



**UNAP**



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS**

**CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Hyptis capitata* Jacq  
MEDIANTE PRUEBAS FISICOQUÍMICAS Y CROMATOGRAFÍA DE GASES  
ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR:**

**LLONI PANAIFO CÁRDENAS  
NILDA TAPULLIMA PIÑA**

**ASESOR:**

**Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr.**

**IQUITOS, PERÚ**

**2024**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°023-2024-CGT-FFyB-UNAP**

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 27 días del mes de diciembre del 2024, a horas 9:00, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada **“CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Hyptis capitata* jacq MEDIANTE PRUEBAS FÍSICOQUÍMICAS Y CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS”**, aprobada con **Resolución Decanal N°307-2024-FFyB-UNAP**, presentado por los bachilleres **LLONI PANAIFO CÁRDENAS Y NILDA TAPULLIMA PIÑA**, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante **Resolución Decanal N°194-2024-FFyB-UNAP**, está integrada por:

- **Q.F. LUIS DOMINGO NONATO RAMÍREZ, Dr.** **Presidente**
- **Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.** **Miembro**
- **Q.F. IVONNE NAVARRO DEL AGUILA, Mtra.** **Miembro**
- **Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr.** **Asesor**

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: adecuadamente

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública de la tesis ha sido aprobado con la calificación buena

Estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Siendo las 11:00 se dio por terminado el acto académico

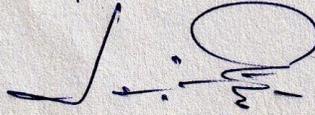
**Q.F. LUIS DOMINGO NONATO RAMÍREZ, Dr.**  
Presidente

**Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.**  
Miembro

**Q.F. IVONNE NAVARRO DEL AGUILA, Mtra.**  
Miembro

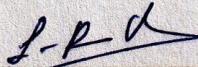
**Ing. CLETO JARA HERRERA, Dr.**  
Asesor

**Jurados y asesores**



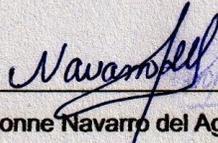
---

**Q.F. Luis Domingo Nonato Ramirez, Dr.**  
**Presidente de Jurado calificador y dictaminador**  
**CQFP: 05652**



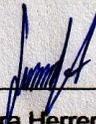
---

**Q.F. Lilliana Ruiz Vásquez, Dra.**  
**Miembro de Jurado calificador y dictaminador**  
**CQFP: 12491**



---

**Q.F. Ivonne Navarro del Aguila, Mtra.**  
**Miembro de Jurado calificador y dictaminador**  
**CQFP: 11601**



---

**Ing. Cleto Jara Herrera, Dr.**  
**Asesor**  
**CIP: 63042**

## 8% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

### Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

### Fuentes principales

- 7%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 5%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

### Marcas de integridad

#### N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Dedico esta Tesis a mi querida madre por su comprensión y sus consejos, que me motivó día a día a seguir estudiando, a mis hermanos, a mi hijo y a aquellas personas que de forma anónima me ayudaron y motivaron a conseguir el objetivo de alcanzar mi anhelada profesión.

***Lloni Panaifo Cárdenas***

Dedico esta Tesis a mis queridas hijas, a mi madre, a mis hermanas y a quienes me alentaron para seguir adelante hasta lograr mi anhelada profesión

***Nilda Tapullima Piña***

## AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestro agradecimiento a Dios, por este trabajo, ya que, gracias a él, todos tenemos la oportunidad de progresar día a día mediante sus constantes bendiciones.

También, a la UNAP nuestra Alma Mater, por contar con docentes dispuestos a compartir de manera abierta sus conocimientos y de manera especial a los que conforman el plantel docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Finalmente, agradecemos nuestros asesores Ing. Julio Arce y Ing. Cleto Jara, por sus orientaciones durante todo el proceso de investigación en el campo de los aceites esenciales para comprender la valiosa importancia de este estudio, que finalmente logramos concluir.

## ÍNDICE GENERAL

Portada	i
Acta de sustentación	ii
Jurados y asesores	iii
Resultado de reporte de similitud	iv
Agradecimiento	vi
Índice General	vii
Índice de tablas	ix
Índice de figuras	x
Resumen	xi
Abstract	xii
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Antecedentes</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Bases teóricas</b>	<b>6</b>
<b>1.2.1. Especie en estudio</b>	<b>6</b>
<b>1.2.2. Aceites esenciales</b>	<b>8</b>
<b>1.2.3. Biogénesis de los aceites esenciales terpenoidales</b>	<b>10</b>
<b>1.2.4. Método de obtención de los aceites esenciales</b>	<b>13</b>
<b>1.2.5. Parámetros fisicoquímicos</b>	<b>15</b>
<b>1.2.6. Determinación de componentes del aceite esencial</b>	<b>18</b>
<b>1.3. Definición de términos básicos</b>	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES</b>	<b>22</b>
<b>2.1. Formulación de la hipótesis</b>	<b>22</b>
<b>2.2. Variables de estudio y su operacionalización</b>	<b>22</b>
<b>2.2.1. Variables de estudio</b>	<b>22</b>
<b>2.2.2. Operacionalización de variables</b>	<b>23</b>
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA</b>	<b>24</b>
<b>3.1. Tipo de estudio</b>	<b>24</b>
<b>3.2. Diseño muestral</b>	<b>24</b>
<b>3.3. Procedimientos de recolección de datos y análisis de datos</b>	<b>25</b>
<b>3.3.1. Procedimientos de recolección de datos</b>	<b>25</b>
<b>3.3.2. Determinación de los parámetros fisicoquímicos</b>	<b>28</b>
<b>3.3.3. Análisis por cromatografía de gases espectrómetro de masas GC-MS</b>	<b>30</b>
<b>3.4. Aspecto ético</b>	<b>31</b>

<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS</b>	32
<b>4.1. Rendimiento del aceite esencial</b>	32
<b>4.2. Características fisicoquímicas</b>	32
<b>4.3. Cromatografía del aceite esencial de <i>Hyptis capitata</i></b>	32
<b>CAPÍTULO V: DISCUSIÓN</b>	39
<b>CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES</b>	45
<b>CAPÍTULO VI⇒ RECOMENDACIONES</b>	46
<b>CAPÍTULO VI⇒ REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	47
<b>ANEXOS</b>	58
<b>Anexo 1. Recolección de la muestra</b>	58
<b>Anexo 2. Certificado de identificación de la planta</b>	59
<b>Anexo 3. Cálculo para hallar la densidad del aceite</b>	60
<b>Anexo 4.- Cálculo del rendimiento del aceite esencial</b>	61
<b>Anexo 5. Análisis cromatográfico</b>	62

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Detección de monoterpenos en placas de cromatografía de capa fina (TLC) (75)	19
<b>Tabla 2.</b> Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de <i>Hyptis capitata</i>	32
<b>Tabla 3.</b> Componentes del aceite esencial de las inflorescencias de <i>Hyptis capitata</i>	33
<b>Tabla 4.</b> Familia química y usos de los componentes	34
<b>Tabla 5.</b> Número de componentes por familia	36
<b>Tabla 6.</b> Componentes de mayor abundancia porcentual	36
<b>Tabla 7.</b> Componentes mono y sesquiterpenos	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Biosíntesis de monoterpenos (67)	11
<b>Figura 2.</b> Biosíntesis de sesquiterpenos (67)	11
<b>Figura 3.</b> Biosíntesis de los aceites esenciales arénicos (64)	12
<b>Figura 4.</b> Extracción de aceites esenciales con solventes (64)	14
<b>Figura 5.</b> Diagrama de bloques de obtención del aceite esencial <i>Hyptis capitata</i> y caracterización	25
<b>Figura 6.</b> Cromatograma del aceite esencial de las inflorescencias de <i>Hyptis capitata</i>	33

## RESUMEN

*Hyptis capitata* es una planta de la familia Lamiaceae usada en la medicina folclórica para combatir infecciones causadas por hongos y contra insectos nocivos, la flor materia de nuestro estudio posee un olor *sui-generis*. El propósito del estudio fue extraer el aceite esencial, caracterizar por medición de sus propiedades fisicoquímicas y determinar los componentes químicos por análisis cromatográfico. La muestra fue recolectada en el Caserío de Uchpagallo a orillas del río Amazonas, distrito de Belén, Maynas, Loreto. El aceite se obtuvo por hidrodestilación, se estimaron los parámetros fisicoquímicos y la identificación de los componentes mediante análisis GC-MS. Se obtuvo un rendimiento de 0,164 %, densidad 0,8646 g/mol, índice de refracción 1,462. El Cromatograma mostró la presencia de 43 componentes, las más abundantes fueron el  $\beta$ -linalol 30,95 %,  $\alpha$ - Pineno 14,13 %, Nonano 10,62 %,  $\beta$ -Cariofileno 7,49 % y  $\alpha$ -Copaeno 5,62 %. La naturaleza de los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial sugiere usarse en la línea de la industria de perfumes, cosméticos y en la industria farmacéutica.

**Palabras clave:** *Hyptis capitata*, caracterización, aceite esencial, pruebas fisicoquímicas, cromatografía, espectrometría.

## ABSTRACT

*Hyptis capitata* is a plant of the Lamiaceae family used in folk medicine to fight infections caused by fungi and against harmful insects, the flower in our study has a sui-generis odor. The study aimed to extract the essential oil, characterize it by measuring its physicochemical properties, and determine the chemical components by chromatographic analysis. The sample was collected in the hamlet of Uchpagallo on the banks of the Amazon River, district of Belen, Maynas, Loreto. The oil was obtained by hydrodistillation, the physicochemical parameters were estimated and the components were identified by GC-MS analysis. A yield of 0.164 %, density 0.8646 g/mol, refractive index 1.462 was obtained. The chromatogram showed the presence of 43 components, the most abundant were  $\beta$ -linalool 30.95 %,  $\alpha$ -Pinene 14.13 %, Nonane 10.62 %,  $\beta$ -Caryophyllene 7.49 % and  $\alpha$ -Caopaene 5.62 %. The nature of the secondary metabolites present in the essential oil suggests that they should be used in the perfume, cosmetics, and pharmaceutical industries.

**Keywords:** *Hyptis capitata*, characterization, essential oil, physicochemical tests, chromatography, spectrometry.

## INTRODUCCIÓN

Entre las plantas que tienen el mayor número de géneros es *Hyptis* (1), que se caracterizan por tener tricomas glandulares donde se halla el aceite esencial que emana un aroma de fuerte intensidad (2-4). Existen más de 300 especies de este género (5), mencionaremos algunas de las especies que tienen una historia etnobotánica conocida, entre las que se destacan *Hyptis spicigera* (6), *Hyptis obtusiflora* (7), *Hyptis suaveolens* (8,9), *Hyptis brevipes* (10), *Hyptis martiusii* (11), *Hyptis mutabilis* (3), *Hyptis crenata* (12), *Hyptis passerine* (13), *Hyptis marruboides* (14), *Hyptis verticillata* (15), e *Hyptis capitata* (16).

Como la mayoría de especies de este género producen aceites esenciales, se ha realizado estudios de aislamiento y cuantificación de sus componentes en diferentes partes del mundo, de hojas y tallos de *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. se extrajo aceite esencial (17), y en otro estudio solo de las hojas (18), varios estudios muestran que se extrajo aceite esencial de las hojas de *Hyptis suaveolens* (19-23), de las hojas y flores (24), de las partes aéreas (25,26), de inflorescencias (27), de las hojas e inflorescencia de *Hyptis brevipes* (Poit.) (10), de hojas y ramas de *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. (28), de hojas de *Hyptis martiusii* Benth. (11), de las hojas de *Hyptis carpinifolia* (2), de inflorescencias de *Hyptis conferta* (27), de hojas e inflorescencias de *Hyptis dilatata* (27), de hojas de *Hyptis brachiata* (27) y de las hojas e inflorescencia de *H. capitata* Jacq. (29).

Se ha encontrado que el aceite esencial de estas especies tienen diferentes efectos farmacológicos, como antimicrobiano (25,26), antibacteriano (24), antioxidante (26,29), anticancerígeno (23), como repelente de insectos voladores (30), larvicida (22,29), como gastoprotector y cicatrizante de úlceras (11), inhibe la germinación de las urediniosporas de *Phakopsora pachyrhizi* (14), para la ictiosis (18) y como antiinflamatoria que es coherente con el uso antiinflamatorio en la medicina popular (28).

*H. capitata* es una planta herbácea anual perenne que crece en zonas tropicales y subtropicales, nativa de América tropical (31), es usada en la medicina tradicional las diferentes partes de la planta en varios países del mundo para el tratamiento

de diferentes enfermedades (9). Etnomedicinalmente se usa para tratar trastornos respiratorios y gastrointestinales (7,32,33), herida abierta (9,34-38), heridas internas (39), gastritis (40), úlcera (38), como antídoto contra la intoxicación alimentaria por los bentianoúlcera (36), estreñimiento (38), trastornos digestivos (9), paludismo (34), dolores de articulaciones y óseos (41), afecciones bronquiales, asma, resfriados (38,42-44), mordedura de serpiente (45), fiebre (9,33,37,43,44), fiebre intermitente (35), enfermedad fúngica (42), diarrea negra (32,35), dolor de estómago (35, 37,46), antibacteriano, anticancerígeno (32,47), dolor de cabeza (33,37), reumatismo (33), diabetes (37), hepatitis, úlcera (33) y problemas del oído (40).

Toda esta información revela la importancia que tiene *H. capitata* como medicina tradicional de los pueblos nativos en el mundo por el uso múltiple y para el tratamiento de diversas afecciones (44,48-50). Además, de haberse demostrado su actividad antioxidante, anticancerígena, antimicrobial y herbicida (51). Sin embargo, en el Perú no se ha encontrado información relevante relacionada a esta planta, a pesar de su trascendencia a nivel mundial. Pero existe mucha variabilidad en cuanto a la producción de los metabolitos secundarios a pesar de ser la misma especie, si se desarrollan en diferentes lugares (2).

A pesar de que el aceite esencial de *H. capitata* ha sido estudiado por sus diversas propiedades farmacológicas como antimicrobiano, antioxidante, anticancerígeno y herbicida, el estudio sobre las características fisicoquímicas y cromatográficas es muy limitada del aceite esencial de *H. capitata* de la Amazonia peruana, lo que limita su posible aplicación en la industria farmacéutica y cosmética.

Motivo por el cual se ha propuesto el estudio de *H. capitata* de la amazonia peruana, cuyo objetivo fue extraer el aceite esencial, se caracterizó mediante el análisis cromatográfico por GC-MS y por medición de los características fisicoquímicos, con la finalidad de dar a conocer a la comunidad científica la información de los componentes del aceite esencial extraído de las inflorescencias de esta especie, que quimiotaxonómicamente experimenta la presencia de un relevante quimiotipo por su abundancia de  $\beta$ -linolol.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes

En el 2022, se estudió el aceite esencial extraído de hojas e inflorescencias maduras de *H. capitata* recolectada en el distrito de Kollam, Kerala, India. La extracción del aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación en un aparato tipo Clevenger y la identificación de sus componentes fue por GC-MS. En hojas encontraron 19 componentes los más importantes fueron: el 1-Octen-3-ol 34,08 %, linoleato de metilo 17,20 %,  $\delta$ -cadineno 7,24 %, germacreno D 11,16 % y  $\beta$ -Cariofileno 5,24 % los demás componentes están por debajo de 3%. En las inflorescencias encontraron 44 componentes siendo los principales:  $\delta$ -cadineno 14,68 %, linalol 6,99 %,  $\beta$ -acoradieno 5,21 %, 1-octen-3-ol 6,46 %, n-octil-2-etilbutanoato 4,53 %,  $\beta$ -cariofileno 3,48 %,  $\delta$ -amorfenol 3,61 %, n-decanal 3,53 %, linoleato de metilo 3,34 %,  $\delta$ -selineno 3,21 %, prenil limoneno 3,16 % y  $\alpha$ -copaeno 3,05 %. El estudio concluye señalando que los aceites esenciales de hojas e inflorescencias mostraron notables propiedades antioxidantes y larvicida, que podrá ser de mucha utilidad en el futuro como fuente de medicamentos y larvicida en el control de mosquitos (29).

