

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS COMPONENTES VOLÁTILES DE *RUILOPEZIA LINDENII* (SCHULTZ-BIP. EX WEDD.) CUATREC., RECOLECTADA A DIFERENTES ALTITUDES EN MÉRIDA-VENEZUELA

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE VOLATILE COMPONENTS OF *RUILOPEZIA LINDENII* (SCHULTZ-BIP. EX WEDD.) CUATREC., COLLECTED AT DIFFERENT ALTITUDES IN MERIDA-VENEZUELA

Pérez-Colmenares Alida¹; Rojas-Fermín Luis²; Aparicio-Zambrano Rosa³

¹Instituto de Investigaciones. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.

Resumen

Los aceites esenciales de las hojas frescas de *Ruilopezia lindenii* (Schultz-Bip. Ex Wedd.) Cuatrec fueron obtenidos por hidrodestilación y su composición química fue determinada por CG y CG/EM. Los componentes mayoritarios para RL-A (2870 m) fueron: *trans*-cariofileno (30,9 %), óxido de cariofileno (12,3 %), espatulenol (11,7 %) α -pineno (5,0 %) y AR-curcumeno (4,3 %) y para RL-B (3048 m): *trans*-cariofileno (18,7 %), óxido de cariofileno (8,9 %), espatulenol (13,5 %), silfiperfol-6-eno (11,2 %), α -pineno (4,5 %) y AR-curcumeno (6,4 %). Se reporta por primera vez en el género *Ruilopezia* la presencia de derivados del silfiperfol en RL-B. Las diferencias entre los constituyentes de ambos aceites, se atribuye al efecto de la altitud y condiciones climáticas donde se desarrollan las plantas.

Palabras clave: Asteraceae, *Ruilopezia*, *Ruilopezia lindenii*, aceite esencial.

Abstract

The essential oils from the leaves of *Ruilopezia lindenii* (Schultz-Bip. Ex Wedd.) Cuatrec was obtained by hydrodistillation and its composition was determined by GC and GC/MS. The most abundant components were for RL-A (2870 m): *trans*-caryophyllene (30.9 %), caryophyllene oxide (12.3 %), spathulenol (11.7 %) α -pinene (5.0 %) and AR-curcumene (4.3 %) and RL-B (3048 m): *trans*-caryophyllene (18.7 %), caryophyllene oxide (8.9 %), spathulenol (13.5 %), silphiperfol-6-eno (11.2 %), α -pinene (4.5 %) and AR-curcumene (6.4 %). It is reported for the first time in the genus *Ruilopezia* the presence of silphiperfol derivatives in R-LB. The differences between the constituents of both oils are attributed to the effect of altitude and climatic conditions where plants are grown.

Keywords: Asteraceae, *Ruilopezia*, *Ruilopezia lindenii*, essential oil.

Recibido: 23/09/2016 - **Aprobado:** 15/02/2017

¹Farmacéutico. Maestría en Química de Medicamentos. Doctorado en Química Aplicada, Mención Química Orgánica. Profesor Agregado en el área de Productos Naturales en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes, Venezuela. alidaperezc@gmail.com

²Farmacéutico. Maestría en Química de Medicamentos. Doctorado en Química Orgánica de la Universidad de Bordeaux-Francia. Profesor Titular y Director del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de los Andes, Venezuela. rojasfermin33@gmail.com

³Farmacéutico. Maestría en Química de Medicamentos. Doctorado en Química Aplicada, Mención Química Orgánica. Investigadora en el área de Productos Naturales en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes, Venezuela. rosaaparicio@ula.ve

Introducción

Los frailejones forman parte importante de la ecología y biodiversidad de los páramos venezolanos. Pertenecen a la subtribu Espeletiinae (Asteraceae), la cual se encuentra subdividida en ocho (8) géneros (Cuatrecasas, 1976; Bohlmann, 1990; Badillo, 2001): *Carramboia* Cuatrec (7 especies), *Coespeletia* Cuatrec (8 especies), *Espeletia* Mutis ex H. et B. (19 especies), *Espeletiopsis* Cuatrec (7 especies), *Libanothammus* Ernst (19 especies), *Ruilopezia* Cuatrec. (24 especies), *Tamania* Cuatrec. (1 especie) y *Paramiflos*.

En Venezuela se han descrito aproximadamente 85 especies, agrupadas en los siete géneros anteriormente mencionados (Badillo, 2001). Las especies de esta subtribu producen diterpenos del tipo kaureno, los cuales son interesantes tanto del vista químico y farmacológico (Cuatrecasas, 1976; Badillo, 2001).

