



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE QUÍMICA

---

---

Caracterización química del aceite esencial  
de *Peperomia hintonii* Yuncker (Piperaceae).

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA:

**RAYMUNDO ALEJANDRO ISLAS ESTRADA**



CDMX.

2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**       **Profesor:** Dra. Rachel Mata Essayag  
**VOCAL:**               **Profesor:** Dra. Isabel del Carmen Rivero cruz  
**SECRETARIO:**       **Profesor:** Dra. Araceli Pérez Vásquez  
**1er. SUPLENTE:**     **Profesor:** Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano  
**2° SUPLENTE:**       **Profesor:** Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO 124, EDIFICIO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

**ASESOR DEL TEMA:**

**Dra. Araceli Pérez Vásquez**

**SUSTENTANTE:**

**Raymundo Alejandro Islas Estrada**

## Agradecimientos

- El presente trabajo se realizó gracias al apoyo económico de los proyectos DGAPA PAPIIT IN217320, CONACyT CB A1\_S\_11226 y PAIP-UNAM 5000-9140, de los cuales es responsable la Dra. Rachel Mata Essayag.
- A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por brindarme la oportunidad de formar parte de esta institución.
- A la Dra. Rachel Mata Essayag, por confiar en mí y permitirme formar parte de su equipo de trabajo.
- A la Dra. Araceli Pérez Vásquez por su asesoría en este trabajo escrito, también por la ayuda y tiempo que dedicó a lo largo de toda mi estancia en el laboratorio de investigación.
- Al Dr. Rober Bye y Dra. Edelmira Linares del Instituto de Biología-UNAM por realizar la identificación taxonómica de la especie *Peperomia hintonii* y por proporcionarme el material vegetal.
- A los miembros de mi Jurado, las Dras. Rachel Mata Essayag e Isabel del Carmen Rivero Cruz, por sus valiosos comentarios y correcciones a este trabajo, enriqueciendo la versión final del mismo.
- Al personal de la Unidad de Servicio de Apoyo a la Investigación y la Industria (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM: Q. Georgina Duarte Lisci y M. en C. Jessica Amacosta Castillo por el registro de los espectros de Masas, Q.F.B. Marisela Gutiérrez por el registro de los espectros de Ultravioleta e Infrarrojo, M. en C. Nayeli López Balbiaux y M. en C. Rosa Isela del Villar por el registro de los espectros mono y bidimensionales de RMN.
- A mis compañeros del laboratorio 124 por su apoyo cuando lo requerí.
- A mis amigos que estuvieron conmigo a lo largo de la carrera, alentándome y dándome ánimos en las buenas y las malas.
- A mis viejos amigos por siempre creer en mí y darme ánimos cuando lo necesitaba.

## **Dedicatoria**

A mis padres Reymundo Islas Reyes y Ma. Leonor Estrada Chávez por todo su apoyo brindado a lo largo de mi trayectoria escolar, por todo el cariño y sacrificios que han hecho para verme convertido en un hombre profesional. Sin ustedes, llegar a este punto hubiera sido muy difícil.

**¡Muchas gracias por todo!**

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS .....	III
LISTA DE TABLAS .....	IV
LISTA DE ABREVIATURAS .....	V
1. ANTECEDENTES.....	1
1.1. Distribución y Taxonomía del género <i>Peperomia</i> .....	1
1.2. Etnobotánica de especies de <i>Peperomia</i> en México.....	2
1.3. Química del género <i>Peperomia</i> .....	5
1.4. Aceites esenciales del género <i>Peperomia</i> .....	9
1.5. Toxicidad del safrol y sus derivados.....	11
1.6. Taxonomía y etnobotánica de <i>Peperomia hintonii</i> .....	15
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN .....	16
3. OBJETIVOS.....	18
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	19
4.1. Procedimientos generales.....	19
4.2. Material vegetal .....	19
4.3. Determinación de las constantes espectroscópicas y espectrométricas.....	20
4.4. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM).....	20
4.5. Identificación química.....	21
4.6. Obtención y análisis del aceite esencial de <i>P. hintonii</i> .....	21
4.7. Aislamiento de safrol y miristicina de la esencia .....	21
4.8. Microextracción en Fase sólida.....	22
4.9. Evaluación del efecto inhibitorio sobre la enzima $\alpha$ -glucosidasa .....	22
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	24
5.1. Análisis del Aceite esencial de <i>P. hintonii</i> .....	25
5.2. Microextracción en fase sólida con espacio de cabeza (MEFS-EC) .....	27
5.3. Caracterización de los metabolitos mayoritarios por RMN.....	29
5.4. Efecto inhibitorio sobre la enzima $\alpha$ -glucosidasa .....	31
6. CONCLUSIONES .....	32
7. PERSPECTIVAS .....	33
8. REFERENCIAS .....	34