En el 2022, se estudió la toxicidad y actividad anticancerígena del extracto etanólico de *H. capitata* Jacq. de una muestra recolectada en el pueblo de Bungapati, Distrito de Luwu Norte, Sulawesi del Sur Indonesia. El extracto etanólico fue separado en dos porciones, la primera porción fue analizada directamente por GC-MS, la segunda porción fue sometida a fraccionamiento por cromatografía líquida al vacío, obtuvieron varias fracciones y la fracción F1 fue la que tuvo mayor actividad biológica y fue analizada por GC - MS. En el extracto etanólico fue identificado 27 componentes las más abundantes fueron: el éster etílico del ácido hexadecanoico (17,12 %), fitol (11,17 %), 9, 12,15 - octadecatrienoato de etilo (12,34 %), ácido heptadecanoico, escualeno (9,89 %), y 15 - metil - éster etílico (8,18 %).

Mientras que en la fracción F1 fue identificado 12 componentes y los de mayor abundancia fueron el 2, 2,4-trimetil-3-(3, 8, 12,16 - tetrametil - heptadeca - 3, 7, 11,15- (51,67 %), ácido trans-13-octadecenoico, éster metílico (15,30 %), éster metílico del ácido hexadecanoico (7,98 %), A-amirina (6,17 %),

éster etílico del ácido hexadecanoico (5,23 %) y el ácido heptadecanoico, 16-metil-éster metílico (4,98 %). El autor concluye que el extracto etanólico puede desarrollarse como candidato anticancerígeno (47).

En el 2021, se evaluó la actividad antimicrobial de *H. capitata* Jacq, la muestra fue recolectada en el hábitat natural del distrito de Thiruvananthapuram, Kerala, India. Usaron el extractor Soxhlet y metanol con los que obtuvieron el extracto. Por análisis cualitativo identificaron diez tipos de metabolitos secundarios: alcaloides, cumarinas, flavonoides, glucósidos, fenoles, quinonas, esteroides, saponinas, taninos y terpenoides. El autor señala que el extracto metanólico de las hojas de *H. capitata* Jacq. posee actividad antibacteriana, pero no mostró actividad antifúngica. Además, enfatizan que la actividad antibacteriana puede deberse a la presencia de fenoles, flavonoles y taninos, entonces el uso etnobotánico que le dan los curanderos a esta planta para la cicatrización de heridas se debe a la sinergización de los metabolitos señalados (52).

En el 2021, se evaluó la actividad larvicida de *H. capitata* Jacq. con una muestra recolectada en el mismo hábitat natural del distrito de Thiruvananthapuram, Kerala, India. Usaron el extractor Soxhlet y metanol con los que obtuvieron el extracto. La identificación de los componentes del extracto fue realizada por análisis GC-MS y actividad larvicida fue realizado a diferentes concentraciones del extracto contra las larvas de *Culex quinquefasciatus*. Identificaron un total de nueve componentes siendo los de mayor abundancia: metil commate-D 55,50 %, fitol 16,51 %, escualeno 13,28 % y acetato de alfa tocoferilo 5,60 %. La prueba de actividad larvicida fue positiva, los autores señalan que, el extracto metanólico de *H. capitata* Jacq. por contener componentes terpenoidales como diterpenos y triterpenos en mayor cantidad podrían tener actividad larvicida y estos componentes constituirán una alternativa de uso futuro frente a insecticidas de síntesis (53).

En el 2017, se estudió el sistema secretor de *H. capitata* Jacq. las muestras de hojas fueron recolectadas en zonas de Agrobosque selvático en la provincia de Jambi, Sumatra, Indonesia. Las secesiones fueron analizadas en un cromatógrafo de gas-espectrometría de masas (GC-MS). Identificaron 30 componentes, de los

cuales los más abundantes fueron: L-limoneno 18,69 %, dicloroacetamida 13,30 %, etenol 10,02 %, acetol 4,57 %, ácido acético 4,46 %, mequinol 4,40 %, 1H- indol 3,74 %, 4-etenil-2-metoxifenol 3,50 %, 3-metilindol 3,45 %. El autor concluye que *H. capitata* Jacq. tiene dos tipos de estructuras secretoras, tricomonas glandulares y células idioblásticas, las tricomonas glandulares contienen terpenoides y alcaloides, mientras que las células idioblásticas contienen compuestos lipofílicos. Atribuye al limoneno, el eugenol, el d-nerolidol, la cumarina y el neofitadieno, actividad cicatrizante de heridas o infecciones y actúan como agentes antibacterianos (39).

En el 2013, se estudió los aceites esenciales de tres especies de plantas: *Hyptis brevipes*, *Hyptis rhomboidea* e *Hyptis suaveolens*, las muestras de las partes aéreas de las tres especies fueron recolectadas en Sanya, provincia china de Hainan. Los aceites fueron extraídos por hidrodestilación en el aparato tipo Clevenger, el análisis de los aceites fue realizado por cromatografía- espectrometría de masas. En *H. suaveolens* encontró 62 componentes, 46 conocidos siendo los más significativos por su abundancia el Cariofileno 16,17 %, 1,8- cineol (eucaliptol) 10,33 %, óxido de Cariofileno 8,36 %, (-)-Isocariofileno y 26 componentes en forma de trazas. En *H. rhomboidea* encontró 35 componentes conocidos, siendo las más significativos Hidroxitolueno butilado 29,90 %, metil eugenol 7,79 %, (-) Isocariofileno 7,48 %, (-) -  $\beta$ -cadineno 7,11 %, y Borneol 6,03 % y 27 trazas y en *H. brevipes* se encontró 32 componentes conocidos, siendo los más significativos el 3- alil guayacol con 62,67 %, metil Eugenol con 11,40 %, Cariofileno 9,72 % y óxido de Cariofileno 2,58 % y 30 en forma de trazas. El estudio concluye que los componentes encontrados en estos aceites esenciales pueden utilizarse con fines biológicos y terapéuticos (33).

En el año 1988, se estudió los principios citotóxicos de *H. capitata* Jacq. y las estructuras de dos nuevos triterpenos, el ácido hiptático A y B. Las partes aéreas de la planta recolectada en Shan-De-Mun, Taiwán. Para la extracción de esta muestra usó n-hexano, la porción soluble en metanol fue separado por cromatografía de columna sobre silicagel y posteriormente los compuestos puros fueron aislados por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para determinar sus estructuras usaron análisis espectral de  $^1\text{H}$  NMR. Separaron cinco

compuestos, ácido hipostático-B (ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,19 $\alpha$ ,24-tetrahidroxiurs-12-en-28-oico), el ácido hipostático-A (ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,24-trihidroxiolean-12-en-28-oico), ácido tormenténico (ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,19 $\alpha$ -trihidrouyurs-12-en-28-oico), ácido 2 $\alpha$ -hidroxiursólico (ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihidroxiurs-12-en-28-oico), y Ácido maslínico (ácido 2 $\alpha$ .3 $\beta$ -dihidroxioleano-12-en-28-oico). El autor concluye que el ácido hiptático-A y el ácido 2 $\alpha$ -hidroxiursólico demostraron una citotoxicidad significativa en células tumorales humanas de colon HCT-8 in vitro (54).

## 1.2. Bases teóricas

### 1.2.1. Especie en estudio

#### A) *Hyptis capitata* Jacq.

##### A.1. Identificación taxonómica

Según el sistema de clasificación taxonómica de Arthur Cronquist (55), la especie vegetal de nuestro estudio corresponde a la clasificación siguiente:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Lamiales
Familia	: Lamiaceae
Género	: <i>Hyptis</i>
Especie	: <i>Hyptis capitata</i> Jacq.
Nombre vulgar	: Cabezona, Botanisan, Knobeed

##### A.2. Descripción botánica

Es un arbusto anual de tallo erecto cuadrado, que se vuelve leñoso con la edad, haciéndose hueco, alcanza hasta 2 m de altura (31), se agrupa formando una comunidad vegetal, posee hojas opuestas a lo largo del tallo ampliamente espaciado con márgenes aserrados y emana un olor a menta cuando son

aplastadas las glándulas donde se halla el aceite esencial. Flores blancas agrupadas densamente formando racimos, inflorescencia con eje principal indeterminado y determinado (ramificado cimosamente), ejes laterales siempre congestionados dentro de pseudo verticilos, terminal o axilar. Las flores son bisexuales con 5 sépalos, connato, cáliz radial a bilateral más o menos tubular, 5 pétalos connatos usualmente bilabiado, los lóbulos imbrincados, 4 estambres, granos de polen tricolpato con 3 aberturas largos y ranuradas. El fruto es una drupa con 1 ó 4 huecos es indehiscente. Las flores en forma de cabezas surgen de las axilas de las hojas (2, 4, 9,56-58).

### **A.3. Distribución ecológica**

Se encuentra en el Asia, Hawái, México, América del Sur y Centro América, Caribe, Oceanía, naturalizado en Australia, Estados Federados de Micronesia, Polinesia Francesa, Islas Samoa y Salomón, es nativa de América Central, Sudamérica y del Caribe (39,56,57). En el Perú está difundida en la Selva Baja, cerca de las zonas aluviales creciendo junto con las malezas.

### **A.4. Usos e información etnobotánica**

En Ecuador es usado contra infección causado por hongos (48), para tratar fiebres, desordenes digestivos y heridas abiertas, los estudios farmacológicos confirman que esta planta muestra actividad antioxidante, antibacterial, antiviral y anticancerígeno (51), la decocción de hojas y raíces son usados para aliviar la tos y curar heridas por los Maranaos musulmanes en Filipinas (49), asimismo, las raíces son calentadas y se huelen para aliviar la fiebre y los espasmos entre la comunidad Ayta de Bataan, Filipinas (44), también, el tribu Manobo en Filipinas, la decocción de las hojas o la savia de la hoja se usa para curar resfriados, malaria, tos, diarrea, dolor de estómago, fiebre, dolor abdominal por gases y flatulencia (50).

### 1.2.2. Aceites esenciales

Son las esencias que posee una planta. En el medievo, se creía que eran esenciales para la vida lo que les hizo generar este apelativo hasta la actualidad (59). Son sustancias que por lo general son olorosos obtenido de las partes de los vegetales, usando diferentes técnicas de extracción (60,61), en su mayoría son sustancias líquidas de gran volatilidad debido a su alta presión de vapor, sensibles al olfato que es uno de los sentidos a través del cual se los capta (61,62), tiene baja densidad, los aceites esenciales son productos olorosos que los percibamos a través de los receptores olfativos de naturaleza proteínicos que se hallan en el olfato que son captados, existe varios centenares proteínicos distintos en multiplicidad que nos permite ser sensibles a millones de olores distintos que se producen en la naturaleza (63). La psicología de la olfacción se basa en una paradoja, aunque el cerebro detecta cada olor como específico, los receptores olfativos no tienen una especificidad que se puede comparar a esta, ello se debe a que cada una de las proteínas receptoras sirven para la fijación de moléculas odoríferas que se ajustan cada una de ellas en su propio lugar sobre dicha proteína (63).

Centenares de formas poseen las cavidades receptoras, las distintas células receptoras tienen unos crecimientos denominadas antenas donde las membranas plasmáticas contienen proteínas específicas para el tipo de recepción dada. La percepción del olor tiene un significado importantísimo en la vida de una serie de organismos ya sean invertebrados o vertebrados, los insectos para comunicarse utilizan el lenguaje de los olores, o sea unas sustancias especiales secretadas por ellas denominados feromonas (64), el olor y sabor constituyen los sentidos químicos y es el medio dominante a través del cual los seres consiguen información sobre el mundo en el cual viven, además, el olor que disponen las plantas es una importante fuente de información (65).

Si los aceites esenciales se caracterizan por tener variados olores, cuando captamos un olor, se produce una serie de fenómenos complejos, parte desde la liberación de las moléculas volátiles desde diversas fuentes y su exhalación, estas son detectadas por los receptores nasales y finalmente es procesado y el

resultado de este proceso es la formación de una representación mental del correspondiente olor que puede dar lugar a la rememoración de un recuerdo que constituye la memoria olfativa que se conoce como recuerdo proustiano o recuerdo involuntario, pues para todos nosotros un olor nos hace recordar algo que pasó en el tiempo (63), por tener innumerable actividad biológica hoy se conoce aceites esenciales que protegen contra amenazas medio ambientales (62), alivian el cuerpo y calman la mente, con ello aparece la práctica de la aromaterapia, una nueva forma de tratamiento de las enfermedades de origen psíquico (59,61).

### **Propiedades físicas de los aceites esenciales**

A temperatura ambiente son líquidas, tienen alta presión de vapor, alto índice de refracción, baja densidad, además, se puede distinguir en ellos 3 características: Carácter (dado por su olor *sui-generis*), Intensidad (la fuerza como se propaga en el medio ambiente) y Persistencia (cuanto tiempo dura desde su propagación excitando el olfato) (60,65). Son solubles en líquidos de baja polaridad: éter de petróleo, n-hexano, éter dietílico, las hay solubles en ácido acético y en alcohol, pero también en grasas, ceras y aceites vegetales, así como insolubles en líquidos de alta polaridad como el agua (60, 65,66). Además, la gravedad específica varía entre ellos al igual que el índice de refracción y la rotación óptica (66).

### **Composición química de los aceites esenciales**

Se componen de sustancias como los monoterpenos ( $C_{10}$ ) y sesquiterpenos ( $C_{15}$ ), también hay aceites esenciales de naturaleza arénica (fenólica) por esta razón existen vías de formación como la vía de los mevalonatos a través del cual se forman los aceites esenciales que contienen mono y sesquiterpenos y aquellos que se forman por la vía de los shikimatos como son los fenilproponoides de los cuales se derivan los aceites esenciales de naturaleza fenólica como eugenol, safrol, vainillina, etc (60).

Los monoterpenos con estructuras de 10 átomos de carbono son derivados de 2 moléculas de isopreno y por lo menos contienen un enlace doble, pueden tener una estructura lineal acíclica, monocíclica, bicíclica y policíclica, van acompañados de aldehídos, alcoholes, éteres, cetonas, derivados oxigenados y ésteres (60,61).

Los sesquiterpenos estructuralmente están formados por 15 átomos de carbono es decir formado por 3 unidades isoprénicas, son menos volátiles que los monoterpenos, pero por ser de volatilidad menor actúan como estabilizadores de los monoterpenos. Pueden ser monocíclica, bicíclica, tricíclica y hasta tetracíclica (60,61).

Los aceites esenciales de la serie arénica (aromático) son menos frecuentes, son derivados del fenilpropano, algunas veces van acompañados de moléculas C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, provienen del metabolismo de ácido shikimico (60).

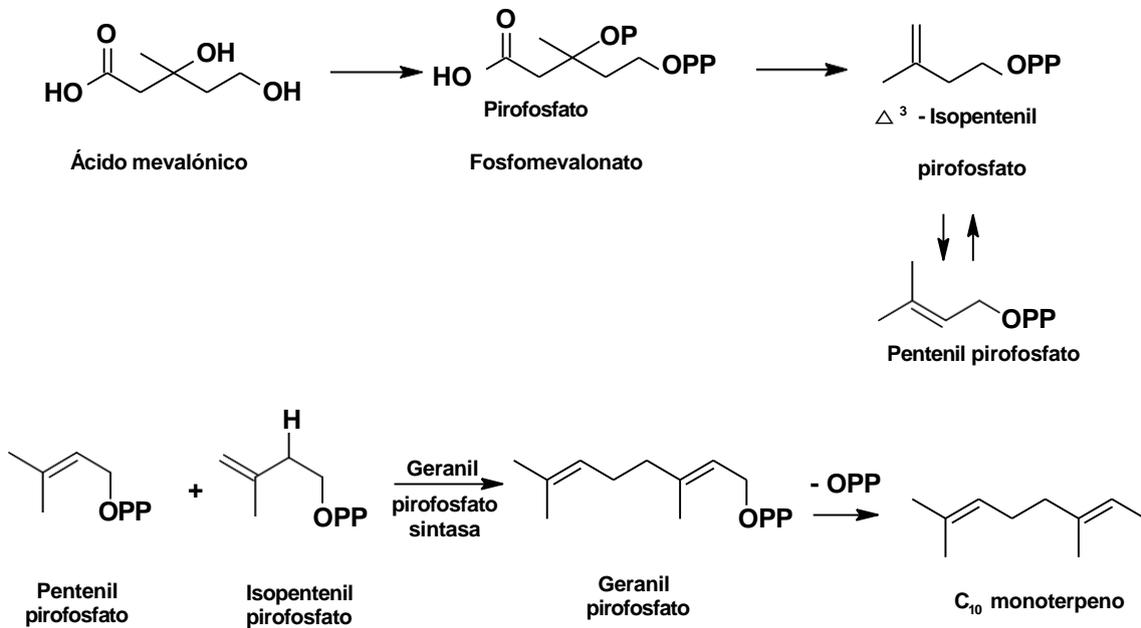
Pero también existen compuestos de orígenes diversos que contienen pequeñas cantidades de aldehídos, alcoholes, compuestos acíclicos no terpénicos o cetonas, tienen pesos moleculares muy bajos, además, el aceite esencial puede contener compuestos de mayor peso molecular como las cumarinas, homólogos superiores de los fenilpropanos (60).