El género *Ruilopezia* posee alrededor de 24 especies distribuidas en los Andes venezolanos (Cuatrecasas, 1987), estudios previos reportan que el aceite esencial de *R. bracteosa* posee como componentes mayoritarios el β -mircenol (34,2 %), α -pineno (24,3 %), 7-*epi*- α -selineno (9,1 %) y β -pineno (8,5 %) (Alarcón y col., 2015); asimismo, para *R. atropurpurea* y *R. floccosa* el limoneno representó el compuesto de mayor proporción 40,0 % y 24,2 % respectivamente. Por otra parte, para *R. lindenii* el α -pineno fue el constituyente más abundante (28,2 %) y el α -gurjuneno (33,5 %) para *R. marcesens* (Aparicio y col., 2001). Dichas sustancias exhiben importante actividad antimicrobiana, por lo cual, estas plantas podrían ser utilizadas para el tratamiento de diversas enfermedades (Alarcón y col., 2015).

En la presente investigación se determinó la composición química del aceite esencial de las hojas frescas de *Ruilopezia lindenii* (Schultz-Bip. Ex Wedd.) Cuatrec recolectada en dos altitudes del sector de San José, vía Mucutuy, en el Estado Mérida (Venezuela) mediante cromatografía de gases acoplada a masas.

Materiales y métodos

Material Vegetal

Las hojas frescas de *Ruilopezia lindenii* fueron recolectadas a diferentes altitudes en las cercanías de San José (Pueblos del Sur, Mérida). La primera planta (RL-A) se recolectó a 7 km de San José a 2870 m, mientras que la segunda (RL-B) a 9 km de San José a 3048 m, un voucher de cada espécimen fue almacenado en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis bajo los números L.B. Rojas 041 y 043 respectivamente.

Obtención del Aceite

1,0 Kg de hojas frescas de *R. lindenii* (RL-A y RL-B) fueron molidas en medio acuoso, luego se colocó la solución en un equipo de hidrodestilación empleando la trampa de Clevenger, durante 4 horas a 80 °C. Posteriormente, el aceite fue secado sobre sulfato de sodio anhidro y almacenado en la oscuridad bajo refrigeración a 4°C.

Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas

Los espectros de masas se realizaron en un equipo Hewlett Packard Modelo CG System HP6890 y Mass Selective detector 5973 serie II a 70 eV, equipado con un inyector automático, utilizando una columna capilar HP-5MS (30 m, 0,25 mm, 0,25 μ m). Se empleó una temperatura inicial de 60 °C y luego se calentó a razón de 4 °C/min hasta 260 °C. Se inyectó una muestra de 1,0 μ L de

una solución al 2 % de cada aceite esencial en éter dietílico con reparto de 100:1. Se utilizó una temperatura de inyección de 200 °C.

La identificación de los componentes del aceite se realizó mediante comparación computarizada de los espectros obtenidos de cada compuesto con los espectros de la Librería Wiley (6ta Edición). Adicionalmente, se determinaron los índices de Kováts, mediante la comparación del índice de cada compuesto presente en la muestra con los índices correspondientes a una mezcla de *n*-alcanos (C₈ a C₂₂) (Davies, 1990; Adams, 2007).

Resultados y discusión

Los constituyentes químicos de los aceites esenciales de *R. lindenii* se presentan en la tabla 1. El rendimiento para RL-A (2870 m) fue de 0,21 %, mientras que para RL-B (3048 m) fue de 0,25 %. Los análisis de la composición química de los aceites obtenidos, se realizaron mediante CG-EM, por comparación de los espectros de masas con los de la base de datos de la librería Wiley del sistema CG-EM y la determinación de los Índices de Kováts, lográndose así la identificación de 32 componentes los cuales constituyen el 95,35 % de RL-A y 97,37 % de RL-B.

Los compuestos mayoritarios para RL-A fueron: *trans* cariofileno (30,9 %), óxido de cariofileno (12,3 %), espatulenol (11,7 %) α -pineno (5,0 %) y AR-curcumeno (4,3 %) y para RL-B: *trans* cariofileno (18,7 %), óxido de cariofileno (8,9 %), espatulenol (13,5 %), silfiperfol-6-eno (11,2 %), α -pineno (4,5 %) y AR-curcumeno (6,4 %). En tal sentido, se observa que ambas plantas producen como compuesto mayoritario el *trans* cariofileno, sin embargo, en RL-A se encuentra en mayor proporción.

Asimismo, se visualizó que el aceite obtenido de RL-B contiene sesquiterpenos tipo triquinano como silfiperfol-6-eno (11,17 %), silfiperfol-6-en-5-ona (2,6 %), silfiperfol-5-eno (2,18 %), silfiperfol-4,7(14)-dieno (1,02 %). Estos compuestos son característicos del género *Silphium* (Bohlmann y Jakupovic, 1980; Kowalski, 2008). Sin embargo, se han identificado en otros géneros de la familia Asteraceae (*Echinops*, *Eriophyllum*, *Isocoma*, *Berkheya*, *Espeletiopsis*, *Artemisia*) (Kowalski, 2008) y en el aceite esencial de *Anemia tomentosa* (Anemiaceae) (Pinto y col, 2009) y se reportan por primera vez en este estudio para el género *Ruilopezia*.