9. ANEXOS.....44

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Distribución geográfica de <i>Peperomia spp.</i> a nivel mundial .....	<b>1</b>
2. Distribución geográfica de especies de <i>Peperomia</i> usadas en México .....	<b>4</b>
3. Metabolitos reactivos del safrol .....	<b>12</b>
4. Partes aéreas de <i>Peperomia hintonii</i> .....	<b>15</b>
5. Cromatograma iónico total del aceite esencial de la planta fresca de <i>P. hintonii</i> .....	<b>26</b>
6. Cromatograma iónico total del aceite esencial de la planta seca de <i>P. hintonii</i> .....	<b>26</b>
7. Cromatogramas iónicos totales de los componentes volátiles extraídos por MEFS-EC de las partes aéreas secas de <i>P. hintonii</i> .....	<b>28</b>
8. Espectro de RMN- <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) del aceite esencial de planta fresca de <i>P. hintonii</i> (10 mg en 0.7 mL de CDCl <sub>3</sub> ).....	<b>30</b>
9. Espectro de RMN- <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) del aceite esencial de planta fresca de <i>P. hintonii</i> (10 mg en 0.7 mL de CDCl <sub>3</sub> ) .....	<b>30</b>
10. Metabolitos identificados en el aceite esencial de <i>P. hintonii</i> .....	<b>44</b>
11. Espectros de masas por Impacto Electrónico de los compuestos identificados .....	<b>45</b>



## LISTA DE TABLAS

<b>Tablas</b>	<b>Página</b>
1. Especies de <i>Peperomia</i> usadas en México .....	<b>2</b>
2. Metabolitos presentes en especies del género <i>Peperomia</i> usadas en México	<b>5</b>
3. Composición del agente revelador utilizado .....	<b>19</b>
4. Componentes identificados por CG-EM en los aceites esenciales de <i>P. hintonii</i> .....	<b>25</b>
5. Componentes identificados por MEFS-EC en las partes aéreas secas de <i>P. hintonii</i> .....	<b>29</b>
6. $CI_{50}$ e inhibición de los compuestos y esencia contra la enzima $\alpha$ -glucosidasa .....	<b>31</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ALT	Alanina aminotransferasa
ARN	Ácido ribonucleico
AST	Aspartato aminotransferasa
°C	Grados celsius
CCD	Cromatografía en Capa Delgada
CCDP	Cromatografía en Capa Delgada Preparativa
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano
CI <sub>50</sub>	Concentración Inhibitoria Media
cm	Centímetro
COX	Ciclooxigenasa
eV	Electronvolts
g	Gramo
GC	Cromatografía de Gases
GC-MS	Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas
GSH	Glutación
h	Hora
H <sub>2</sub> O <sub>d</sub>	Agua Destilada
HCT-116	Línea Celular de Cáncer de Colon Humano
HET-CAM	Test de Irritación Ocular
HL-60	Células de leucemia promielocítica humana
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
i.p.	Intraperitoneal
kg	Kilogramo
L	Litro
µL	Microlitro
µm	Micrómetro
µM	Micromolar
m	Metro
m/z	Relación masa-carga
MBI	Mecanismo basado en inhibición
MCF-7	Línea celular de cáncer de Mama
MEFS-EC	Microextracción en Fase Sólida con Espacio de Cabeza
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
MHz	Mega Hertz
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
mmol	Milimol
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de Sodio
NaCl	Cloruro de Sodio
nm	Nanometro
p.o.	Administración Oral
PBS	Buffer Fosfato Salino
PC3	Línea Celular de Cáncer de Próstata
pH	Medida de acidez o alcalinidad
ppm	Partes Por Millón
s	Segundo
RMN- <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica

RMN- <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13
SNB-19	Línea Celular de Cáncer en Glía. (Glioblastoma)
T0	Tiempo cero (inicial)
T20	Tiempo a los 20 minutos
TMS	Tetrametilsilano
TNF-R	Receptor del Factor de Necrosis Tumoral
U	Unidades
UPLC-MS	Cromatografía Líquida de Ultra Eficiencia-Espectrometría de Masas
UV	Espectroscopía en el Ultravioleta

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. Distribución y Taxonomía del género *Peperomia*

El género *Peperomia* pertenece a la familia Piperaceae y fue nombrado así por los botánicos españoles Hipólito Ruíz López y José Antonio Pavón y Jiménez en el año de 1794. Desde las primeras descripciones que hicieron estos botánicos, hasta el día de hoy existen alrededor de 1500 especies registradas, lo que lo convierte en el segundo más abundante de la familia, después del género *Piper* (Vergara-Rodríguez, et al., 2017). Etimológicamente el nombre *Peperomia* hace alusión a su semejanza con las inflorescencias de la pimienta negra: en griego *Peper-homoios* que significa “parecido a la pimienta” (Samain, et al., 2007).

El género incluye especies epífitas que corresponden al 43% del total y existen en menor cantidad, terrestres, rupícolas y geófitas (Zotz, 2016; Zanotti y Biganzoli, 2010). La mayoría de las especies de este género tienen distribución pantropical y en nuestro continente se encuentran principalmente en México, Centro y Sur de América (**Figura 1**). Alrededor del mundo se encuentran también en África, Asia y Oceanía (Vergara Rodríguez, 2013; Gutiérrez, et al., 2016).

En el caso de México, su presencia es sumamente relevante ya que nuestro país ocupa el quinto lugar a nivel mundial en riqueza de especies de *Peperomia*, con 131 contabilizadas hasta la fecha. De este total, la mayoría de ellas se concentran en los estados del Este-Sureste mexicano (**Figura 2**): Veracruz con 60 especies registradas, Chiapas con 78, Oaxaca con 68, Puebla con 35, Hidalgo con 29, San Luis Potosí con 25, Tabasco con 20 y Tamaulipas con 19 (Vergara-Rodríguez, 2017; Villaseñor, 2016).



Figura 1. Distribución geográfica mundial del género *Peperomia* (tomado de: Fajado Ramos, 2017).

## 1.2. Etnobotánica de especies de *Peperomia* en México

Siendo los estados de Veracruz, Oaxaca y Chiapas los que registran la mayor cantidad de especies, es comprensible que poblaciones tanto rurales como indígenas de estos estados hayan incorporado a sus prácticas médicas tradicionales el uso de algunas de ellas. También, su consumo como alimento es destacado y muchas son consumidas solas y frescas, como acompañamiento en las comidas (Martínez-Bautista, et al., 2019; Vergara-Rodríguez, et al., 2017). Destacan también los usos ceremoniales o sobrenaturales, ya que algunas de ellas son usadas para adornar santos, altares o para “barrer” a las personas y quitar el “mal de ojo”. En la **Tabla 1** se resumen algunos de los usos documentados en México de especies del género.