### **1.2.3. Biogénesis de los aceites esenciales terpenoidales**

#### **A. Mecanismo de formación del mono y sesquiterpenos**

Para la formación de estos 2 terpenoides se parte del ácido mevalónico que al reaccionar con el ácido adenosintrifosfato se transforma en pirofosfato mevalonato, luego se transforma en isopentenil pirofosfato que se isomeriza y forma el pentenilpirofosfato y por acción del geranilpirofosfato sintetasa ambos se adicionan dando lugar al geranilpirofosfato que a la pérdida del pirofosfato se transforma en un monoterpeno de estructura de C<sub>10</sub> (ver figura 1).

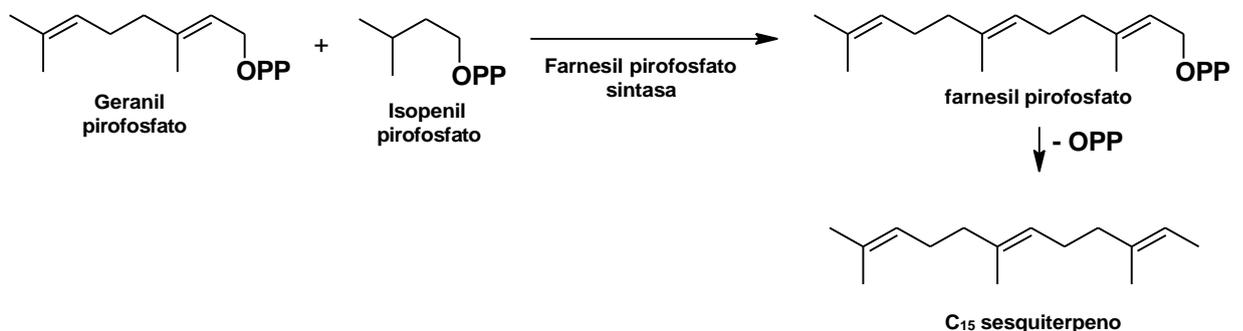
Para formar el sesquiterpeno el geranilpirofosfato reacciona con el isopentenil pirofosfato, que por reacción del farnesil pirofosfato sintetasa da lugar al farnesil pirofosfato esto al perder el pirofosfato se transforma en un sesquiterpeno C<sub>15</sub> (ver figura 2) (67).



**Figura 1.** Biosíntesis de monoterpenos (67)

Reacción de isómeros isopentenil y pentenil pirofosfato al sufrir un reacomodo forman el geranil pirofosfato (67).

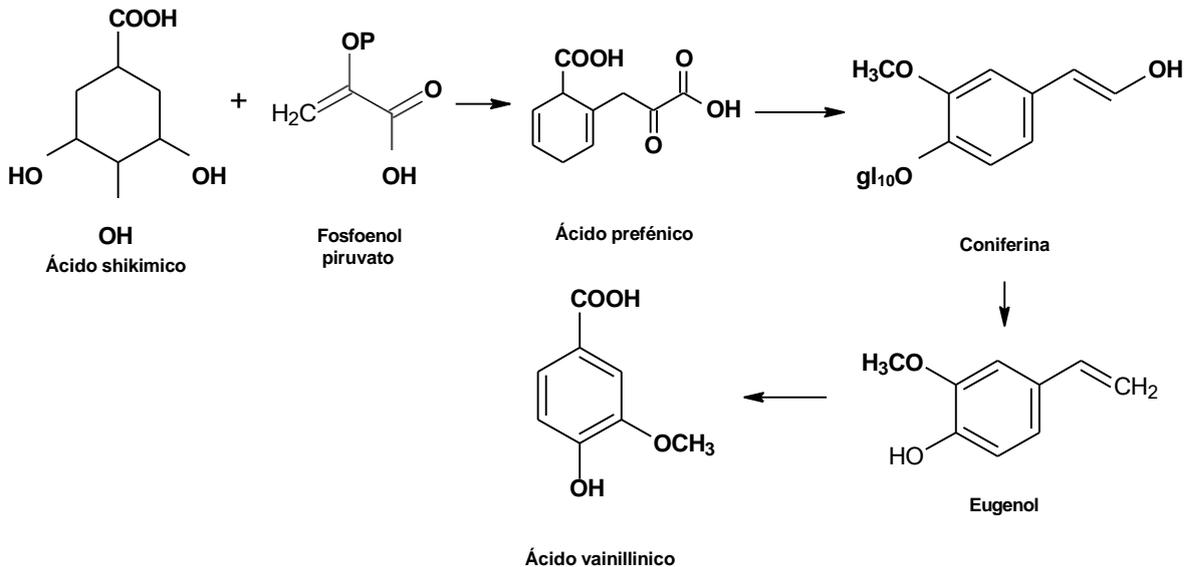
La formación del sesquiterpeno sigue el camino siguiente:



**Figura 2.** Biosíntesis de sesquiterpenos (67)

## B. Mecanismos de formación de los aceites esenciales arénicos

Parte del ácido shikímico que por reacción con el fosfoenol piruvato da ácido prefénico precursor de los arénicos al aumentar un doble enlace a los 2 ya existentes hasta formar síntesis con el eugenol y otras como Safrol, vainillina, etc. (64).



**Figura 3.** Biosíntesis de los aceites esenciales arénicos (64)

## C. Localización de los aceites esenciales

Están presentes en las hojas, flores, frutos, semillas, corteza, tallos, raíces, rizomas de los órdenes Magnoliales, Laurales, Rutales, Asterales, Lamiales, Santalales, Rosales, etc (60,62).

## D. Grupos funcionales de los aceites esenciales

Hay ocho grupos funcionales en los constituyentes de los aceites esenciales tales son, alcoholes, aldehídos, alquenos, cetonas, ésteres, éteres, fenoles y polifenoles (59).

#### **1.2.4. Método de obtención de los aceites esenciales**

Los métodos para extraer los aceites esenciales antiguos y nuevos a pesar de los cambios surgidos en el tiempo se reducen a tres fundamentales: Destilación, extracción con solventes y expresión (65).

##### **A) Método de expresión**

En este método se ejerce presión física sobre la fuente natural un fruto en cuyo pericarpio se halla el aceite esencial que generalmente es un cítrico, esta presión física se ejerce sobre el material de la planta se denomina estrujado, comprimido, exprimido. Por ejemplo, al exprimir un cítrico lo que se va hacer es romper las glándulas donde se halla almacenada el aceite esencial, con un estrujador y una esponja se puede obtener el aceite esencial (60).

También hay el método de expresión en prensas hidráulicas o con el procedimiento antiguo de las agujas en cáscaras cortadas, estos se hacen propiamente en un embudo que posee 150 agujas de latón de 1cm de longitud aproximadamente (68).

##### **B) Por destilación**

###### **Destilación seca**

Es un proceso pirolítico en el que se somete las maderas a una degradación térmica, pero en ausencia de oxígeno, motivo por el cual en el equipo de pirolisis debe estar circulando permanentemente nitrógeno para que no se produzca combustión es un método usado para extraer el aceite esencial de madera como pino (60).

###### **Arrastre de vapor**

La materia vegetal se encuentra sobre un fondo perforado de un recipiente el vapor entra al recipiente desde un caldero con una tensión adecuada, este método no puede ser aplicable a los pétalos de una rosa (68), con este

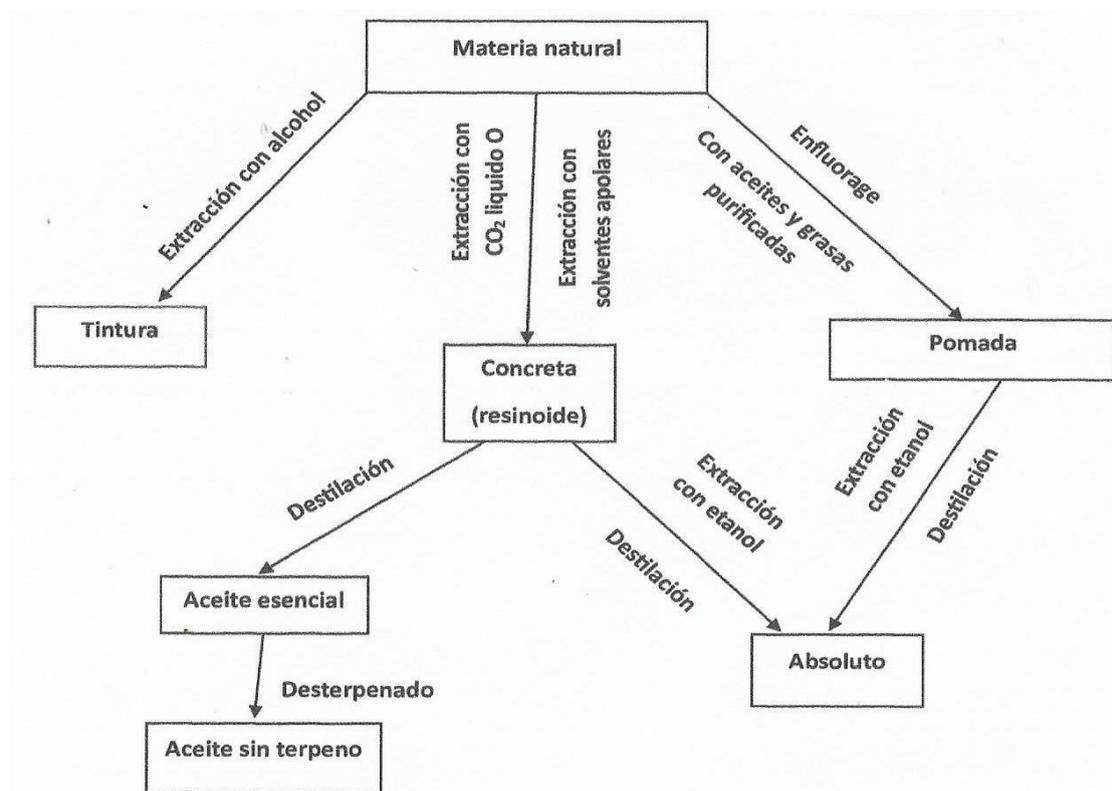
procedimiento el vapor de agua quita el aceite esencial desde la zona intersticial del órgano de la planta donde se halla el aceite esencial (60).

### Por hidrodestilación

Se puede realizar en el laboratorio en el aparato de Clevenger o en el de Karlsruhe en este método, tanto el material de arrastre (agua) como el material vegetal están juntos en el mismo recipiente (60).

### C. Extracción con solventes

El proceso de extracción se describe en el esquema de la figura 4 para extraer aceites esenciales como ingrediente de perfumes utilizando solventes (64).



**Figura 4.** Extracción de aceites esenciales con solventes (64)

La extracción con solventes es mediante la utilización de éter de petróleo, éter dietílico, n-hexano, benceno, diclorometano, estos 2 últimos resultan ser muy tóxicos, recientemente se ha descubierto un método de utilizar como solvente dióxido de carbono gaseoso que al llevarse a compresión se vuelve líquido (69), además, al descomprimir para volverse gaseoso arrastra con fuerza al aceite

esencial contenido en el material vegetal, esta técnica se conoce como el método de los fluidos supercríticos (65,69).

Finalmente, el método de enflourage, método antiguo usado en Egipto para extraer aceites esenciales o ingredientes de perfumes del material de plantas y exudado. En este método, el material vegetal se pone en contacto íntimo con la grasa purificada. El aroma se propaga en el seno de la grasa y después la grasa puede ser derretida y filtrada para remover las materias sólidas, cuando se enfría la grasa forma una pomada, la pomada contiene los principios olorosos, pero no es la forma adecuada de obtenerla porque la grasa se rancia para lo cual se extrae con alcohol por destilación lo que produce el absoluto (65).

### **1.2.5. Parámetros fisicoquímicos**

La medición de sus parámetros fisicoquímicos es importante porque caracteriza a todo aceite esencial en función de las propiedades de cada una de los componentes que posee, luego de obtenido el aceite esencial se deshidrata con sulfato de sodio anhidro, se filtra, se anota el olor (70), color y se procede a las determinaciones siguientes.

#### **Densidad**

La forma de las moléculas de un aceite esencial hace que tengan una densidad variable, esta propiedad es la relación entre la masa y el volumen que ocupa. Por lo general estas moléculas son mono y sesquiterpenos. La densidad de líquidos varía muy poco con cambios de temperatura y volumen (68,71).

#### **Índice de refracción**

Para su medición se utiliza el refractómetro ABBE, con baño de temperatura constante. En el refractómetro, se cumple el concepto de la refracción de la luz sobre un medio, es decir se desvía acercándose o alejándose de la perpendicular a la superficie de separación de los 2 medios. La relación trigonométrica de los

senos del ángulo incidente y del refractado se llama índice de refracción (n) y es la reacción siguiente:

$$n = \frac{\sin i}{\sin r}; \quad \text{donde } \begin{cases} i = \text{ángulo de incidencia} \\ r = \text{ángulo de refracción} \end{cases}$$

Si uno de los medios es el aire y la luz pasa de la otra sustancia al aire, la reacción de los senos es el índice de refracción de la sustancia, el índice de refracción de una sustancia depende de varios factores: temperatura, naturaleza química de la sustancia, longitud de onda de la luz usada y composición de las sustancias cuando el medio es una disolución (59, 71,72). El equipo ABBE consta de un ocular, un comando compensador de los prismas de AMICI, unificación del soluto y entrada de agua de refrigeración, un comando a través del cual se mueve la escala (73).

### **Razón para determinar la densidad y el índice de refracción.**

Cuando se determina la densidad y el índice de refracción de un aceite esencial, los valores encontrados nos revelan la naturaleza de los componentes que posee el aceite esencial, si la densidad es menor de 0,9 g/mL y su índice sea menor de 1,47 indica que contiene alto porcentaje de compuestos alifáticos agrupados linealmente o de hidrocarburos terpénicos, por el contrario si la densidad es mayor a 0,9 g/mL y su índice menor a 1,47 existe la posibilidad que tenga compuestos oxigenados alifáticos. Pero si la densidad es menor de 0,9 g/mL y su índice mayor a 1,47 tiene la posibilidad de poseer hidrocarburos aromáticos. Pero si la densidad y el índice es mayor a los valores señalados el aceite contiene compuestos aromáticos o acíclicos y oxigenados (67, 72,74).

### **Solubilidad**

Es la capacidad de disolución que tiene el aceite esencial a 20°C en una mezcla de etanol-agua 70 % etanol; 30 % agua y para diluir 30 % de aceite esencial, no se debe utilizar más de 50 mL de alcohol al poder aromático de la esencia se transfiere al alcohol, pero lo que se trata de averiguar si el aceite esencial se diluye en una solución etanol-agua dependiente por su contenido de componentes oxigenados tales como: aldehídos, alcoholes, cetonas, éteres, para averiguar la

presencia de éster se toma soluciones etanólicas al 95 %, 90 %, 80 %, hasta 50 %, para esta determinación se pone 1 mL de esencia en una probeta de 10 mL, se adiciona poco a poco pequeñas porciones de solución etanólica, se sacude si solución se vuelve opalescente significa que es su límite de solubilidad. (59). También se puede determinar la solubilidad del aceite mezclando volúmenes iguales de aceite esencial y disulfuro de carbono, si se observa opalescencia tiene agua, en solución de hidróxido de potasio 1N aumenta la solubilidad con la cantidad de componentes fenólicos (67).

