresh material. The oil was analyzed by a combination of GC-MS methods. In the analysis about 78 signals were detected and 42 components were identified accounting for 90.2 % of the oil. The predominating compounds were  $\beta$ -caryophyllene (24.3%), germacrene-D (16.8%),  $\alpha$ -humulene (14.1%),  $\alpha$ -pinene (6.7%) and *cis*-nerolidol (6.4%).

**Key Words:** *Piper terrabanum*, Piperaceae, leaves, essential oil composition, GC-MS, phytochemistry.

Las piperáceas son una familia tropical con ocho géneros que se reconocen por sus hojas simples y porque tienen flores muy pequeñas, sin perianto, en forma de espiga simple y apretada. Generalmente son hierbas, arbustos o árboles muy pequeños. El género *Piper* (constituido por más de 700 especies) presenta tallos con nudos engrosados y las inflorescencias son espigas solitarias opuestas a las hojas que están dispuestas en forma alternada. Estas plantas se encuentran en una gran variedad de hábitats, pero en general son comunes en las florestas húmedas de Costa Rica, a elevaciones bajo los 1500 m. Las partes vegetativas a menudo presentan aromas cuando son estrujadas entre los dedos.

Algunas especies del género *Piper* son utilizadas como condimento, en especial por sus frutos aromáticos y picantes (*P. nigrum*), y muchas de ellas se emplean en la medicina natural (Keller y Klohs 1963, Atal *et al.* 1975, Morton 1981).

Químicamente, los constituyentes más comunes del género son las amidas, en especial de la isobutilamina, piperidina y pirrolidina. También, se encuentran lignanos, neolignanos y sus precursores, flavonoides, kawalactonas,

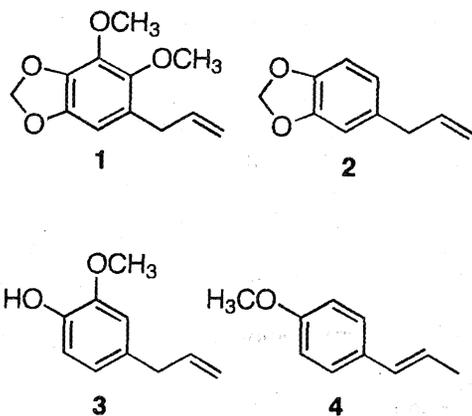
butenólidos y epóxidos del ciclohexano entre otros. (Para una descripción de los metabolitos secundarios aislados de estas plantas véase la revisión efectuada por Sengupta y Ray 1987).

En el año de 1971, Burger indicó que "la taxonomía de las especies neotropicales del género *Piper* está en estado de caos ya que se han descrito cientos de especies sin ninguna referencia a la posición que tienen dentro del género o con respecto a otras especies relacionadas. No se da una clasificación natural del género y no existen sub-géneros o secciones útiles. Eso se debe por una parte, a la uniformidad morfológica de las especies y por otra, a las muy reducidas partes florales, lo que llevó a que se describieran muchas especies sobre la base de colecciones que carecían de flores maduras y de frutos".

Como se mencionó, una cualidad de las plantas de este género es la de poseer aromas (aceites esenciales) que quizás podrían ser característicos de cada especie. Los aceites esenciales están constituidos por una gran variedad de compuestos orgánicos dentro de los cuales sobresalen los terpenoides. Están distribuidos en un gran número de familias de plantas superiores e inferiores y cumplen funciones ecoló-

gicas, como son la de atracción de polinizadores y la de causar efectos alelopáticos (Harborne 1985) entre otras.

Se han efectuado estudios acerca de la composición de varios aceites esenciales de plantas del género *Piper*, encontrándose como constituyentes principales fenilpropanoides, monoterpenoides y sesquiterpenoides (Nigam y Purohit 1962, Gupta *et al.* 1985, Ramos *et al.* 1986). En muchos casos descritos en la literatura, se encuentra un fenilpropenoide como constituyente principal del aceite. Por ejemplo, se halla un 58.0% de dilapiol **1** en *P. aduncum* (Smith y Kassim 1979), un 74.5% en *P. aduncum* var. *aduncum* y un 88.4% en *P. aduncum* var. *cordulatum* (Gottlieb *et al.* 1981); un 70.0-85.0% de safrol **2** en *P. auritum* (Gupta *et al.* 1985, Castro y Poveda 1983), un 69.0% en *P. callosum* y un 89.0% en *P. hispidinervum* (Gottlieb *et al.* 1981); un 90.5% de eugenol **3** en *P. betle* (Sharma *et al.* 1983) y un 80.5% de *trans*-anetol **4** en *P. marginatum* (Hussain *et al.* 1990).