Por otra parte, el *trans* cariofileno es un sesquiterpeno presente en numerosas plantas y alimentos, posee actividad anestésica local (Ghelardini y col, 2001), antioxidante (Calleja y col, 2012) y produce apoptosis en diversas líneas celulares (Amiel y col, 2012), mientras que los sesquiterpenos triquinanos (derivados del silfiperfol) reportan actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* y *M. smegmatis* (Pinto y col, 2009). Por lo cual, se considera que el aceite esencial de *R. lindenii* es una fuente natural de compuestos que podrían poseer diversas actividades terapéuticas.

Los resultados obtenidos difieren con lo señalado en la literatura donde indican que los compuestos mayoritarios para *R. lindenii* son el α -pineno (28,2 %), α -gurjuneno (11,5 %), germacreno D (11,4 %) y *trans* cariofileno (9,5 %) (Aparicio y col., 2001). De igual modo, mediante un análisis quimiométrico fundamentado en la composición química del aceite esencial de 31 especies de la subtribu Espeletiinae, se ubicó *R. lindenii* en el Cluster 3, cuyos componentes mayoritarios están representados por germacreno D, limoneno, β -cariofileno y ent-kaur-16-en-al (Padilla y col, 2016).

Tabla 1. Constituyentes del aceite esencial de *Ruilopezia lindenii* (Schultz-Bip. Ex Wedd.) Cuatrec.

N°	Compuesto	TR min	%AR RL-A	%AR RL-B	IK
1	α -Pino	5,41	5,01	4,47	930
2	β -Pino	6,41	0,94	1,25	965
3	<i>p</i> -Cimeno	7,62	0,72	t	1002
4	Limoneno	7,74	1,65	0,87	1007
5	1,8-cineol	7,84	1,20	1,36	1012
6	<i>Cis</i> -pinocarveol	11,08	t	0,64	1137
7	<i>Cis</i> -vervenol	11,26	0,61	2,47	1143
8	Mirtenol	12,92	t	0,84	1193
9	Silfiperfol-5-eno	17,07	t	2,18	1328
10	Silfiperfol-6-eno	17,69	1,26	11,17	1347
11	Silfiperfol 4,7(14) dieno	18,1	t	1,02	1360
12	α -copaeno	18,70	0,63	1,93	1377
13	<i>trans</i> -Cariofileno	20,15	30,9	18,74	1424
14	<i>trans</i> - α -Bergamoteno	20,53	1,46	1,45	1437
15	α -Humuleno	21,12	1,99	1,97	1458
16	α -Amorfeno	21,80	t	0,97	1481
17	AR-Curcumenol	21,98	4,28	6,43	1487
18	<i>trans</i> - β -Farneseno	22,04	3,06	1,74	1489
19	α -Zingibereno	22,36	4,70	2,84	1499
20	Biciclogermacreno	22,44	3,80	3,40	1502
21	δ -Canideno	23,20	1,12	2,73	1526
22	<i>trans</i> - γ -Bisaboleno	23,43	0,94	t	1533
23	Espatuleno	24,87	11,70	13,54	1576
24	Óxido de cariofileno	25,03	12,26	8,97	1581
25	Zingibereno	25,79	0,86	0,86	1604
26	Silfiperfol-6-en-5-ona	26,11	t	2,60	1617
27	Isoespatuleno	26,51	t	0,93	1634
28	α -Bisabolol	27,74	1,84	0,69	1683
29	Cariofila-4-(12)-8-(13)-dien-5 β -ol	26,47	0,78	t	1632
30	Cedran-13-ol	30,9	0,70	t	1800
31	Kauran-16-ol	41,04	0,78	t	2216
32	Kaurenol	41,63	2,94	1,31	2247
% Total de identificación			95,35 %	97,37%	

TR min: tiempo de retención en minutos. **RL-A:** *Ruilopezia lindenii* (2870 m). **RL-B:** *Ruilopezia lindenii* (3048 m). **% AR:** área relativa. **IK:** índice de Kovats. **t:** trazas < 0,50%.

En tal sentido, se presume que la variación en la composición química de estos aceites se debe a las diferencias de altitud que influyen en la presión atmosférica, humedad, temperatura y época de recolección lo cual determina las características de la flora y condiciones del terreno bajo el cual se desarrollan las plantas (Figueiredo y col, 2008).