### **Reacciones coloridas**

Con esta prueba se puede averiguar la presencia de alcoholes los aceites esenciales, el procedimiento es como sigue: se vierte 0,3 mL en un tubo de prueba 0,3 mL de aceite esencial y el mismo volumen de sulfuro de carbono y 100 mg de hidróxido de potasio, se agita aproximadamente cinco minutos, si la solución se torna de color amarillo o el precipitado es debido a los xantatos que tienen un grupo SH pero no OH-, en caso no se produce la reacción se añade 1 ó 2 gotitas de molibdato de amonio al 1 %, cuidadosamente se añade ácido sulfúrico 1M para acidular la mezcla, se baña con hielo para enfriar y se agrega tres o cuatro gotitas de cloroformo para esterificar y se deja en repos, si se observa de color violeta la fase clorofórmica hay presencia de alcohol (51).

Cuando el color se torne rojo oscuro o aparece un precipitado amarillo cuando se añade dos gotas de etanol y una gota de solución de 2,4- dinitrofenilhidrazina al aceite esencial es debido a la presencia de cetonas y aldehídos, si el color del precipitado es rojo es debido a la presencia de carbonilos aromáticas, si el color es amarillo es debido a la presencia de carbonilos insaturados y si el color es anaranjado es debido a la presencia de carbonilos  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados. Si al precipitado de 2,4-dinitrofenilhidrazina se adiciona gotas de hidróxido de potasio 2N en metanol, se torna de color rojo oscuro, azul o púrpura (59,67).

Si con el reactivo de Schiff el aceite esencial se torna de color rosa o reducen el reactivo de Tollens es porque tiene aldehídos (59,67). Cuando se añade solución alcalina de hidroxilamina al aceite esencial, se calienta y se enfría luego se añade

ácido clorhídrico para acidular la solución, después se añade unas gotas de cloruro férrico si la solución se torna de color púrpura es porque están presentes los ésteres. Por otra parte, si a unas gotas de aceite esencial se añade de 0,5 a 1 mL de tetracloruro de carbono y unas gotas de solución de bromuro al 2 % en tetracloruro de carbono, y el color del bromo persiste por más de un minuto al añadir más gotas de esta última solución es porque hay compuestos con insaturaciones en el aceite esencial (59,67).

## **1.2.6. Determinación de componentes del aceite esencial**

### **A. Cromatografía en capa fina**

Solo algunos compuestos terpenoidales pueden ser determinados por cromatografía de capa fina, claro que resulta más ventajosa si se realiza en combinación con cromatografía de gas y líquido (GLC). Si se utiliza cromatografía de capa fina (TLC) de sílicagel, los solventes más adecuados de uso son el cloroformo, benceno, la mezcla cloroforma-benceno (1:1) y benceno-AcEt (19:1), para el análisis de terpenos que contienen oxígeno como (-) - carvano las placas de sílicagel a utilizar no deberían ser activadas por calentamiento ya que la humedad presente ayuda en la separación (75).

El método general de detección incluye rociado de la placa cromatográfica con 5 % de cloruro de antimonio en cloroformo, permanganato de potasio 0,2 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado o vainillina - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (preparado al momento de la prueba), añadir 8 mL de etanol-agua fría a 0,5 g de vainillina en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, las placas son calentados entre 100 - 105 °C después del rociado hasta que aparezca la coloración. Los agentes más selectivos están disponibles si se quiere detectar terpenos con doble enlace se utiliza vapor de bromo y para detectar grupos cetonas se usa 2,4-dinitrofenilhidrazina, hay una gama de agentes de detección que se muestra en la siguiente tabla (75).

**Tabla 1.** Detección de monoterpenos en placas de cromatografía de capa fina (TLC) (75)

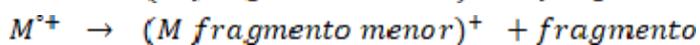
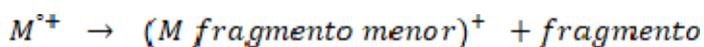
Terpenos	Respuesta a la prueba			
	UV	Bromo	2,4 DNP	Ácido sulfúrico conc.
Limoneno	-	+	-	Marrón
$\alpha$ -pineno	-	+	-	Marrón
Pulageno	-	+	+	Amarillo
Geraniol	-	+	-	Violeta
Carbona	+	+	+	Rojo
p-cimeno	+	-	-	-
$\alpha$ -terpineol	-	+	-	Verde
1,8-cineal	-	-	-	Verde

El revelador UV está entre un rango 254/386nm, bromo con 0,05 % de fluorescencia en agua y 2,4-DNP en 100mL de HCl 2M.

### B. Cromatografía de gases espectrómetro de Masas (GC-MS)

Técnica avanzada que combina el análisis cromatográfico de separación de los componentes con el análisis espectrométrico de masas de detección de los componentes separados, haciéndolo una técnica de alto grado de efectividad (76).

Es una técnica analítica aplicada para separar, identificar y cuantificar las sustancias volátiles y semi volátiles presentes en el aceite, la separación de los componentes depende de la distribución de éstas entre la fase estacionaria y móvil, el compuesto separado en el cromatógrafo de gases pasa al espectrómetro de masas donde se fragmentan en varios iones (fragmentación Mc Lafferty) de masa menor que la del pico molecular, el conjunto de fragmentos que aparecen y sus abundancias relativas se denominan secuencia de fragmentación. La fragmentación puede generar un fragmento neutro y un ión de masa más pequeña, los 2 tipos de fragmentación sencilla son (77,78):



Estos fragmentos son comparados con los fragmentos de moléculas ya conocidos almacenado en la biblioteca del equipo con las que hace comparaciones, así como la cuantificación de las moléculas analizadas con sustancia de referencia

que lo hace la biblioteca del equipo (76,79). Además, el equipo hace la gráfica tiempo (abscisas) versus abundancia porcentual (ordenada), el gráfico se denominada cromatograma, el tiempo de retención (TR) en minutos, que define el tiempo que tarda una sustancia para separarse de los otros componentes en la columna cromatográfica. El aparato registrador del GC/MS graba los resultados de lectura, luego del análisis comparativo de los datos obtenidos con el de la biblioteca de masas espectrales Nist08L (76, 78,79).

### 1.3. Definición de términos básicos

**NIST.** (National Institute of Science and Technology). Son siglas del Instituto Nacional de ciencia y Tecnología, cuya base de datos de los espectros que tiene, es la recopilación de cientos de picos espectrales de los compuestos químicos, que ha sido almacenado en la memoria de los equipos, como una biblioteca, que al realizar el análisis de una sustancia compara con esta biblioteca y puede determinar el nombre del compuesto y el reconocimiento de la sustancia se revela automáticamente (78).

**Terpenos.** Son un amplio grupo de compuestos formado principalmente por mono y sesquiterpenos para el caso de los aceites esenciales, pero no de los di y triterpenos que por tener mayor peso molecular no son volátiles, que puede ser hidrocarburos lineales y también oxigenados, pueden ser de naturaleza alifática o alicíclica, cíclica y algunos pueden tener estructuras aromáticas. Los aceites esenciales están formados por derivados terpénicos (61).

**Aceite esencial.** son sustancias odoríferas, muy volátiles, presentes en las plantas, está compuesto por una familia de componentes denominados terpenos, en su mayoría de monoterpenos y sesquiterpenos que a su vez se diversifican sus estructuras por la presencia de grupos funcionales que tienen como alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres, algunas estructuras moleculares alifáticas, cíclicas: monocíclicas, bicíclicas, tricíclicas, tetracíclicas (61).

**Caracterización.** Son los procedimientos a través de los cuales se trata de determinar las propiedades fisicoquímicas que son características del aceite

esencial tales como: solubilidad, reacción colorida, índice de refracción, densidad etc. Además, por análisis cromatográfica de gas y espectrometría de masas (GC-MS) se determina los componentes presentes y el tipo de terpenos u otras sustancias que contiene el aceite esencial.

## CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 2.1. Formulación de la hipótesis

El aceite esencial extraído de las inflorescencias de *H. capitata* puede ser caracterizado mediante mediciones fisicoquímicas y por análisis en cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS).

### 2.2. Variables de estudio y su operacionalización

#### 2.2.1. Variables de estudio

##### Variable independiente

Aceite esencial aislado de las inflorescencias de *H. capitata*

##### Variable dependiente

**Propiedades fisicoquímicas.** Son las variables características del aceite esencial de *H. capitata*, densidad, índice de refracción, solubilidad, reacciones coloridas.

**Componentes químicos.** Consiste en la determinación del número de componentes del aceite esencial su denominación, su abundancia y los tiempos de retención, tiempos en los que cada componente se separa del aceite esencial.

## 2.2.2. Operacionalización de variables

Variable independiente	Definición operacional	Tipo por naturaleza	Indicadores	Escala de medición	categoría	Valores de las categorías	Medios de verificación
Aceite esencial	El aceite esencial de las inflorescencias de <i>H. capitata</i> Jacq. fue extraído por hidrodestilación en aparato de Karlsruhe, luego se deshidrató con sulfato de sodio anhidro se filtró obteniendo el aceite puro.	Cuantitativa	Volumen (mL)	Razón	Ninguna	Ninguna	Registro de volumen extraído

Variable dependiente	Definición operacional	Tipo por naturaleza	Indicadores	Escala de medición	Categoría	Valores de las categorías	Medios de verificación
Propiedades fisicoquímicas	Se determinó por medición de las propiedades fisicoquímicas como la Densidad, índice de refracción, solubilidad y reacciones coloridas.	Cuantitativa	Densidad (g/mL) Índice de refracción Solubilidad Coloración	Razón	Ninguna	Ninguna	Registro densidad (anexo 3) Registro índice de refracción Registro valores de solubilidad Registro de pruebas de color
Componentes químicos	Para identificar los componentes químicos se usó un cromatógrafo de gases Agilent 7890 con detector de espectrometría de masas Agilent 5975C, con rampa de temperatura a partir de 40 °C por 2 minutos, sube 5 °C/min. hasta 172 °C, 20 °C/min hasta 300 °C.	Cuantitativa	T. Componentes identificados y sus abundancia (%)	Razón	Ninguna	Ninguna	cromatograma (anexo 5) Listado de componentes NIST08L

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo de estudio

La investigación es descriptiva, describe los procedimientos de manera detallada de la extracción del aceite esencial de *H. capitata*, la medición de propiedades fisicoquímicas como solubilidad, índice de refracción, reacciones coloridas, densidad y del análisis mediante el uso de un cromatógrafo de gas espectrometría de masas (GC-MS). Para ello se desarrolló un diseño algorítmico, lo que nos permitió seguir secuencialmente los pasos más adecuados desde el recojo de la muestra, realizar las pruebas fisicoquímicas y análisis cromatográfico hasta su interpretación de los resultados (80).

### 3.2. Diseño muestral

El muestreo no fue aleatorio, sino por conveniencia, porque en todas las inflorescencias está presente el aceite esencial con los mismos componentes (80).

#### **Población de estudio**

La población de estudio de *H. capitata*, son todas las plantas que crecen formando una comunidad vegetal junto con otras malezas, se ubicó su presencia en la localidad de Ushpagallo, Distrito de Belén, provincia de Maynas, Región Loreto.

#### **Tamaño de la muestra**

Se tomó una muestra significativa de 5 kg de inflorescencia de esta planta que tiene forma de cabezuelas esféricas.

## Criterios de selección

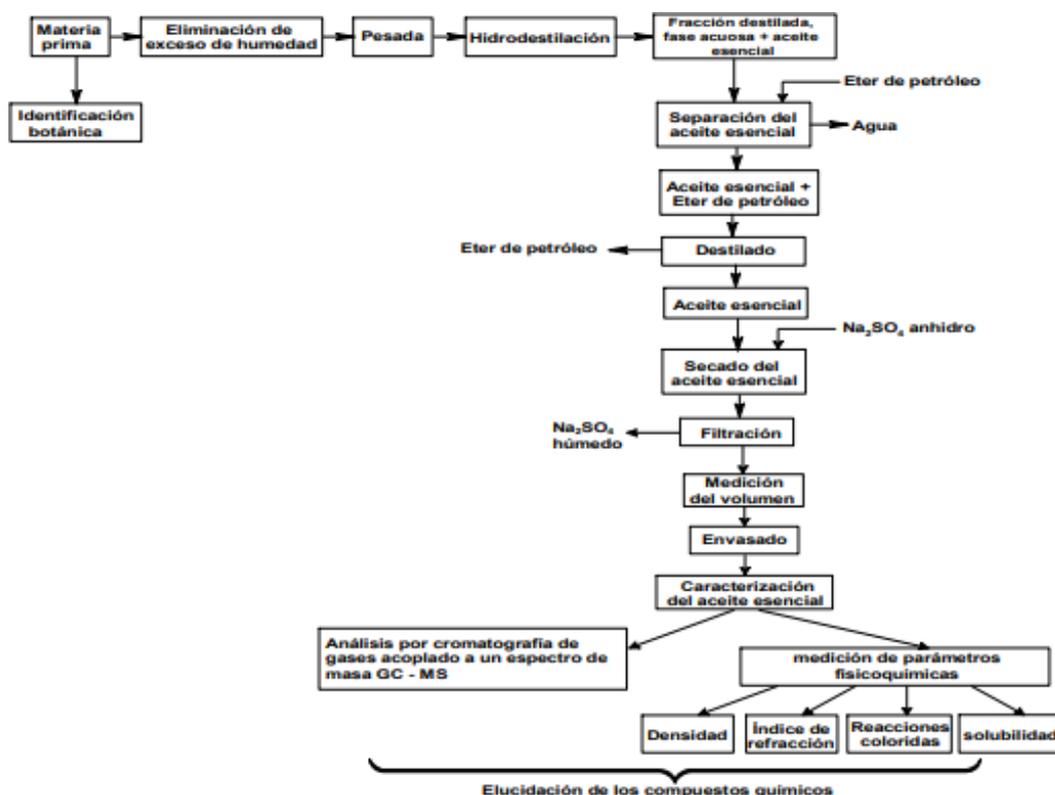
**Criterio de inclusión.** Se recogieron las cabezuelas maduras de color oscuro que es el momento en que aflora su olor “*suigeneris*”.

**Criterio de exclusión.** Se descartó las inflorescencias afectadas por chinches u otros insectos.

## 3.3. Procedimientos de recolección de datos y análisis de datos

### 3.3.1. Procedimientos de recolección de datos

Para recolectar los datos se hizo siguiendo los pasos que se muestra en el diagrama de bloque para obtener el aceite esencial de *H. capitata* y sus caracterizaciones fisicoquímicas por análisis de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).



**Figura 5.** Diagrama de bloques de obtención del aceite esencial *Hyptis capitata* y caracterización

### **A.1. Recolección de la muestra vegetal**

Las inflorescencias en forma de cabezuelas fueron recogidas en el caserío Ushpagallo al otro lado del Río Itaya, comprensión del Distrito de Belén, provincia de Maynas, Región Loreto, ubicado entre las coordenadas georeferenciales de 3° 46' 01" S; 73° 14' 48" O; altitud: 110 msnm.

### **A.2. Prueba preliminar**

La prueba *in situ* para determinar la presencia de aceite esencial consistió en frotar una flor sobre un papel de filtro Whatman N° 1, apareció en la superficie del papel una mancha grasosa de olor "*suigéneris*", luego, las flores fueron aplastadas e introducidos en un tubo de prueba, se agregó un poco de agua y se calentó, al enfriarse se observó unas gotas esféricas de aceite esencial flotando.

### **A.3. Tomas fotográficas y transporte la materia prima**

Para documentar el proceso de recolección de muestra se tomó fotografía del lugar donde crece la planta (ver anexo 1). Las inflorescencias recolectadas se pusieron en papel de filtro luego en una bolsa plástica hermética para ser transportado al laboratorio de Fitoquímica y Productos Naturales de la Facultad de Ingeniería Química. Además, se cortó con una tijera una parte del tallo que contenía hojas y Flores que se llevó al Herbarium Amazonense para su identificación.

### **A.4. Certificación de la especie**

El tallo con hojas y flores se llevó al Herbarium Amazonense CIRNA - UNAP, donde el especialista en botánica sistemática identificó la especie vegetal de estudio y emitió la constancia correspondiente (ver anexo 2).

### **A.5. Preparación y pesada de la muestra**

Las inflorescencias se extendieron sobre el papel filtro para absorber el exceso de humedad en un ambiente de aire acondicionado a 20°C, luego se pesó en una balanza analítica Ohaus, por tandas hasta obtener 5 kilogramos.