Desde el punto de vista taxonómico, el estudio de los aceites esenciales ha servido como una ayuda en la definición de especies, en la detección de híbridos existentes en poblaciones naturales y en la confirmación de razas geográficas dentro de una misma especie (Harborne y Turner 1984).

## RESULTADOS Y DISCUSION

La realización de una prospección química de los aceites esenciales de piperáceas de Costa Rica, en particular del género *Piper*, es de inte-

rés ya que podría proporcionar caracteres taxonómicos que ayudarían en alguna medida a definir o a mejorar la clasificación de las especies y a entender mejor las relaciones de parentesco entre los miembros del género. También, este conocimiento puede ayudar a la detección de posibles razas químicas y a observar el efecto de factores ecológicos o geográficos sobre diversas poblaciones de plantas.

Iniciamos este estudio con el análisis del aceite esencial de las hojas de la planta *Piper terrabanum* C. DC. recolectada en la zona de Turrialba, Costa Rica. Hasta donde se tiene conocimiento, no existe ningún estudio químico anterior de esta especie. La planta se encuentra en un hábitat sombreado, en el sotobosque húmedo a una elevación de ca. 600 m. Su distribución se da desde Costa Rica hasta Panamá y el Norte de América del Sur. La especie se distingue por sus hojas delgadas, relativamente grandes, con la base desigual y ampliamente acuminadas en el ápice. Según Burger (1971) esta especie está muy relacionada con *P. otophorum* y, además, ambas especies se relacionan con *P. dilatatum* y sus allegadas que constituyen un grupo de especies con morfología floral muy similar.

Las hojas se redujeron de tamaño y se sometieron a una hidrodestilación en un aparato tipo Clevenger, obteniéndose un aceite esencial levemente amarillento cuyos constituyentes se separaron y analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Se separaron e identificaron total o parcialmente 42 constituyentes: 13 hidrocarburos monoterpénicos (11.7%), seis compuestos oxigenados monoterpénicos (0.4%), 17 hidrocarburos sesquiterpénicos (69.8%), cuatro sesquiterpenos oxigenados (7.9%) y dos aldehídos (0.3%).

Los constituyentes principales del aceite esencial son los hidrocarburos terpénicos  $\beta$ -cariofileno (24.3%), germacreno-D (16.8%),  $\alpha$ -humuleno (14.1%),  $\alpha$ -pineno (6.7%) y el alcohol sesquiterpénico *cis*-nerolidol (6.4%).

Los nombres de los compuestos identificados, sus tiempos de retención relativos y los porcentajes de cada uno, obtenidos a partir del TIC (total ion chromatogram), se presentan en el Cuadro 1.

La identificación de los constituyentes se efectuó mediante la comparación de los espectros de masa obtenidos con los de una base de