**Tabla 1.** Especies de *Peperomia* usadas en México.

Especie	Nombre común	Uso popular	Distribución	Estudios farmacológicos	Referencia
<i>P. alpina</i>	NR*	Medicinal (granos en la piel: Oaxaca)	Chiapas y Oaxaca	**	Martínez-Bautista, et al., (2019)
<i>P. angustata</i> Kunth	NR*	Medicinal (reumas, dolor de oído: Veracruz)	Campeche, Chiapas, Jalisco, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán	**	Vergara Rodríguez, (2013)
<i>P. blanda</i>	NR	Medicinal (ansiedad y pánico: Oaxaca)	Chiapas, Coahuila, Colima, Hidalgo, Jalisco, Nuevo León, Oaxaca, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz	**	Martínez-Bautista, et al., (2019) Villaseñor, (2016) Veloza, et al., (2009) Zhang, et al., (2020)
<i>P. clavigera</i>	NR*	Medicinal (dolor de estómago: Oaxaca)	Oaxaca	**	Martínez-Bautista, et al., (2019)
<i>P. collocata</i>	Bejuco del nacido	Medicinal (El jugo de la planta sobre espinillas (Oaxaca, Puebla y Veracruz)	Oaxaca, Puebla y Veracruz	**	Zamora-Martínez, et al., (1992).
<i>P. galioides</i>	NR*	Chiapas: Medicinal (trastornos gastrointestinales y enfermedades respiratorias)	Chiapas	**	Meckes, et al., 1995
<i>P. hernandiifolia</i>	NR*	Comestible (las hojas frescas se agregan a frijoles cocidos, tamales y memelas: Oaxaca)	Chiapas, Oaxaca y Veracruz	**	Martínez-Bautista, et al., (2019) Villaseñor, (2016)
<i>P. hispidula</i>	Lenteja	Medicinal (úlceras gástricas: Chiapas)	Chiapas, Colima, CDMX, Durango, Guerrero, Hidalgo,	Efecto gastroprotector	Sánchez-Mendoza, et al., (2015) Villaseñor, (2016)

			Jalisco, Edo. de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Querétaro, Tabasco y Veracruz		
<i>P. hobbitoides</i>	Cilantro del monte o cilantro de la roca.	Comestible (condimento: Veracruz)	Veracruz	**	Vergara Rodríguez, (2013)
<i>P. humilis</i>	Hierba del reuma.	Medicinal (Se ponen hojas machacadas directamente sobre la parte afectada; para aliviar los reumas: Oaxaca, Puebla y Veracruz)	Chiapas, Guerrero, Edo. de México, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo y Veracruz	**	Zamora-Martínez, et al., (1992)
<i>P. lenticularis</i>	Sopa-causasa, cumazani	Alimenticio: Hidalgo	Chiapas e Hidalgo	**	Ordóñez Díaz, (2018) Villaseñor, (2016)
<i>P. leptophylla</i>	NR*	Medicinal (dolor de dientes: Oaxaca); Medicinal y comestible: Veracruz	Chiapas, CDMX, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Edo. de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla y Veracruz	**	Martínez-Bautista, et al., (2019) Vergara Rodríguez, (2013)
<i>P. maculata</i>	Cilantro de monte o najashuio macho	Comestible: Puebla y Veracruz	Puebla y Veracruz	**	Palmarola, et al., (2012)
<i>P. maculosa</i>	Oreja de burro, oreja de león	Comestible: sureste del país, medicinal (en la erisipela: Veracruz)	Chiapas, Michoacán, Edo. de México, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Veracruz	El aceite esencial presenta actividad inhibitoria de la lipasa y antibacteriana contra <i>S. aureus</i> y <i>E. faecalis</i>	Vergara Rodríguez, (2013) Villa-Ruano, (2018) Villaseñor, (2016)
<i>P. obtusifolia</i>	NR	Oaxaca: Ceremonial y para enfermedades de filiación cultural como "mal aire", "mal de ojo", "susto", para altares de santos	Campeche, Chiapas, Durango, Hidalgo, Jalisco, Guerrero, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco y Veracruz	Actividad contra epimastigotes de la cepa Y de <i>T. cruzi</i> (CI = 50 4.3 mg/ mL)	Da Silva Mota, (2009) Martínez-Bautista, et al., (2019) Vergara Rodríguez, (2013)
<i>P. pecuniifolia</i>	NR*	Comestible (Se agrega a los frijoles cocidos: Oaxaca)	Chiapas y Oaxaca.	**	Martínez-Bautista, et al., (2019)
<i>P. pellucida</i>	Tsuxk Huaj Aptx (mixe) hierba de la vaca	Inflamación y problemas dermatológicos (erisipela: Veracruz)	Campeche, Chiapas, Guerrero, Jalisco, Edo. de México, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, Sinaloa, Tabasco, Veracruz y Yucatán	Actividad inhibitoria in vitro contra COX-1 actividad antiinflamatoria (ensayo de HETCAM)	Heinrich, (2000) Vergara Rodríguez, (2013)
<i>P. peltimiba</i>	Cilantro de monte o najashuio hembra,	Veracruz y Puebla: Comestible Oaxaca: Medicinal (pies inflamados),	Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Oaxaca, Puebla, Querétaro,	**	Martínez-Bautista, et al., (2019) Palmarola, et al., (2012)