### **A.6. Procedimiento de extracción del aceite esencial**

Se dispuso de 10 balones con capacidad de 2 litros, en cada balón se introdujo  $\frac{1}{2}$  kg de inflorescencias y se agregó 1000 mililitros de agua destilada, a cada uno de ellos, se le adaptó una columna de destilación de Karlsruhe sobre la boca del balón esmerilado 29/32 en forma de pico de cigüeña con condensador tubular para enfriamiento del destilado y una columna vertical de recojo del destilado consistente en una mezcla agua-aceite, el equipo también va unido a una columna vertical con una llave por la parte inferior que consta de una columna transversal secundaria que se une a la columna de recojo a través del cual se descarga las fracciones de aceite esencial que son más volátiles arrastrados por el vapor de agua en menor tiempo que aquellos compuestos más pesados.

En cada equipo se destiló por 4 horas, con el fin de agotar la mayor cantidad posible de aceite esencial. El destilado que contenía una mezcla aceite esencial-agua, se le añadió éter dietílico, se formó dos fases, la fase etérea con contenido de aceite esencial se pasa a una pera de decantación, se descarga sobre un vaso de precipitado y se calienta a 60 °C para eliminar el éter, se agrega sulfato de sodio anhidro, se filtra y se recoge el filtrado en frasco color caramelo el aceite esencial puro. Los 5 filtrados obtenidos en cada destilado se reunieron en un solo recipiente y se midió el volumen en una probeta graduada.

## A.8. Conservación del aceite esencial

El aceite esencial puro se transvasó a un frasco de vidrio color caramelo de 20 mL con tapa esmerilada y a temperatura de 20 °C ambiente del laboratorio.

### 3.3.2. Determinación de los parámetros fisicoquímicos

#### Densidad

Se usó el método del picnómetro, se tomó un picnómetro de Weld tipo 2 con tabuladora lateral, boca esmerilada y tapas esmeriladas tanto el de la boca central como de la boca lateral, por la boca central tiene un orificio de descarga del exceso de la sustancia líquida con el que se llena el aparato. El picnómetro tiene 5 cm<sup>3</sup> de volumen está calibrado a 20 °C, pero la temperatura del laboratorio en el que se trabajó era de 30 °C, era necesario calibrarlo a esta temperatura (81); se siguió el procedimiento siguiente:

El picnómetro se lavó con agua destilada varias veces, se le secó en estufa Memmert a 110 °C, se enfrió y se pesó el picnómetro vacío en una balanza analítica a este peso lo denominamos "I", se llenó con agua destilada, y se pesó nuevamente obteniendo el segundo peso que lo denominamos "II". La sustracción de II - I nos dio el peso del agua, este peso está a la temperatura del laboratorio. Luego se tomó el dato de la densidad del agua a 30 °C de Handbook of chemistry and Physics página F-10 (82), este valor es igual a es 0,99567 g/cm<sup>3</sup> o g/mL, finalmente, con estos datos usando la fórmula de la densidad se obtiene el volumen del agua que también es el volumen del picnómetro.

$$\rho = \frac{m}{V} \rightarrow V = \frac{m}{\rho}$$

Luego, el picnómetro limpio y vacío se llena con aceite esencial y se pesa, a este peso lo denominamos "III", y se resta estos pesos III-I obteniendo el peso del aceite, con estos datos se calcula la densidad del aceite usando la fórmula antes indicada (ver anexo 3).

## **Rendimiento del aceite esencial**

Para determinar el rendimiento, primero se calculó el peso del aceite esencial al multiplicar la densidad obtenida con volumen obtenido, con la fórmula deducida de la densidad anteriormente descrita, el procedimiento de los cálculos se muestra en (anexo 4).

## **Índice de refracción**

Se preparó el refractómetro ABBE encendiendo la fuente de radiación de luz, mientras se hace circular una corriente de agua por el equipo a 20°C, se puso una gota de aceite esencial en el prisma de Amici, se hizo girar el ocular suavemente para ajustar y precisar la escala y luego se lee directamente el índice que es la línea límite claro/oscuro.

## **Solubilidad**

Se preparó soluciones de alcohol etílico de 95 %, 90 %, 80 %, 70 % y 50 %, se agregó 1 mL de aceite esencial puestos en una probeta de 10 mL con tapa de seguridad. Cuando se vertió la solución de 50 % de alcohol y se agitó el contenido de la solución se volvió opalescente y se anotó el volumen añadido, esta opalescencia marca el límite en que el aceite esencial puede solubilizar cuando el alcohol contiene 50 % de agua.

## **Reacciones coloridas**

En un tubo de ensayo se puso 1 gota de aceite esencial, se agregó disulfuro de carbono (8 gotas) y 100 mg de hidróxido de potasio, se añadió unas gotas de Molibdato de amonio al 1 % y ácido sulfúrico 1M para acidular, se usó hielo para enfriar, se agregó cloroformo (4 gotas) y se agitó, se dejó que se separen dos fases, la capa clorofórmica se tornó de color violeta lo que indica la presencia de alcoholes (59).

En otro tubo de prueba, se vertió 1 gota del aceite esencial, se le agregó solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina (una gota) y se tornó de color amarillo, indicando positivo la presencia de cetonas en el aceite.

En tercer tubo de prueba, se vertió 1 gota del aceite esencial, se añadió solución de hidroxilamina se calentó y se enfrió, se agregó ácido clorhídrico para acidificar la solución, se agregó cloruro férrico (2 gotas) y el color de la solución se tornó de color púrpura que indica la presencia de ésteres.

### **3.3.3. Análisis por cromatografía de gases espectrómetro de masas GC-MS**

El análisis se efectuó en la Unidad de Investigación en Productos Naturales-LID-Laboratorio 209 de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima; en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 que lleva acoplado un detector de espectrometría de masas Agilent Technologies 5975C.

El cromatógrafo tiene una columna arrollada en espiral de 60 m de longitud, 250 micrómetros de diámetro externo por 0,25 micrómetros de diámetro interior dispuesto a soportar 325°C de temperatura (74).

Tiene una rampa de temperatura que se eleva gradualmente empezando a partir de 40°C por 2 minutos, luego sube 5°C por minuto hasta 172°C, por último 20°C/min hasta 300°C manteniéndose por 2 minutos. El gas portador que circula por la columna es Helio a un caudal de 1 mL/min.

La preparación de la muestra consiste en poner 1g en un vial y agitar en un equipo de ultrasonido por 20 minutos a 40°C, seguidamente se inserta la fibra DVD/CAR/PDMS (fibra gris) por 10 minutos, se retiró la fibra en la abertura de inyección del equipo GC-MS y se corrió la muestra durante 54,067 minutos.

La muestra es llevada por el Helio hacia la columna donde se separan los componentes del aceite esencial en función de su tiempo de retención que el equipo registra para cada componente, la abundancia que cada sustancia posee en áreas relativas que se expresan porcentualmente. Luego de la separación cromatográfica los componentes pasan al detector de espectrometría de masas donde se ionizan y fragmentan (fragmentación Mc Lafferty), la recomposición de la molécula automáticamente hace el equipo, lo compara con la biblioteca de información interna que posee, esto le permite identificar por comparación con los datos de la biblioteca NISTO8L cada molécula separada en la biblioteca NISTO8L, esta información pasa al registrador donde aparece el listado de componentes que contiene el aceite esencial, en el listado figura el nombre químico del componente, su tiempo de retención, la abundancia de cada componente en forma porcentual (ver anexo 5).

#### **3.4. Aspecto ético**

Al recoger las inflorescencias de la planta para el estudio no se eliminó la planta por que se arrancan las inflorescencias con tijera podadora de modo que la planta se mantiene en pie.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### 4.1. Rendimiento del aceite esencial

Se extrajo 8,2137 g (volumen 9,5 mL) de aceite esencial de las inflorescencias de *H. capitata* que representó un rendimiento de 0,1643 % (ver anexo 4).

### 4.2. Características fisicoquímicas

Los valores de los parámetros fisicoquímicos del aceite esencial de las inflorescencias de *H. capitata*, se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 2.** Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de *Hyptis capitata*

Aceite esencial de las inflorescencias de <i>H. capitata</i>	
Propiedades fisicoquímicas	Valores
Densidad	0,8646 g/mL (anexo 3)
Índice de refracción $[n]_D^{20}$	1,462
Solubilidad (alcohol: agua)	Hasta 50% de mezcla alcohol-agua

#### Reacciones coloridas

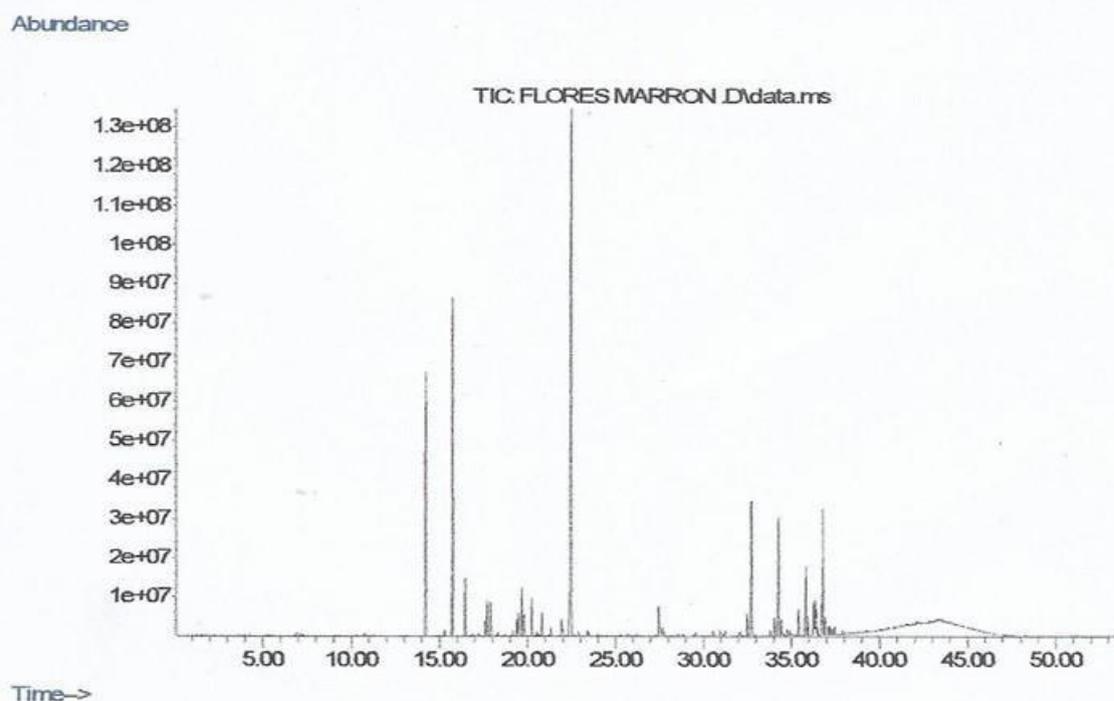
El aceite esencial contiene componentes cuyas estructuras químicas son las siguientes:

Alcoholes	Violeta
Cetonas	Amarilla
Ésteres	Púrpura

### 4.3. Cromatografía del aceite esencial de *Hyptis capitata*

El cromatograma registra el número de componentes del aceite esencial, cada pico representa el componente que está presente.

### Cromatograma GC-MS compuestos volátiles de flores frescas (sin código)



**Figura 6.** Cromatograma del aceite esencial de las inflorescencias de *Hytis capitata*

**Tabla 3.** Componentes del aceite esencial de las inflorescencias de *Hytis capitata*

Número	Nombre del compuesto (NIST08.L.)	t <sub>R</sub> (min)	% en la muestra (áreas relativas)
1	Nonano	14,21	10,62
2	Triciceno	15,28	0,28
3	α-Pineno	15,73	14,13
4	Camfeno	16,45	2,28
5	β-Pineno	17,60	0,61
6	6-metil-5-Hepten-2-ona	17,70	1,71
7	α-Terpineno	19,16	0,22
8	1-metoxi-Octano	19,40	0,61
9	p-Cimeno	19,48	0,86
10	D-Limoneno	19,67	1,81
11	Trans-β-Ocimeno	19,79	0,92
12	cis-β-Ocimeno	20,24	1,38
13	Desconocido C12H26	20,52	0,14
14	γ-Terpineno	20,82	0,88
15	Óxido de Linalool	21,33	0,42
16	Terpinoleno	21,93	0,73
17	2-Nonanona	21,99	0,26
18	β-Linalool	22,46	30,95

19	2-metil-hexil éster del ácido butanoico	27,46	1,07
20	3-metil-hexil éster del ácido butanoico	27,67	0,30
21	cis-1-etilideneoctahidro-7 <sup>a</sup> -metil-1H-Indeno	27,74	0,15
22	desconocido (C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> )	29,51	0,18
23	3,7-dimetil éster del ácido 2,6-Octadienoico	30,54	0,19
24	desconocido (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	32,07	0,22
25	Ylangeno	32,49	0,93
26	α-Copaeno	32,71	5,62
27	α-Gurjuneno	33,79	0,24
28	β-Maalieno	34,03	0,71
29	β-Cariofileno	34,25	7,49
30	3-metil-octil éster del ácido butanoico	34,41	0,63
31	6,10-dimetil-5,9-Undecadien-2-ona	34,77	0,25
32	γ-Gurjuneno	34,91	0,25
33	α-Cariofileno	35,39	1,14
34	γ-Muuroleno	35,81	3,36
35	α-Amorfeno	35,92	0,62
36	Cubeneno	36,20	0,25
37	β-Eudesmeno	36,26	1,04
38	Epizonareno	36,31	0,38
39	α-Muuroleno	36,36	1,05
40	α-Selineno	36,39	0,73
41	β-Cadineno	36,48	0,27
42	γ-Cadineno	36,71	0,78
43	Cadina-1(10),4-dieno	36,77	3,37

**Tabla 4.** Familia química y usos de los componentes

Número	Nombre del compuesto	Familia	Usos
1	Nonano	Hidrocarburo saturado	Combustible (83)
2	Tricicieno	Hidrocarburo saturado cíclico	desconocido
3	α-Pineno	Monoterpeno bicíclico	Antimicrobial, antibiótico (84)
4	Camfeno	Monoterpeno	Epiptalico, perfumería
5	β-Pineno	Monoterpeno bicíclico	Saborizante, perfumería
6	6-metil-5-Hepten-2-ona	Cetona	Antibacterial, antimicrobiano
7	α-Terpineno	Monoterpeno	Antidepresivo, citotóxico
8	1-metoxi-Octano	Hidrocarburo mixto	Repelente
9	p-Cimeno	Monoterpeno monocíclico	Sedante
10	D-Limoneno	Monoterpeno	Limpiador y desinfectante
11	Trans-β-Ocimeno	Monoterpeno monocíclico	Contra el dolor
12	cis-β-Ocimeno	Monoterpeno monocíclico	Agente limpiador y perfume condimento

13	Desconocido C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	-	
14	$\gamma$ -Terpineno	Monoterpeno monocíclico	Condimento, perfumería
15	Óxido de Linalool	Monoterpeno	perfumería
16	Terpinoleno	Monoterpeno bicíclico	Saborizante, perfumería,
17	2-Nonanona	Cetona	-
18	$\beta$ -Linalool	Monoterpeno alcohol	Antiséptico, antiinflamatorio, antifúngico, perfumería (85)
19	2-metil-hexil éster del ácido butanoico	Éster	Antimicrobiano, perfumería
20	3-metil-hexil éster del ácido butanoico	Éster	Analgésico, antiinflamatorio, antioxidante
21	Cis-1-etilidenoctahidro-7 $\alpha$ -metil-1H-Indeno	Hidrocarburo saturado	Sedante, antitumoral
22	Desconocido (C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> )	-	No conocido
23	3,7-dimetil éster del ácido 2,6-Octadienoico	Éster	
24	Desconocido (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	-	-
25	$\gamma$ -Lingeno	Sesquiterpeno tricíclico	-
26	$\alpha$ -Copaeno	Sesquiterpeno tricíclico	Disolvente de resina, antimicrobiano, analgésico, antiinflamatorio (86)
27	$\alpha$ -Gurjuneno	Sesquiterpeno carbotricíclico	Disolvente de resina
28	$\beta$ -Maaleno	Sesquiterpeno cíclico	-
29	$\beta$ -Cariofileno	Sesquiterpeno bicíclico	Antioxidante, hipoglucemiante (87)
30	3-metil-octil éster del ácido butanoico	Éster	-
31	6,10-dimetil-5,9-Undecadien-2-ona	Cetona	-
32	$\gamma$ -Gurjuneno	Sesquiterpeno	En perfumería
33	$\alpha$ -Cariofileno	Sesquiterpeno tricíclicos	Atractante de insectos y formícida,
34	$\gamma$ -Muuroleno	Sesquiterpeno	antimicrobial
35	$\alpha$ -Amorfeno	Sesquiterpeno	balsami
36	Cubeneno	Sesquiterpeno tricíclicos	Propiedades abortivas
37	$\beta$ -Eudesmeno	Sesquiterpeno tricíclicos	Antiinflamatorios, psoriasis, eczemas
38	Epizonareno	Sesquiterpeno bicíclico	Antiinflamatorio, neuropático,

39	$\alpha$ -Muuroleno	Sesquiterpeno	ansiolítico Se produce en el aparato digestivo de la vaca, propiedades analgésicas
40	$\alpha$ -Selineno	sesquiterpeno	-
41	$\beta$ -Cadineno	Sesquiterpeno tricíclicos	Antibacterial
42	$\gamma$ -Cadineno	Sesquiterpeno bicíclico	Antiinflamatorio, anticoagulante sanguíneo
43	Cadina-1(10),4-dieno	sesquiterpeno	Potente ansiolítico

**Tabla 5.** Número de componentes por familia

Número	Familia	Cantidad
1	Hidrocarburos saturados	3
2	Hidrocarburo mixto	1
3	Cetonas	3
4	Ésteres	4
5	Monoterpenos	12
6	Sesquiterpenos	17
7	No identificado	3
	Total	43

Según el número de componentes, es mayoritario la presencia de sesquiterpeno con 17 compuestos y 12 monoterpenos, esto significa que los componentes menos volátiles están en mayor cantidad que los componentes volátiles lo que aparentemente hace pensar que los sesquiterpenos actúan como estabilizadores de los monoterpenos volátiles que es lo que le da mayor persistencia a un aceite esencial que se esparce en un ambiente y es pues, la persistencia lo que hace deseable a un aceite esencial en la industria perfumista y cosmética en mayor medida.