Conclusiones

El estudio de los componentes volátiles de los aceites esenciales obtenido de las partes aéreas de *Ruilopezia lindenii* (Schultz-Bip. Ex Wedd.) Cuatrec recolectada en varias altitudes del sector de San José, vía Mucutuy, en el Estado Mérida (Venezuela) mostró la presencia mayoritaria de *trans* cariofileno para RL-A (30,9 %) y RL-B (18,7 %). Asimismo, se reporta por primera vez en el género *Ruilopezia* la presencia de sesquiterpenos tipo triquinano derivados del silfiperfol en RL-B. Las diferencias entre los constituyentes de ambos aceites, se atribuye al efecto de la altitud, época de recolección y condiciones climáticas de la zona que influyen directamente en la producción de los metabolitos secundarios volátiles de dichas plantas.

Agradecimientos

Al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes, CDCHTA-ULA (proyecto FA-589-16-08-B) y al programa de apoyo a grupos de investigación del CDCHTA-ULA (ADG: Grupo de Productos Naturales y Química Medicinal-ULA).

Referencias bibliográficas:

- Adams R. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (No. Ed.4). Carol Stream, Illinois (USA): Allured Publ. Corp. 469 p.
- Alarcón L, Peña A, Velazco J, Baptista J, Rojas L., Aparicio R., Usubillaga A. 2015. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ruilopezia bracteosa*. Natural product communications. 10 (4): 655-6.
- Amiel E, Ofir R, Dudai N, Soloway E, Rabinsky T, Rachmilevitch S. 2012. β -Caryophyllene, a Compound Isolated from the Biblical Balm of Gilead (*Commiphora gileadensis*), Is a Selective Apoptosis Inducer for Tumor Cell Lines .Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012 (01): 1-8.
- Aparicio R, Romero M, Rojas L, Khouri N, Usubillaga A. 2001. Composition of the essential oil of four species of *Ruilopezia* from the Venezuela Andes. Flavour and Fragrance Journal. 16(3): 172-174.
- Badillo V. 2001. Lista actualizada de las especies de la familia Compuestas (Asteraceae) de Venezuela. Ernstia. 11 (3): 147-215.
- Bohlmann F, Jakupovic J. (1980) Neue Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe mit anomalen Kohlenstoffgerüst aus *Silphium* arten. Phytochemistry, 19, 259-265.
- Bohlmann F. Research advances in the Compositae. Mabry T, Wagenitz G (Eds). 1990. Chemistry of the Heliantheae (Compositae). New York, p. 1-124.
- Calleja M, Vieites J, Montero T, Torres M, Faus M, Gil A, Suarez A. 2013. The antioxidant effect of β -caryophyllene protects rat liver from carbón tetrachloride-induced fibrosis by inhibiting hepatic stellate

- cell activation. *British Journal of Nutrition*. 109 (1): 394-401
- Cuatrecasas J. 1976. A new sub-tribe in the Heliantheae (Compositae): Espeletiinae. *Phytologia*. 35 (1): 43-61.
- Cuatrecasas J. 1987. Clave Diagnóstica de las Especies de *Ruilopezia* (Espeletiinae, Heliantheae, Compositae). *Anales Jardín Botánico Madrid*. 44 (2): 401-419.
- Davies N. 1990. Gas Chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silica and carbowax 20 M. Phases. *Journal of Chromatography A*. 503. 1-24.
- Figueiredo C, Barroso J, Pedro L, Scheffer J. (2008). Factors affecting volatile and essential oil production in plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 23: 213-226.
- Ghelardini C, Galeotti N, Mannelli L, Mazzanti G, Bartolini A. 2001. Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. 56 (1):387-389.
- Kowalski R. 2008. The chemical composition of essential oils and lipophilic extracts of *silphium integrifolium* Michx. and *silphium trifoliatum* L. rhizomes. *Journal of Essential Oil Research*. 202: 55-259.
- Padilla G, Aldana J, Da Costa F. (2016). Chemical characterization of two morphologically related Espeletia (Asteraceae) species and chemometric analysis based on essential oil-components. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 26: 694-700.
- Pinto S, Leitão G, Oliveira D, Bizzo H, Ramos D, Coelho T, Silva P, Lourenço M, Leitão S. 2009. Chemical composition and antimycobacterial activity of the essential oil from *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia*. *Natural Product Communications*, 4: 1675-167.
- Weyerstahl P, Marschall H, Seelmann I, Jakupovic J. 1998. Cameroonane, prenopsane and nopsane, three new tricyclic sesquiterpene skeletons. *European Journal of Organic Chemistry*, 1998: 1205-1212.
- Usubillaga A, Nakano T. 1979. Kauranoid diterpenes in *Ruilopezia margarita*. *Planta Médica*. 35(4): 331-338.