	tequelite, tepoquelite	Veracruz: Veterinario (remueve gusanos en vacas) y ceremonial	San Luis Potosí y Veracruz		Vergara Rodríguez, (2013) Villaseñor, (2016)
<i>P. quadrangularis</i>	NR*	Oaxaca: Comestible, ceremonial y medicinal, para el mal aire	Oaxaca	Actividad citotóxica contra células: HCT-116, SNB-19, PC3, HL60, y MCF-7	De Souza Santos, et al., (2020) Martínez-Bautista, et al., (2019)
<i>P. quadrifolia</i>	Verdolaga	Oaxaca: Alimenticio, veterinario, ceremonial y medicinal	Campeche, CDMX, Chiapas, Coahuila, Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Edo. México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tabasco, Tamaulipas y Veracruz	**	Martínez-Bautista, et al., (2019) Rangel-Landa, et al., (2016) Vergara Rodríguez, (2013) Villaseñor, (2016)
<i>P. rotundifolia</i>	Caminante	Oaxaca y Veracruz: alimenticio, medicinal, veterinario y en decoración de altares	Chiapas, Colima, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tabasco y Veracruz	**	Martínez-Bautista, et al., (2019) Vergara Rodríguez, (2013) Villaseñor, (2016)
<i>P. tetraphylla</i>	NR*	Veracruz: Medicinal (tratamiento de reumas)	Chiapas, CDMX, Colima, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Edo. de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora y Veracruz	Actividad citotóxica contra células U937	Vergara Rodríguez, (2013) Villaseñor, (2016). Yu, et al., (2016)

\*NR: No reportado; \*\* No existen datos a la fecha.

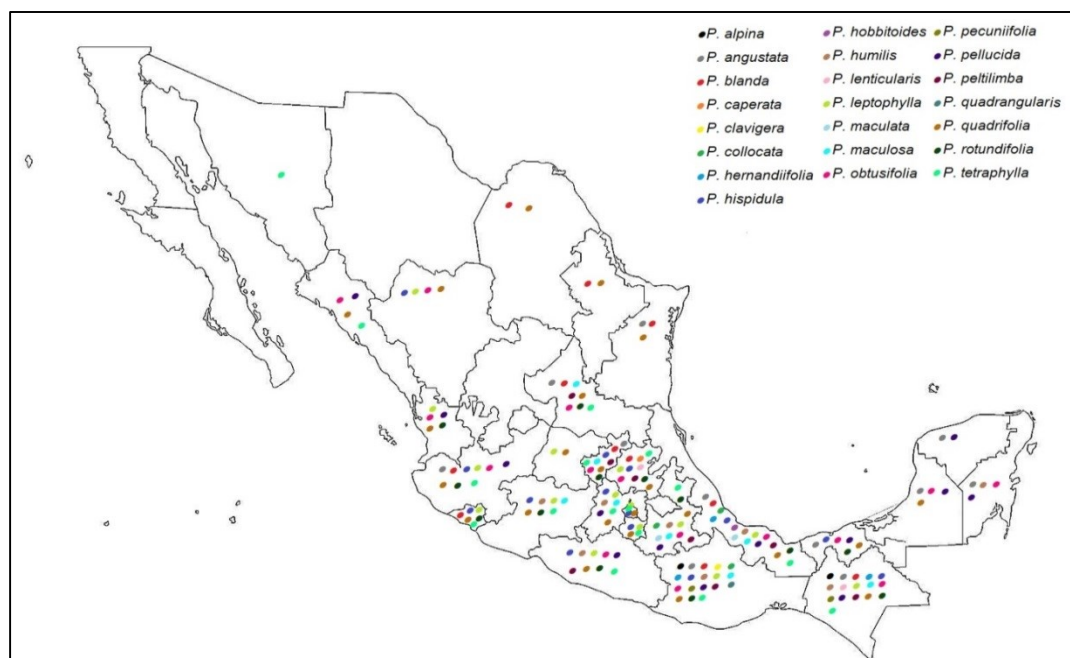
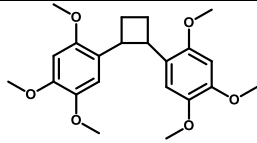
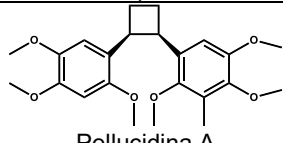
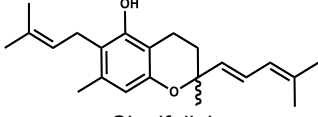


Figura 2. Distribución geográfica de especies de *Peperomia* usadas en México (ver Tabla 1).