**Tabla 6.** Componentes de mayor abundancia porcentual

Número	Componente	Familia	TR (min)	Abundancia %
1	$\beta$ -Linalool	alcohol-monoterpeno monocíclico	22,46	30,95
2	$\alpha$ -Pineno	Monoterpeno bicíclico	15,73	14,13
3	Nonano	Hidrocarburo saturado	14,21	10,62
4	$\beta$ -Cariofileno	Sesquiterpeno bicíclico	34,25	7.49

5	$\alpha$ -Copaeno	Sesquiterpeno tricíclico	32,71	5,62
Total			68,81	

Estos cinco compuestos mayoritarios representan el 68,81 % de la abundancia del aceite esencial de *H. capitata*; dos monoterpenos:  $\beta$ -linalol y  $\alpha$ -pineno, dos sesquiterpenos  $\beta$ -cariofileno y  $\alpha$ -copaeno y un hidrocarburo saturado Nonano inflamable que aparece cuando se destila petróleo, fracción conocida como querosene y como combustible se usa en el funcionamiento de calefactores, tractores y aviones.

**Tabla 7.** Componentes mono y sesquiterpenos

Número	Componente	Monoterpenos (%)	Sesquiterpenos (%)	Total (%)
1	$\alpha$ – Pineno	14,13	-	14,13
2	Camfeno	2,28	-	2,28
3	$\beta$ – Pineno	0,61	-	0,61
4	$\rho$ -Cimeno	0,86	-	0,86
5	D – Limoneno	1,81	-	1,81
6	trans- $\beta$ -Ocimeno	0,92	-	0,92
7	Cis- $\beta$ - Ocimeno	1,38	-	1,38
8	Terpinoleno	0,73	-	0,73
9	$\alpha$ -Terpineno	0,22	-	0,22
10	$\gamma$ -Terpineno	0,88	-	0,88
11	Óxido de Linalool	0,42	-	0,42
12	$\beta$ – Linalool	30,95	-	30,95
1	Ylangeno	-	0,93	0,93
2	$\alpha$ -Copaeno	-	5,62	5,62
3	$\alpha$ -Gurjuneno	-	0,24	0,24
4	B-Maalieno	-	0,71	0,71
5	$\beta$ -Cariofileno	-	7,49	7,49
6	$\gamma$ -Gurjuneno	-	0,25	0,25
7	$\alpha$ -Cariofileno	-	1,14	1,14
8	$\gamma$ -Muuroloeno	-	3,36	3,36
9	$\alpha$ -Amorfeno	-	0,62	0,62
10	Cubeneno	-	0,25	0,25
11	$\beta$ -Eudesmeno	-	1,04	1,04
12	Epizonareno	-	0,38	0,38
13	$\alpha$ -Muuroloeno	-	1,05	1,05
14	$\alpha$ -Selineno	-	0,73	0,73
15	$\beta$ -Cadineno	-	0,27	0,27
16	$\gamma$ -Cadineno	-	0,78	0,78
17	Cadina-1(10),4-dieno	-	3,37	3,37
<b>Total</b>		<b>55,19</b>	<b>28,23</b>	<b>83,42</b>

## Quimiotaxonomía

*H. capitata* de la Región Loreto es un nuevo quimiotipo o raza química por contener una abundancia de  $\beta$ -linalol de 30,95% superior a la misma especie de *H. capitata* de la India.

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

El rendimiento de aceite esencial que tiene la inflorescencia de *H. capitata* de la amazonia peruana fue de 0,1643 %, mientras que, la misma especie que crece en el sur de India las inflorescencias presentaron un rendimiento de 0,30 % y en las hojas 0,15 %, respectivamente (29) ;en otro estudio se encontró un rendimiento de 0,2 % en las inflorescencias (32), se observa que, la producción de aceite esencial de esta especie en el sur de India difieren en 0,1 % uno del otro a pesar que se desarrollaron en la misma zona. Por otra parte, el rendimiento de aceite esencial de la especie de la amazonia peruana es menor al de la especie del sur de India, debido a que priman factores quimiotaxonómicos tales como: suelo, clima, medio ambientales, estacionales, etc (2).

Estudios realizados en otras especies de *Hyptis*, muestran rendimientos diferentes entre ellas, la especie *H. suaveolens* de India tiene un rendimiento de 0,25 % (32), y 0,9 % (23); también, se encontró un rendimiento similar 0,9 % en la especie que crece en Nigeria (33), además, se encontraron rendimientos de 0,1 % (20) y 1,5 % (25). En de *H. brevipes* de Nigeria se encontró un rendimiento de 0,5 % (33) y en la especie que crece en Bangladesh en hojas e inflorescencias se encontró rendimientos de 0,80 % y 1,45 % respectivamente (10). En *H. carpinifolia* que crece en Brasil se encontró rendimientos que oscilaron entre 1,2 y 2,0 % (2), en *H. verticillata* Jacq. de Jamaica, se encontró un rendimiento de 0,15 % (88) y de *H. rhomboidea* que crece en Nigeria se encontró un rendimiento de 0,4 % (33). Estos estudios muestran que hay una variabilidad en cuanto a la producción de aceite esencial de las especies estudiadas, estas diferencias están relacionado por factores quimiotaxonómicos que dan lugar a nuevas razas químicas.

En lo referente a las características fisicoquímicas del aceite esencial de *H. capitata*, el índice de refracción que se determinó fue de 1,462, un valor menor a 1,47, además, la densidad estimada fue de 0,8646 g/mL, este valor es menor a 0,9, estos valores indican que el aceite esencial de *H. capitata* de la amazonia peruana tiene contenido de ésteres, mientras que el aceite de la especie que crece en India, el

valor del índice de refracción fue de 1,492 (32), que es mayor a 1,47 y la densidad que se determinó fue de 0,979 g/mL un valor mayor a 0,9, estos valores indican que la composición del aceite esencial tiene compuestos oxigenados alifáticos, ésteres, pero también compuestos oxigenados aromáticos o acíclicos. Estos resultados claramente indican que la producción de los metabolitos secundarios de una misma especie está condicionada a factores medio ambientales conocido como variaciones intraespecíficas (2, 60,67). De otro lado, la densidad del aceite esencial de *H. suaveolens* fue de 0,986 g/mL y su índice refracción 1,502 (32), estos valores claramente indican que el aceite esencial de *H. suaveolens* contiene un alto porcentaje de compuestos oxigenados, pero estos compuestos oxigenados difieren a los compuestos oxigenados de *H. capitata*, aunque algunos componentes son iguales, pero porcentualmente existe una variabilidad muy notoria entre ellos.

En cuanto al olor y color del aceite esencial de *H. capitata* se señaló que tiene un olor “*siugeneris*” muy cercano al de *Amba rosaedora* Ducke (palo rosa) y color amarillo claro, pero en otro estudio se describe que el olor del aceite esencial es herbáceo refrescante con una nota de salida afrutada y un sabor picante con regusto a alcanfor y el color del aceite es amarillo claro (32). Por otro lado, se describe que el aceite esencial de *Suaveolens* es de color amarillo verdoso claro y que posee un olor fresco y refrescante con una nota de salida alimonada y un sabor cálido con regusto picante (32), asimismo, se informó que el aceite de esta especie es de color amarillo pálido (23). Las características de los aceites de *H. capitata* e *H. suaveolens* señaladas anteriormente varían uno del otro, porque la composición química presente en cada uno de estos aceites son diferentes, y estos componentes químicos son las que les dan esas características sobresalientes respecto a las características denominada carácter que es la que relaciona con el olor *suigéneris*.

La prueba de solubilidad realizada con el aceite esencial de *H. capitata* en una solución etanol: agua, mostró solubilidad con mayor contenido de alcohol donde el límite fue 50 %. La prueba de reacción de coloración realizada con el aceite esencial de *H. capitata* dio positivo para alcoholes, cetonas y ésteres, que corrobora

la solubilidad de este aceite en mezcla de alcohol-agua solo hasta el límite de 50 %. Además, el resultado de la prueba cromatográfica confirmó la presencia de compuestos oxigenados en el aceite, que consolida el resultado de las pruebas fisicoquímicas realizadas.

El total de componentes encontrados por análisis cromatográfico del aceite esencial de *H. capitata* Jacq. de la amazonia peruana fue 43, de los cuales, el 83,42 % son sustancias terpenoidales; 12 monoterpenos y 17 sesquiterpenos a pesar de la menor cantidad de monoterpenos la abundancia porcentual es 55,19 %, mayor al de los sesquiterpenos con solo 28,33 % de abundancia. Además, están presentes otros compuestos como hidrocarburos, cetonas, ésteres, éteres, y componentes no identificados. Mientras que en el aceite esencial de hojas e inflorescencias de la especie en India fueron encontrados un total de 19 componentes en las hojas y 44 en las inflorescencias, donde 15 componentes son comunes en ambos órganos de la planta (29). También, se señala que los componentes de mayor abundancia en las hojas fueron 6 con una abundancia porcentual de 77,41 %, mientras en las inflorescencias fue 11 con 58,06 % de abundancia. Estos resultados nos muestran el número de componentes de un órgano de la planta son casi similares, aunque existe una pequeña variabilidad debido a la existencia de polimorfismo químico entre las poblaciones (89), pero existe una diferencia mayor entre los órganos de la planta, independiente del lugar donde se desarrollan.

En un estudio similar, en el aceite esencial de *H. capitata* la zona de India fue encontrado 8 componentes principales, 7 monoterpenos y un sesquiterpeno, cuya abundancia porcentual representa el 74,3 % del total de componentes presentes en el aceite, dentro de estos componentes mayoritarios los monoterpenos fueron las más abundantes con 68,9 % y los sesquiterpenos solo representaron el 5,4% (32). Por otro lado, en *H. capitata* de Jamaica fue identificado un total de 38 componentes, de los cuales el 40,5 % fueron sesquiterpenos y los de mayor abundancia fueron el  $\beta$ - cariofileno con 6,0 % y viridiflorol con 7,6 %, mientras que el contenido de monoterpenos solo fue de 1,5 % (3). La relación de monoterpenos y sesquiterpenos

en la composición de aceites de *H. capitata* de India y Jamaica difieren uno del otro, la especie de Jamaica tiene mayor abundancia porcentual de sesquiterpenos, contrariamente la especie que crece en sur de India tiene mayor abundancia porcentual de monoterpenos. Estos resultados nos muestran que en *H. capitata* de la amazonia peruana y del sur de India, los monoterpenos tienen mayor prevalencia de abundancia porcentual, mientras que la Jamaicana contiene mayor abundancia porcentual de sesquiterpenos.

En relación a la similitud de compuestos presentes en *H. capitata* de la amazonia peruana, India y Jamaica respectivamente,  $\beta$ -cariofileno y  $\alpha$ -copaeno en todas ellas está presente como una constante, el Linalool está presente en *H. capitata* de India y Jamaica, pero también en la especie amazónica se halla como  $\beta$ -linalool en un porcentaje de 30,95 % una distribución que le hace representativo para considerarse que es un nuevo quimiotipo, el  $\beta$ -linalol en *H. capitata* de la región amazónica, el cadineno también está presente en todas ellas, pero en la especie amazónica está como  $\gamma$ -cadineno, en India como  $\delta$ -cadineno y en Jamaica como  $\alpha$ -cadineno, el muuroleno es común en los tres que denota que es un mecanismo de defensa contra microbios que lo atacan, pero en la especie de la amazonia peruana y de Jamaica está como  $\gamma$ -muuroleno y en India como  $\alpha$ -muuroleno. Además, en *H. capitata* de la amazonia peruana e India, el  $\alpha$ -pineno es común en los dos, mientras que, el ylangeno y gurjuneno es común en la especie de la amazonia peruana y Jamaica, pero el gurjuneno en *H. capitata* de la amazonia peruana está como  $\alpha$ -gurjuneno y en Jamaica como  $\beta$ -gurjuneno. Estas diferencias indican claramente que filogenéticamente tienen un antepasado común, pero la variabilidad de los tipos de compuestos se debe a la historia evolutiva de terpeno sintasa, responsables de biosintetizar productos naturales que proceden de genes de terpeno sintasa implicados en el metabolismo primario por duplicación y divergencia en la especialización estructural y funcional (90), que ha permitido trazar rutas biosintética de los terpenoides durante el desarrollo de la planta y bajo la presión de los herbívoros (91,92) o diferencias en las condiciones ambientales (93), que dieran lugar a la existencia de polimorfismo químico (89).

Por otro lado, la variación de la composición porcentual de los componentes del aceite esencial está influenciada por factores edáficos (94), las estaciones del año (95), variación geográfica (89). Estos factores hacen que la planta pueda aumentar, disminuir o mantener su producción de un metabolito en particular para interactuar con el medio donde se desarrollan, donde las especies vegetales activan su mecanismo natural fuente-drenaje, para degradar los metabolitos secundarios y redireccionar estos compuestos químicos para el mantenimiento del metabolismo primario (96), por eso resulta que el contenido de aceite esencial en función de la estacionalidad es bastante variable en la especie en cada lugar del planeta (95). También, está relacionado con el estadio de crecimiento de las plantas, latitud y altitud, las especies que se encuentran situados en latitudes y altitudes más altas producen hidrocarburos monoterpénicos y las que se encuentran en zonas más bajas, en la etapa de fructificación producen mayor cantidad de sesquiterpenos (89,94).

Respecto al género *Hyptis*, los estudios realizados para la especie *H. suaveolens* en relación a la composición del aceite esencial en Nigeria (20,25), Tailandia (26), Brasil (22), Venezuela (19,24) e India (23) fueron identificados gran variedad de componentes en cada uno de ellos, pero el cariofileno está presente en todas ellas, también está presente en *H. Hyptis passerina* Mart y en *H. crenata* de Brasil (28) y en *H. brevipes* (Poit.) de Bangladesh (10). Además, en *H. suaveolens* de Nigeria (25) y Venezuela (19,24) está el filandreno, en *H. suaveolens* de Nigeria (20), Tailandia (26), en *Hyptis brevipes* (Poit.) de Bangladesh (10) y en *Hyptis verticilata* Jacq. de Jamaica (88) está el 1-octen-3-ol y el cadineno está *H. suaveolens* de Venezuela (19,24), India (23), en *Hyptis passerina* Mart de Brasil (13), En *Hyptis brevipes* (Poit.) de Bangladesh y en *Hyptis verticilata* Jacq. de Jamaica (88).