CUADRO 1

Composición del aceite esencial de las hojas de *P. terrabanum*

No.	Tr.	PB	IM	Compuesto	Ident.	%
1	5.04	41	98	( <i>E</i> )-2-hexenal	EM	0.1
2	6.82	93	136	$\alpha$ -tujeno	EM	<0.1
3	7.31	93	136	$\alpha$ -pineno	EM+S	6.7
4	7.67	93	136	canfeno	EM+S	0.1
5	8.67	93	136	sabineno	EM	0.1
6	8.92	93	136	$\beta$ -pineno	EM+S	3.5
7	9.24	41	136	$\beta$ -mirceno	EM+S	0.4
8	10.49	121	136	$\alpha$ -terpineno	EM	<0.1
9	10.86	119	134	$\rho$ -cimeno	EM+S	0.1
10	11.09	68	136	limoneno +	EM+S	0.8
		93	136	$\beta$ -felandreno	EM	
11	11.21	43	154	1,8-cineol	EM+S	0.2
12	11.92	93	136	$\beta$ -ocimeno	EM	<0.1
13	12.51	93	136	$\gamma$ -terpineno	EM+S	<0.1
14	13.84	93	136	$\alpha$ -terpinoleno	EM+S	<0.1
17	14.76	71	154	linalol	EM+S	0.2
20	18.94	71	154	4-terpineol	EM+S	0.1
21	19.71	59	x	$\alpha$ -terpineol	EM+S	0.1
23	23.02	82	152	piperitona	EM+S	<0.1
24	24.56	95	196	acetato de bornilo	EM	<0.1
26	27.11	121	204	$\delta$ -elemeno	EM	0.3
27	27.72	105	204	$\alpha$ -cubebeno	EM	0.5
29	28.81	119	204	ylangeno	EM	0.1
30	29.19	119	204	$\alpha$ -copaeno	EM	2.8
31	29.52	81	204	$\beta$ -bourboneno	EM	0.4
32	29.94	81	204	$\beta$ -elemeno	EM+S	3.3
33	31.79	41	204	$\beta$ -cariofileno	EM+S	24.3
34	32.17	161	204	$\beta$ -cubebeno	EM	0.9
35	33.59	93	204	$\alpha$ -humuleno	EM+S	14.1
37	35.06	161	204	germacreno-D	EM+S	16.8
39	35.47	121	204	$\gamma$ -elemeno	EM	3.6
41	35.97	161	204	$\gamma$ -cadineno (?)	EM	1.3
43	36.37	161	204	$\delta$ -cadineno +	EM	2.1
		159	202	calameneno	EM	
44	36.61	119	204	cadina-1,4-dieno	EM	0.2
45	36.79	105	204	$\alpha$ -muuroleno (?)	EM	0.3
50	38.24	69	x	<i>cis</i> -nerolidol	EM+S	6.4
57	39.94	43	x	6,7-epoxihumuleno (?)	EM	0.9
64	41.12	161	x	$\delta$ -cadinol	EM	0.4
66	41.34	161	x	$\tau$ -muurolol (?)	EM	0.2
71	42.44	183	198	cadaleno	EM	0.1
76	44.79	69	x	3,7,11-trimetil-2,6,10-dodecatrienal (?)	EM	<0.1

No.= orden de elución. Tr.= tiempo de retención. PB = pico base. IM = ion molecular. EM = espectrometría de masa. S = muestra patrón. % = porcentaje relativo. x = no se observa. (?) = identificación tentativa.

datos controlada por computador [NIST (NBS) *database*], por comparación visual de los espectros con los de la base de datos y con los de la literatura (Stenhagen *et al.* 1974, Másada 1976, Swigar y Silverstein 1981) y, cuando fue posible, mediante la comparación de los tiempos de retención con los de muestras auténticas, en las mismas condiciones experimentales.

Los resultados obtenidos muestran como hecho sobresaliente la ausencia de fenilpropanoides que son característicos en muchos de los aceites de plantas del género *Piper* estudiados anteriormente (*vide supra*) y que corresponden a más del 50% de la composición de los mismos.

**Parte experimental:** El material vegetal se recolectó en el mes de noviembre de 1992, en la localidad de Turrialba, Provincia de Cartago, Costa Rica. Se depositó un ejemplar herborizado en el Herbario de la Universidad de Costa Rica, Escuela de Biología bajo el número USJ 48611.

Las hojas frescas y finamente subdivididas se sometieron a hidrodestilación durante 2.5 horas, en un aparato tipo Clevenger, obteniéndose un aceite esencial amarillento, con un rendimiento de 0.10 % (volumen por peso de material fresco), una vez desecado sobre sulfato de sodio anhidro.

El aceite obtenido se sometió al análisis combinado de cromatografía gaseoso-líquida y espectrometría de masas (GC-MS), en un instrumento Shimadzu, modelo QP-1100EX.

Las condiciones experimentales fueron las siguientes: Columna: fenilmetilsilicona 5% (Perkin-Elmer), longitud 50 m, diámetro 0.32 mm, espesor de la fase estacionaria 0.25 mm. Gas portador: helio, con un flujo lineal de 32 cm/s. Programación de temperatura del horno de la columna: 4 min a 75°C, 75-200°C a 3°C/min y 8 min a 200°C. Temperatura del inyector y de la interfase de separación: 250°C. Voltaje de ionización: 70 eV; corriente de ionización: 60 mA. Velocidad de barrido: 0.6 s sobre un ámbito de 30-600 uam. Sistema de inyección "split", 1:100.