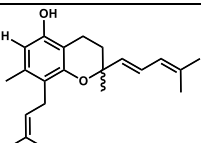
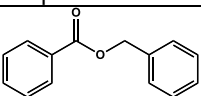
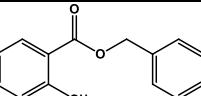

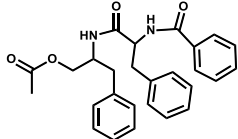
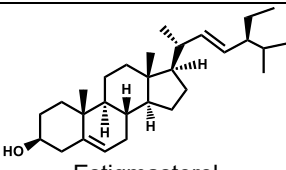
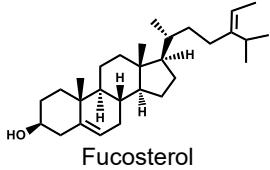
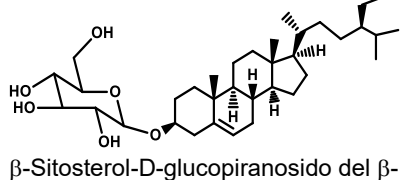
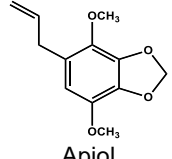

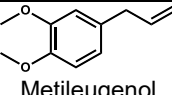
### 1.3. Química del género *Peperomia*

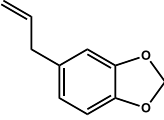
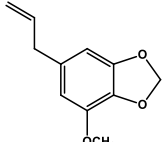
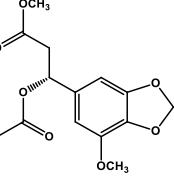
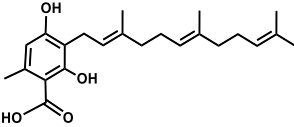
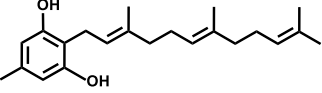
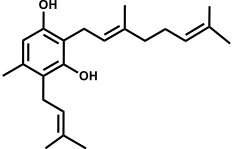
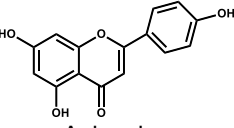
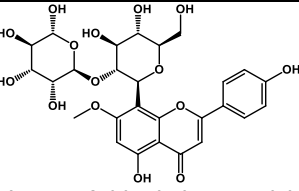
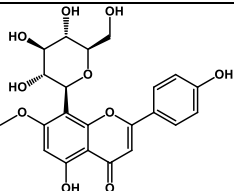
Por lo que respecta al contenido metabólico, en el género se han aislado compuestos con una gran diversidad estructural. Resaltan así los fenilpropanoides derivados del safrol (ejem: apiol), los meroterpenoides con residuos de ácido orsenílico (ejem: grifolina), que en algunos casos forman cromenos (ejem: clusifoliol). También son muy relevantes los lignanos, destacándose la presencia de una serie de secolignanos que han sido designados como peperominas. Los flavonoides son menos abundantes, pero destacan las flavonas glicosiladas, principalmente como C-glicósidos (ejem: isoswerticina). El dipéptido acetato de aurantiamida, presente en algunas especies del género *Piper*, también se ha descrito en *Peperomia*. En algunas especies del género se han aislado dímeros formando anillos de ciclobutano clasificados como bisnorlignanos (pelucidina A y pachipofilina), de los cuales se especula si realmente son productos naturales, o son generados a partir de reacciones de fotodimerización, sin embargo, a la fecha no hay estudios que demuestren su origen (Gutierrez, et al., 2016). En la **Tabla 2** se presentan algunos ejemplos de metabolitos aislados de especies de *Peperomia* de importancia, tanto medicinal como alimenticia usadas en México.