Los estudios realizados en varias especies del género *Hyptis* revela que el cariofileno es el componente común en todas ellas, esto demuestra que existe una forma especial de evolución convergente, donde la generación de una nueva enzima, con una misma función evolutiva es independiente del linaje de planta que tiene funciones similares, pero no idénticas (97). Por otra parte, la variabilidad que existe

entre el tipo de compuesto y la composición se debe a la historia evolutiva de los terpenos sintasa de plantas, genes que son los responsables de biosintetizar productos naturales a partir de genes de terpeno sintasa implicados en el metabolismo primario por **duplicación y divergencia** en la especialización estructural y funcional (90).

## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

De las inflorescencias de *H. capitata* Jacq. de la Amazonia peruana se logró extraer aceite esencial cuyo rendimiento fue significativo.

El análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas, permitió identificar 43 componentes, de los cuales cinco componentes fueron los de mayor abundancia que representa el 68,81% del total.

El aceite esencial de *H. capitata* contiene monoterpenos, sesquiterpenos, hidrocarburos saturados y mixtos, cetonas, ésteres y compuestos no identificados.

Dada las características químicas y farmacológicas de estos cinco componentes mayoritarios, el aceite esencial de *H. capitata* de la Amazonía peruana podría ser usada en la línea de la industria perfumista, cosmética y farmacológica, pero también en la industria biocidal y alimentaria.

Los componentes identificados en el aceite esencial de *H. capitata* de la Amazonía peruana difiere ampliamente en tipo y abundancia de compuestos de las especies que habitan en otros lugares del mundo, aunque algunos componentes son iguales en todas ellas, por tanto, *H. capitata* de la amazonia peruana es un quimiotipo por contener mayor abundancia de  $\beta$ -linalool.

## **CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES**

Se sugiere promover el cultivo de *H. capitata* en el Jardín Botánico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica para su potencial explotación en la línea de los aceites esenciales.

Realizar más estudios de los componentes activos de esta planta para orientar su uso en el campo medicinal, fitoterapéutico, aromaterapéutico e insecticidal.

## CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Harley RM. Revisión of generic limits in *Hyptis* Jacq. (Labiatae) and its allies. Bot J Linn Soc. 1988;98(2):87-95.
2. De Sá S, Fiuza TS, Borges LL, Ferreira HD, Tresvenzol LMF, Ferri PH, et al. Chemical composition and seasonal variability of the essential oils of leaves and morphological analysis of *Hyptis carpinifolia*. Rev Bras Farmacogn [Internet]. 2016; 26(6):688-93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.05.011>
3. McNeil M, Facey P, Porter R. Essential oils from the *Hyptis* genus - A review (1909-2009). Nat Prod Commun. 2011;6(11):1775-96.
4. Sumitha V, Mini I. Pharmacognostical standardization of *Hyptis capitata* Jacq . Lamiaceae. J Pharmacogn Phytochem. 2019;8(3):2791-6.
5. Harley RM, Pastore JFB. A generic revisión and new combinations in the Hyptidinae (Lamiaceae), based on molecular and morphological evidence. Phytotaxa. 2012;58:1-55.
6. Ladan Z, Amupitan JO, Okonkwo EM, Aimola IA, Habila N. Antimicrobial potency of *Hyptis spicigera* leaf extracts against some pathogenic microorganisms. J Med Plants Res. 2009;3(11):902-5.
7. Luzuriaga-Quichimbo CX, Blanco-Salas J, Cerón-Martínez CE, Stanković MS, Ruiz-Téllez T. On the possible chemical justification of the ethnobotanical use of *hyptis obtusiflora* in amazonian Ecuador. Plants. 2018;7(4).
8. Pachkore GL, Dhale DA, Dharasurkar AN. Antimicrobial and phytochemical screening of *Hyptis suaveolens* (L.Poit) Lamiaceae. Int Multidiscip Res J [Internet]. 2011;1(4):1-03. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/215728752>
9. To'bungan N, Widyarini S, Nugroho LH, Pratiwi R. Ethnopharmacology of *Hyptis capitata*. Plant Sci Today. 2022;9(3):593-600.

10. Bhuiyan MNI, Begum J, Nandi NC. Chemical component studies on the leaf and inflorescence essential oil of *Hyptis brevipes* (Poit.). *J Med Plants Res.* 2010;4(20):2128-31.
11. Caldas GFR, Da Silva Oliveira AR, Araújo AV, Quixabeira DCA, Da Costa Silva- Neto J, Costa-Silva JH, et al. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil of *Hyptis martiusii* benth. (Lamiaceae). *PLoS One.* 2014;9(1):1-10.
12. Cheng SC, Bhat SM, Lee CW, Shiea J. Thin layer chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry for characterizing herbal compounds. *Int J Mass Spectrom* [Internet]. 2018;434:264-71. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2018.09.024>
13. Zellner BD, Amorim ACL, de Miranda ALP, Alves RJV, Barbosa JP, da Costa GL, et al. Screening of the odour-activity and bioactivity of the essential oils of leaves and flowers of *Hyptis passerina* Mart. from the Brazilian Cerrado. *J Braz Chem Soc.* 2009;20(2):322-32.
14. Da Silva AC, de Souza PE, Amaral DC, Zeviani WM, Pinto JEBP. Óleos essenciais de *Hyptis marrubioides*, *Aloysia gratissima* e *Cordia verbenacea* reduz o progresso da ferrugem asiática da soja. *Acta Sci - Agron.* 2014;36(2):159-66.
15. Picking D, Delgoda R, Boulogne I, Mitchell S. *Hyptis verticillata* Jacq: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *J Ethnopharmacol.* 2013;147(1):16-41.
16. Kashiwada Y, Wang HK, Nagao T, Kitanaka S, Yasuda I, Fujioka T et al. Anti-AIDS Agents . 30 . Anti-HIV Activity of Oleanolic Acid , Pomolic Acid , and. *J Nat Prod.* 1998;61(9):1090-5.
17. Aguiar EHA, Zoghbi MDGB, Silva MHL, Maia JGS, Amasifén JMR, Rojas UM. Chemical variation in the essential oils of *hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. *J Essent Oil Res* [Internet]. 2003;15(2):130-2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2003.9712089>.

18. Da Cunha JA, Sutili FJ, Oliveira AM, Gressler LT, Scheeren CDA, Silva LDL, et al. The essential oil of *Hyptis mutabilis* in *Ichthyophthirius multifiliis* infection and its effect on hematological, biochemical, and immunological parameters in Silver Catfish, *Rhamdia quelen*. *J Parasitol*. 2017;103(6):778-85.
19. Alvarado C, Pérez D, Marquina G. Evaluación de la composición química del aceite esencial de mastranto (*Hyptis suaveolens*) según su origen geográfico en el estado Yaracuy, Venezuela. *Ing y Soc UC*. 2012;7(2):95-105.
20. Joseph BC, Duniya SV, Sokoato MI. Characterization of essential oils from *hyptis suaveolens* leaves by gas chromatography-mass spectroscopy and fourier transform infra-red spectroscopy. *Int J Mol Biol Open Access*. 2020;5(3):125-33.
21. Noudogbessi JP, Agbangnan P, Yehouenou B, Adjalien E, Nonviho G, Akibou Osseni M, et al. Physico-chemical properties of *Hyptis suaveolens* essential oil. *Int J Aromat Plants*. 2013;3(2):191-9.
22. Peniche T, Duarte JL, Amaral FAS, Sarquis I caro R, Sarquis RS, Cruz RAS, et al. *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Essential oil: A raw material for a larvicidal nano-emulsion. *Lat Am J Pharm*. 2019;38(5):938-44.
23. Poonkod K, Karthika J, Tamilselvi V, Anitha R, Vasanthamani S. Chemical composition of essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) POIT and its invitro anticancer activity. *J Pharm Res*. 2017;11(5):410-3.
24. Ríos Tesch N, Márquez Yánez R, Mendoza Rojas X, Rojas-fermín L, Velasco- Carrillo J, Díaz T, et al. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Hyptis suaveolens* ( L . ) Poit . ( Lamiaceae ) de los llanos venezolanos. *Rev Perú Biol* [Internet]. 2015;22(1):103-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v22i1.11127>
25. Iwu MM, Ezeugwu CO, Okunji CO, Sanson DR, Tempesta MS. Antimicrobial activity and terpenoids of the essential oil of *hyptis suaveolens*. *Int J Crude Drug Res*. 1990;28(1):73-6.

26. Nantitanon W, Chowwanapoonpohn S, Okonogi S. Antioxydant and antimicrobial acitvities of Hyptis suaveolens essential oil. *Sci Pharm.* 2007;75(1):35-46.
27. Tafurt-García G, Muñoz-Acevedo A, Calvo AM, Jiménez LF, Delgado WA. Componentes volátiles de eriope crassipes, Hyptis conferta, H. dilatata, H. brachiata, H. suaveolens y H. mutabilis (Lamiaceae). *Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat.* 2014;13(3):254-69.
28. Coelho-De-souza AN, Alves-Soares R, Oliveira HD, Gomes-Vasconcelos YA, Souza PJC, Santos-Nascimento T, et al. The essential oil of hyptis crenata pohl ex benth. Presents an antiedematogenic effect in mice. *Brazilian J Med Biol Res.* 2021;54(3):1-9.
29. John R, Sabu KR, Manilal A. Chemical Composition, Antioxidant, and Mosquito Larvicidal Activity of Essential Oils from Hyptis capitata Jacq. *J Exp Pharmacol.* 2022;14(June):195-204.
30. Ostos N, Rodríguez M. Repelente de insectos voladores a base de aceite esencial de mastranto (hyptis suaveolens). *Rev Ing.* 2018;2(2):16-27.
31. Datar MN, Lakshminarasimhan P, Rao PSN. Hyptis capitata Jacq. (Lamiaceae) - A new record for northern western Ghats. *Indian J For.* 2007;30(3):355-6.
32. Thoppil JE, Jose J. Chemical composition of essential oil in two ethnomedicinal species of Hyptis. *Acta Pharm.* 1995;45(4):551-3.
33. Dian-Hong X, Ya-Si H, Dong-Qing J, Ke Y. The essential oils chemical compositions and antimicrobial, antioxidant activities and toxicity of three Hyptis species. *Pharm Biol* [Internet]. 2013;51(9):1125-30. Available from: <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.781195>
34. Biswas A, Bari MA, Roy M, Bhadra SK. Inherited folk pharmaceutical knowledge of tribal people in the Chittagong hill tracts, Bangladesh. *Indian J Tradit Knowl.* 2010;9(1):77-89.
35. To'bungan N. Pemanfaatan dan Skrining Fitokimia Infusa Daun Rumput Knop

- (*Hyptis capitata* Jacq.). *Biota J Ilm Ilmu-Ilmu Hayati*. 2020;5(3):149-54.
36. Kusuma IW, Rahmini, Arung ET, Pramono AY, Erwin, Supomo. Biological activities and phytochemicals of *hyptis capitata* grown in east kalimantan, indonesia. *J Appl Biol Biotechnol*. 2020;8(2):58-64.
  37. Illing I, Iman FN. Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Rumput KNOP (*Hyptis capitata* jacq) dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Cokroaminoto J Chem Sci*. 2023;5(1):20-4.
  38. Mitchell SA, Ahmad MH. A review of medicinal plant research at the University of the West Indies, Jamaica, 1948-2001. *West Indian Med J*. 2006;55(4):243- 69.
  39. Rupa D, Sulistyaningsih YC, Dorly, Ratnadewi D. Identification of secretory structure, histochemistry and phytochemical compounds of medicinal plant *hyptis Capitata* Jacq. *Biotropia (Bogor)*. 2017;24(2):94-103.
  40. Mustofa FI, Rahmawati N, Aminullah. Medicinal plants and practices of rongkong traditional healers in South Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas*. 2020;21(2):642-51.
  41. Rizki R, Nursyahra N, Fernando O. Study of Weeds as Traditional Medicinal Plants Used by Indigenous People of West Pasaman, Indonesia. *J Trop Hortic*. 2019;2(2):81-5.
  42. Almtorp GT, Hazell AC, Torssell KBG. A lignan and pyrone and other constituents from *Hyptis capitata*. *Phytochemistry*. 1991;30(8):2753-6.
  43. Ahmad FB, Holdsworth DK. Medicinal plants of Sabah, East Malaysia - Part I. *Pharm Biol*. 2003;41(5):340-6.
  44. Tantengco OAG, Condes MLC, Estadilla HHT, Ragragio EM. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by ayta communities in Dinalupihan, Bataan, Philippines. *Pharmacogn J*. 2018;10(5):859-70.
  45. Otero Patiño R, Fonnegra R, Jiménez SL, Núñez V, Evans N, Alzate SP, et al.

Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia: Part I: traditional use of plants. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2000;71(3):493-504. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10940589>.

46. Aththorick TA, Berutu L. Ethnobotanical study and phytochemical screening of medicinal plants on Karonese people from North Sumatra, Indonesia. *J Phys Conf Ser*. 2018;1116(5).
47. To'bungan N, Jati WN, Zahida F. Acute toxicity and anticancer potential of knobweed (*Hyptis capitata*) ethanolic leaf extract and fraction. *Plant Sci Today*. 2022;9(4):955-62.
48. Duke AJ, Vásquez R. Amazonian ethnobotanical dictionary. Raton B, editor. USA; 1994.
49. Olowa L, Demayo CG. Ethnobotanical uses of medicinal plants among the Muslim Maranaos in Iligan City, Mindanao, Philippines. *Adv Environ Biol*. 2015;9(27):204-15.
50. Dapar MLG, Alejandro GJD, Meve U, Liede-Schumann S. Quantitative ethnopharmacological documentation and molecular confirmation of medicinal plants used by the Manobo tribe of Agusan del Sur, Philippines. *J Ethnobiol Ethnomed*. 2020;16(1).
51. Bruneton J. *Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia*. Primera Ed. Documentation-Lavoisier T et, editor. Zaragoza - España: Editorial Acribia S.A; 1991. 593 p.
52. Sumita V, Mini I, Liaja SN. Antimicrobial activity of *Hyptis capitata* Jacq . -An ethnomedicinal plant of lamiaceae. *Int J Bot Stud*. 2021;6(3):684-7.
53. Sumitha V, Mini I, Nair LS. Larvicidal efficacy of *Hyptis capitata* Jacq. against *Culex quinquefasciatus* mosquito (Culicidae). *Int J Mosq Res* [Internet]. 2021;8(4):42-6. Available from: <http://www.dipterajournal.com>.
54. Yamagishi T, Zhang DC, Chang JJ, McPhail DR, McPhail AT, Lee KH. The cytotoxic principles of *Hyptis capitata* and the structures of the new triterpenes

- hyptatic acid-A and -B. *Phytochemistry*. 1988;27(10):3213-6.
55. Cronquist AJ. *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. New York: Garden TNYBU; 1988.
  56. Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach Hardcover*. Segunda. 2002.
  57. Franco FM, Mustaqim WA. *Introduction to Ethnobotany of the Mountain Regions of Southeast Asia*. Franco MF, editor. Switzerland: Springer Nature Switzerland; 2021. 1138 p.
  58. Paniagua-zambrana NY, Bussmann RW. *Ethnobotany of the andes*. Paniagua-Zambrana NY, Bussmann RW, editors. Switzerland: Springer Nature Switzerland; 2020. 1986 p.
  59. Dominguez Sepúlveda XA. *Métodos de investigación fitoquímica*. Primera Ed. Mexico: Limusa; 1979. 281 p.
  60. Laszlo P, Rivière S. *Perfume: Arte y ciencia*. OMEGA, editor. Barcelona España; 2001.
  61. Ríos JL. *Essential Oils* [Internet]. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier Inc.; 2015. 3-10 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00001-8>
  62. Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. *Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components*. *Front Microbiol*. 2012;3(JAN):1-24.
  63. Volkenshtein M V. *Biofísica*. Moscú: MIR; 1985.
  64. Pybus DH, Sell CS. *The chemistry of fragrances*. Great Britain: The Royal Society of Chemistry; 1999. 297 p.
  65. Hill DK. *Manual de química de aceites esenciales doTerra* [Internet]. 2da. Edici. Hill DK, editor. *The doTERRA Oil Chemistry Wheel*. 2019. 1-80 p. Available from: <https://media.doterra.com/us/es/brochures/essential-oil-chemistry->

handbook.pdf

66. Mohamed HR, Ashoush YA, Taha KM, Abozid MM. Comparative Study Between Ginger, Cinnamon and Chamomile Essential Oils (Physical Properties, Chemical Properties and Chemical Composition). *Menoufia J Agric Biotechnol.* 2021;6(5):45-53.
67. Ullman F. *Enciclopedia de Química Industrial*. España: Editorial Gustavo Gilli S.A; 1931.
68. Cromer AH. *Física para las ciencias de la vida*. Tercera Ed. Barcelona, Bogotá, Buenos Aites, Caracas, México: Editorial Reverté S.A.; 1996.
69. Martínez M. A. *Aceites Esenciales* [Internet]. División de Publicaciones UIS. Medellín Colombia: Universidad de Antioquia; 2003. p. 34. Available from: <https://bit.ly/3y1JZRg>.
70. Lozano Bazán FA, Vásquez Reátegui JC, Jara Herrera C (Asesor). *Caracterización fisicoquímica y cromatográfica del aceite esencial de las hojas de Ambrosia peruviana Willd*. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2021.
71. Shriner RL, Fuson RC, Curtin DY. *Systematic identification of organic compounds*. Quinta Edi. New York: Editorial Wiley N.Y; 1965.
72. Paucar Menacho LM. *Guía de práctica de tecnología de aceites y grasas*. Universidad Nacional del Santa. 2013. p. 1-44.
73. Shoemaker D. Garland CW. *Experiementos de fisicoquímica*. México: Edtorial Utula; 1968.
74. Vásquez Coral M, Flores Amau IS, Jara Herrera C (Asesor). *Caracterización fisicoquímica y cromatográfica del aceite esencial de hojas de Lantana camara L*. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2021.
75. Harborne JB. *Phytochemical methods*. Chapman AH, editor. London; 1973.
76. Campus Y. *Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Analysis of the Essential*

Oil of *Houttuynia cordata* Thunb by Using On-Column Methylation with Tetramethylammonium Acetate. *J AOAC Int.* 2007;90(1):60-7.