#### AGRADECIMIENTOS

Se agradece a Luis J. Poveda (Escuela de Ciencias Ambientales, UNA) por su ayuda en la recolección e identificación del material vegetal. A Norman R. Farnsworth (College of

Pharmacy of the University of Illinois at Chicago) por su gentileza al permitirnos el acceso a la base de datos NAPRALERT. A Rolando Procúpez y Juan Carlos Brenes por su asistencia. A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por su apoyo (Proyecto No. 809-93-581, La Biodiversidad Vegetal Aromática de Costa Rica: inicio de una prospección química).

#### RESUMEN

Se obtuvo el aceite esencial de las hojas de *Piper trrabanum*, mediante el procedimiento de hidrodestilación, con un rendimiento de 0.10% en relación con el peso del material fresco. La composición del aceite se estudió utilizando la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). En el análisis se detectaron 78 señales y se identificaron 42 compuestos en forma total o parcial, correspondientes a un 90.2% del aceite. Los principales compuestos identificados fueron los hidrocarburos terpénicos  $\beta$ -cariofileno, germacreno-D,  $\alpha$ -humuleno y  $\alpha$ -pineno, y el alcohol sesquiterpénico *cis*-nerolidol. Es de resaltar en este estudio, la ausencia de fenilpropanoides como constituyentes del aceite esencial de este *Piper* y que son característicos en muchos de los aceites de estas plantas.

#### REFERENCIAS

- Atal, C.K., K.L. Dhar & J. Singh. 1975. The Chemistry of Indian *Piper* Species. *Lloydia* 38: 256-264.
- Burger, W.C. 1971. Piperaceae. In *Flora costaricensis*. Fieldiana, Botany 35: 5-227.
- Castro, O. & L.J. Poveda. 1983. *Piper auritum* (H.B.K.) familia Piperaceae. Estudio preliminar del aceite esencial de sus hojas. *Ing. Cienc. Quim.* 7: 24-25.
- Gottlieb, O.R., M. Koketsu, M.T. Magalhaes, J.G.S. Maia, P.H. Mendes, A.I. da Rocha, M.L. da Silva & V.C. Wilberg. 1981. Óleos essenciais da Amazonia VII. *Acta Amazon.* 11: 143-148.
- Gupta, M.P., T.D. Arias, N.H. Williams, R. Bos & D.H.E. Tattje. 1985. Safrole, the main component of the essential oil from *Piper auritum* of Panamá. *J. Nat. Prod.* 48: 330.
- Harborne, J.B. 1985. Introducción a la bioquímica ecológica. Alhambra, Madrid. 355 p.
- Harborne, J.B. & B.L. Turner. 1984. *Plant Chemosystematics*. Academic, Londres. 562 p.
- Hussain, R.A., L.J. Poveda, J.M. Pezzuto, D.D. Soejarto & A.D. Kinghorn. 1990. Sweetening agents of plant origin: phenylpropanoid constituents of seven sweet-tasting plants. *Econ. Bot.* 44: 174-182.

- Keller, F. & M.W. Klohs. 1963. A Review of the Chemistry and Pharmacology of the Constituents of *Piper methysticum*. *Lloydia* 26: 1-15.
- Masada, Y. 1976. Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Halsted, Nueva York. 334 p.
- Morthon, J.F. 1981. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois. 1420 p.
- Nigam, S.S. & R.M. Purohit. 1962. Chemical examination of the essential oil of the leaves of *Piper betle*. *Reichstoffe Aromen* 12: 185-190.
- Ramos, L.S., M.L. Da Silva, A.I.R. Luz, M.G.B. Zoghbi & J.G.S. Maia. 1986. Essential oil of *Piper marginatum*. *J. Nat. Prod.* 49: 712-713.
- Sengupta, S. & A.B. Ray. 1987. The chemistry of *Piper* species: a review. *Fitoterapia*. 58: 147-166.
- Sharma, M.L., A.K.S. Rawat, V.R. Balasubrahmanyam & A. Singh. 1983. Studies on essential oil of betelvine leaf (*Piper betle* Linn.). Part II. *Indian Perfum.* 27: 91-93.
- Smith, R.M. & H. Kassim. 1979. The essential oil of *Piper aduncum* from Fiji. *N. Z. J. Sci.* 22: 127-128.
- Stenhagen, E., S. Abrahamsson & F.W. McLafferty. 1974. Registry of Mass Spectral Data. J. Wiley, Nueva York. 3358 p.
- Swigar, A.A. & R.M. Silverstein. 1981. Monoterpenes. Aldrich Chemical, Milwaukee, Wisconsin. 130 p.