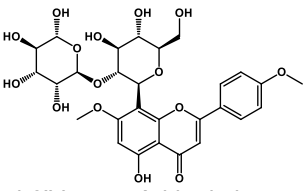
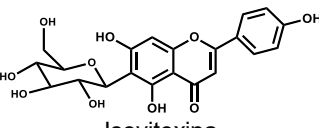
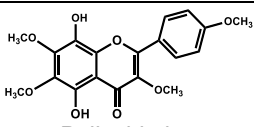
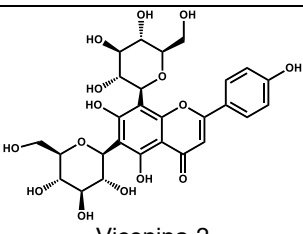
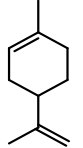
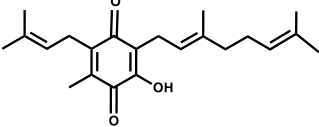
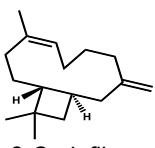
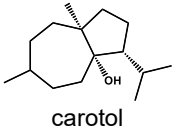
**Tabla 2.** Metabolitos presentes en especies del género *Peperomia* usadas en México.

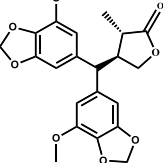
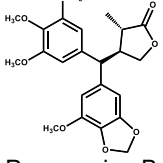
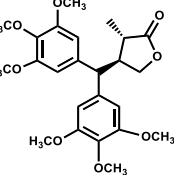
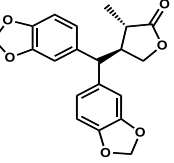
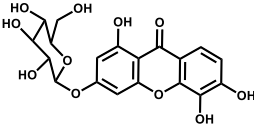
Categoría	Nombre y estructura	Especie de la cual se obtuvo.	Referencia
Bisnorlignanos	 Pachipofilina	<i>P. pellucida</i>	Ragasa, et al., 1998
	 Pellucidina A	<i>P. pellucida</i>	Ahmad, et al., 2019
Cromanos prenilados	 Clusifoliol	<i>P. obtusifolia</i>	Da Silva Mota, et al., 2009



	 <p>Peperobtusina A</p>	<i>P. obtusifolia</i>	Da Silva Mota, et al., 2009
Derivados de ácido benzoico	 <p>Benzoato de bencilo</p>	<i>P. tetraphylla</i>	Klein-Júnior, et al., 2016
	 <p>Salicilato de bencilo</p>	<i>P. tetraphylla</i>	Klein-Júnior, et al., 2016
Derivado de ácido graso	 <p>Decanal</p>	<i>P. rotundifolia</i> <i>P. maculosa</i>	De Lira, et al., 2009 Villa-Ruano, et al., 2018
Dipéptido	 <p>Acetato de aurantiamida</p>	<i>P. pellucida</i>	Ragasa, et al., 1998
Esteroides	 <p>Estigmasterol</p>	<i>P. pellucida</i>	Raghavendra, et al., 2018
	 <p>Fucosterol</p>	<i>P. pellucida</i>	Bialangi, et al., 2018
	 <p><math>\beta</math>-Sitosterol-D-glucopiranosido del <math>\beta</math>-sitosterol</p>	<i>P. pellucida</i>	Raghavendra, et al., 2018
Fenilpropanoides	 <p>Apiol</p>	<i>P. obtusifolia</i>	Ilyas, et al., 2014
	 <p>Dillapiol</p>	<i>P. pellucida</i>	Da Silva, et al., 1999
	 <p>Metileugenol</p>	<i>P. hispidula</i>	Arrieta, et al., 2018 Sánchez-Mendoza, et al., 2015