77. Rubinson KA, Rubinson JF. *Análisis instrumental*. Primera Ed. Capella I, editor. Madrid - España: PEARSON EDUCACIÓN, S. A; 2001. 872 p.
78. McLafferty FW, Stauffer DB, Loh SY. Comparative Evaluations of Mass Spectral Data Bases. *J Am Soc Mass Spectrom.* 1991;2(5):438-40.
79. Stashenko EE, Martínez JR. Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. *Sci Chromatogr* [Internet]. 2010;2(1):29-47. Available from: <http://www.iicweb.org/scientiachromatographica.com/files/v2n1a3.pdf>
80. Hernandez Sampieri R, Fernandez Collado C, Baptista Lucio M del P. *Metodología de la investigación*. Quinta Edi. Interamericana Editores SADC., editor. México: McGraw Hill; 2010. 656 p.
81. Baner N. *Physical methods of organic chemistry*. Secunda Ed. New York: Interscience N.Y; 1949.
82. West RCJ, Beyer W. *Handbook of Chemistry and Physics*. USA: Editorial CRC-Press; 1988. F-10.
83. García R. La química del Carbono. La Quim del carbono [Internet]. 2000;7(3):1-27. Available from: [http://www7.uc.cl/sw\\_educ/educacion/grecia/plano/html/pdfs/cra/quimica/NM2/RQ2O102.pdf](http://www7.uc.cl/sw_educ/educacion/grecia/plano/html/pdfs/cra/quimica/NM2/RQ2O102.pdf).
84. Farias TC, Eduardo L de S, Lima ZN, Ferreira SB. Screening Antibacteriano Do ( + ) - A - Pineno Frente a cepas bacterianas gram-negativas. *II Congr Bras Ciência da Saúde*. 2017;(83).
85. Bueno-Duarte Y, Mendez-Sánchez SC. Linalool effect on mitochondrial bioenergetics rat liver. *Vitae*. 2015;22(1):33-41.
86. Turkez H, Togar B, Tatar A, Geyikoglu F, Hacimuftuoglu A. Cytotoxic and

- cytogenetic effects of  $\alpha$ -copaene on rat neuron and N2a neuroblastoma cell lines. Biol. 2014;69(7):936-42.
87. Romero-Hernández M de J, Gutiérrez-Coronado O, Luis Muñoz-Carrillo J, Viveros-Paredes JM, Villalobos-Gutiérrez PT. Evaluación del  $\beta$ -Cariofileno sobre el estrés oxidativo de ratones BALB/c con hiperglicemia inducida mediante la administración de estreptozotocina. Eur Sci J ESJ. 2022;18(8):112-28.
  88. Facey PC, Porter RBR, Reese PB, Williams LAD. Biological activity and chemical composition of the essential oil from Jamaican *Hyptis verticillata* Jacq. J Agric Food Chem. 2005;53(12):4774-7.
  89. Azevedo NR, Campos IFP, Ferreira HD, Portes TA, Santos SC, Seraphin JC, et al. Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. Phytochemistry. 2001;57(5):733-6.
  90. Trapp SC, Croteau RB. Genomic organization of plant terpene synthases and molecular evolutionary implications. Genet Soc Am. 2001;158(2):811-32.
  91. Sturgeon KB. Monoterpene Variation in Ponderosa Pine Xylem Resin Related to Western Pine Beetle Predation Author (s): Kareen B. Sturgeon Published by: Society for the Study of Evolution Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/2407647>. Evolution (N Y). 1979;33(3):803-14.
  92. Langenheim JH. Higher plant terpenoids: A phytocentric overview of their ecological roles. J Chem Ecol. 1994;20(6):1223-80.
  93. Sánchez Y, Pino O, Correa TM, Naranjo E, Iglesia A. Estudio Químico Y Microbiológico Del Aceite Esencial De *Piper auritum* KUNTH (CAISIMÓN DE ANÍS). Rev Protección Veg. 2009;24(1):39-46.
  94. Oliveira MJ, Campos IFP, Oliveira CBA, Santos MR, Souza PS, Santos SC, et al. Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. Biochem Syst Ecol. 2005;33(3):275-85.
  95. Pereira Botrel P, Pereira Pinto JEB, Ferraz V, Vilela Bertolucci SK, Campos

Figueiredo F. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl., Lamiaceae em função da sazonalidade. *Acta Sci - Agron.* 2010;32(3):533-8.

96. Taiz L, Zeiger E. *Fisiología Vegetal*. Porto Alegre: Artmed; 2004.
97. Pichersky E, Gang DR. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: An evolutionary perspective. *Trends Plant Sci.* 2000;5(10):439-45.

## ANEXOS

### Anexo 1. Recolección de la muestra



## Anexo 2. Certificado de identificación de la planta



**UNAP**

Centro de Investigación de  
Recursos Naturales  
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO  
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

### CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN BOTÁNICA n.º 006-2024 AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRNA), de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

#### HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por **LLONI PANAIFO CÁRDENAS y NILDA TAPULLIMA PIÑA** bachilleres de la **Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica** de la **Facultad de Farmacia y Bioquímica** de la **Universidad Nacional de la Amazonía Peruana** pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado **“CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Hyptis capitata* Jacq. MEDIANTE PRUEBAS FISICOQUÍMICAS Y CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS”**; ha sido **DETERMINADA** en este centro de investigación y enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP**, como se indica a continuación:

Nº	FAMILIA	ESPECIE	AUTOR
1	LAMIACEAE	<i>Hyptis capitata</i>	Jacq.

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

A los dieciocho días del mes de enero del año dos mil veinticuatro, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,

  
**Richard J. Huaranca Acostupa**  
Coordinador Herbarium Amazonense  
CIRNA - UNAP



### Anexo 3. Cálculo para hallar la densidad del aceite

Peso de picnómetro vacío: 24,380 g (I)

El picnómetro se llenó con agua destilada

Peso de picnómetro más agua: 30,242 g (II)

Luego se restó la masa del picnómetro para obtener la masa de agua.

$$II - I \rightarrow 30,242 - 24,380 = 5,862\text{g}$$

Para determinar la densidad del aceite se usó la fórmula siguiente

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Densidad de agua a 30°C es 0,99567 g/cm<sup>3</sup>

Se calcula el volumen del agua

$$\rho = \frac{m}{v} \rightarrow v = \frac{m}{\rho} = \frac{5,86200}{0,99567} = 5,887 \text{ cm}^3 \text{ o } 5,887 \text{ ml}$$

Este volumen a su vez es el volumen de picnómetro a 30°C de temperatura experimental.

Peso del picnómetro + aceite esencia = 29,489 g (III)

Se resta el peso del picnómetro para obtener el peso o masa de aceite esencial.

$$\text{masa del aceite esencial} = 29,489 - 24,380 = 5,109 \text{ g}$$

Con este peso se calcula la densidad del aceite esencial.

$$\rho = \frac{m}{V} = \frac{5,109 \text{ g}}{5,887 \text{ cm}^3} = 0,8678 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$$

Se obtuvo una densidad de 0,8678 g/cm<sup>3</sup>.

#### Anexo 4.- Cálculo del rendimiento del aceite esencial

Volumen del aceite esencial obtenido 9,5 cm<sup>3</sup>

Densidad del aceite esencial 0,8646 g/cm<sup>3</sup>

Con estos datos se calcula la masa del aceite obtenido

$$m = \rho \cdot V \rightarrow m = 0,8646 \cdot 9,50 = 8,2137 \text{ g}$$

Para hallar el rendimiento se aplica la siguiente relación

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso del aceite esencial} \times 100}{\text{Peso materia prima}} = \frac{8,2137 \text{ g} \times 100}{5,000 \text{ g}} = \frac{821,37 \text{ g}}{5,000 \text{ g}} = 0,1643\%$$

Las inflorescencias de *H. capitata* Jacq. contienen 0,1643 % de aceite esencial.

## Anexo 5. Análisis cromatográfico



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

### UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

#### Informe de resultados

**Solicitante:** Ing. Julio Arce, UNAP  
**Muestra:** Flores frescas (sin código)

**Análisis:** Composición química de volátiles por Microextracción en Fase Sólida y Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (SPME-GC-MS).

**Fecha de entrega de Resultados:** 27 octubre 2021

---

#### RESULTADOS

En las páginas 2 a 4 del presente informe.

Atentamente,

**Dra. Rosario Rojas Durán**

Unidad de Investigación en Productos Naturales

LID-Laboratorio 209

e-mail: [rosario.rojas@upch.pe](mailto:rosario.rojas@upch.pe)

<https://investigacion.cayetano.edu.pe/catalogo/productosnaturales/uijn>

Teléfono: 51-1-3190000 Anexo 233227

Página 1 de 4

Av. Honorio Delgado 430, Lima 31 / Apartado Postal 4314  
Central Telefónica: (511) 319-0000 2402 Secretaría Académica de  
Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri

## COMPUESTOS VOLÁTILES EN FLORES (SIN CÓDIGO)

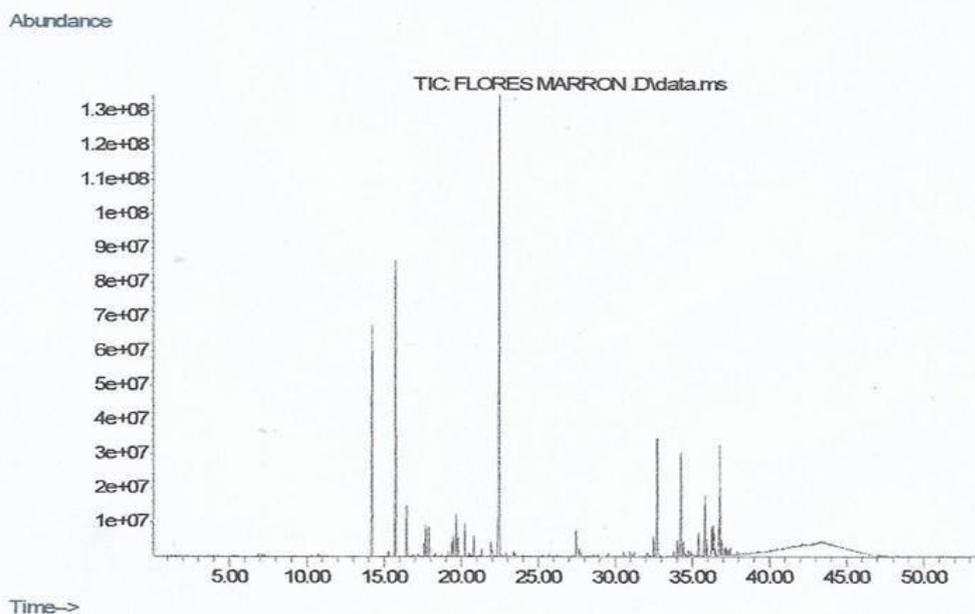
Se identificaron 43 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial.

Número	Nombre del compuesto (NIST08.L)	t <sub>R</sub> (min)	% en la muestra (áreas relativas)
1	Nonano	14.21	10.62
2	Triciclono	15.28	0.28
3	α-Pineno	15.73	14.13
4	Camfeno	16.45	2.28
5	β-Pineno	17.60	0.61
6	6-metil-5-Hepten-2-ona	17.70	1.71
7	α-Terpineno	19.16	0.22
8	1-metoxi-Octano	19.40	0.61
9	p-Cimeno	19.48	0.86
10	D-Limoneno	19.67	1.81
11	trans-β-Ocimeno	19.79	0.92
12	cis-β-Ocimeno	20.24	1.38
13	Desconocido C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	20.52	0.14
14	γ-Terpineno	20.82	0.88
15	Óxido de Linalool	21.33	0.42
16	Terpinoleno	21.93	0.73
17	2-Nonanona	21.99	0.26
18	β-Linalool	22.46	30.95
19	2-metil-hexil éster del ácido butanoico	27.46	1.07
20	3-metil-hexil éster del ácido butanoico	27.67	0.30

Página 2 de 4

21	cis-1-etilideneoctahidro-7a-metil-1H-Indeno	27.74	0.15
22	Desconocido (C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> )	29.51	0.18
23	3,7-dimetil-metil éster del ácido 2,6-Octadienoico	30.54	0.19
24	Desconocido (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	32.07	0.22
25	Ylangeno	32.49	0.93
26	α-Copaeno	32.71	5.62
27	α-Gurjuneno	33.79	0.24
28	β-Maalieno	34.03	0.71
29	β-Cariofileno	34.25	7.49
30	3-metil-octil éster del ácido Butanoico	34.41	0.63
31	6,10-dimetil-5,9-Undecadien-2-ona	34.77	0.25
32	γ-Gurjuneno	34.91	0.25
33	α-Cariofileno	35.39	1.14
34	γ-Muuroleno	35.81	3.36
35	α-Amorfeno	35.92	0.62
36	Cubeneno	36.20	0.25
37	β-Eudesmeno	36.26	1.04
38	Epizonareno	36.31	0.38
39	α-Muuroleno	36.36	1.05
40	α-Selineno	36.39	0.73
41	β-Cadineno	36.48	0.27
42	γ-Cadineno	36.71	0.78
43	Cadina-1(10),4-dieno	36.77	3.37

### Cromatograma GC-MS compuestos volátiles de flores frescas (sin código)



#### Condiciones cromatográficas:

Equipo: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.

Columna: J&W 122-1545.67659 DB-5ms, 325 °C: 60 m x 250 µm x 0.25 µm

Rampa de temperatura: Empieza en 40 °C por 2 min y sube a 5 °C/min hasta 172 °C, 20 °C/min hasta 300 °C manteniéndose por 2 minutos.

Tiempo de corrida: 54.067 min

Split: 5:1

Gas portador: He, 1 ml/min

Muestra: Se coloca 1g de muestra en un vial y agitó en un equipo de ultrasonido por 20 min a 40°C, luego se insertó la fibra DVB/CAR/PDMS (fibra gris) por 10 minutos, se retiró e insertó la fibra en el puerto de inyección del equipo GC-MS.