	 <p>Safrol</p>	<i>P. galioides</i>	Robayo-Gama, et al., 2010
	 <p>Miristicina</p>	<i>P. pellucida</i>	Alves, et al., 2018
	 <p>Propionato de (+)-metil 3-acetoxi-3-(7-metoxi-1,3-benzodioxol)-5-ilo</p>	<i>P. tetraphylla</i>	Li, et al., 2012
Fenoles prenilados	 <p>Ácido grifólico</p>	<i>P. galioides</i>	Fournet, et al., 1996
	 <p>Grifolina</p>	<i>P. galioides</i>	Fournet, et al., 1996
	 <p>Piperogalina</p>	<i>P. galioides</i>	Fournet, et al., 1996
Flavonoides	 <p>Apigenina</p>	<i>P. pellucida</i>	Gutierrez, et al. 2016
	 <p>2''-L-ramnósido de isoswertisina</p>	<i>P. pellucida</i>	Mota, et al., 2011
	 <p>Isoswertisina</p>	<i>P. pellucida</i>	Mota, et al., 2011

	 <p>4'metoxi-2''-L-ramnósido de isoswertisina</p>	<i>P. pellucida</i>	Mota, et al., 2011
	 <p>Isovitexina</p>	<i>P. pellucida</i>	Gutierrez, et al. 2016
	 <p>Pellucidatina</p>	<i>P. pellucida</i>	Gutierrez, et al. 2016
	 <p>Vicenina-2</p>	<i>P. blanda</i>	Velozo, et al., 2009
Monoterpeno	 <p>Limoneno</p>	<i>P. rotundifolia</i>	De Lira, et al., 2009
Quinonas preniladas	 <p>Piperogalona</p>	<i>P. galiodes</i>	Mahiou, et al., 1996
Sesquiterpenos	 <p><math>\beta</math>-Cariofileno</p>	<i>P. obtusifolia</i>	Ilyas, et al., 2014
	 <p>carotol</p>	<i>P. pellucida</i>	Alves, et al., 2018

Seco-lignanós	 <p>Peperomina A</p>	<i>P. pellucida</i>	Xu, et al., 2006
	 <p>Peperomina B</p>	<i>P. pellucida</i>	Xu, et al., 2006
	 <p>Peperomina C</p>	<i>P. pellucida</i>	Xu, et al., 2006
	 <p>Peperomina D</p>	<i>P. pellucida</i>	Xu, et al., 2006
Xantona	 <p>Patulósido-A</p>	<i>P. pellucida</i>	Raghavendra, et al., 2018

#### 1.4. Aceites esenciales del género *Peperomia*

Con respecto a las especies de *Peperomia* enlistadas en la **Tabla 1**, de algunas de ellas se han obtenido sus aceites esenciales por hidrodestilación y se han analizado por cromatografía de gases. Los resultados han permitido determinar que se destacan por contener compuestos de tipo fenilpropanoides como el safrol, la miristicina, el apiol y el dilapiol, aunque también se han identificado derivados de ácido benzoico, algunos derivados de ácidos grasos de cadena larga, sesquiterpenoides y monoterpenoides (**Tabla 2**).

Una de las esencias más estudiadas ha sido la de *P. pellucida*, esto debido a su amplia variedad de usos en diferentes regiones del mundo como son: África, Sur de Asia, y algunos países de Latinoamérica (Kartika, et al., 2016). Debido a la información tan basta que existe, se ha llegado a establecer una serie de quimiotipos, todos ellos

relacionados a la variación en el contenido de dilapiol y miristicina; el quimiotipo africano contiene alrededor de 37% de dilapiol, seguido de miristicina (alrededor de 11%); el quimiotipo de Brasil contiene hasta 55% de dilapiol, y destaca la ausencia de miristicina. En el caso del quimiotipo de la India, se detectó al sesquiterpeno carotol como principal metabolito (alrededor de 32%), seguido del dilapiol, con un 30% reportado (Alves, et al., 2018).

Con respecto a *P. obtusifolia*, también existen datos sobre su composición química y contiene como compuesto mayoritario al apiol (~17%) (Ilyas, et al., 2014); en *P. galioides*, se identificó al safrol como compuesto mayoritario presente en un 42% (Robayo-Gama, et al., 2010).

En el caso de *P. rotundifolia*, una especie epífita, se analizaron sus aceites esenciales obtenidos de especie provenientes de los diferentes árboles-huésped en los que crece (Zoghbi, et al., 2005). El objetivo de los autores era determinar como podría afectar la asociación en la composición de *P. rotundifolia* cuando crecía sobre *Pouteria caimito* (Sapotaceae), *Croton sacaquinha* (Euphorbiaceae), *Citrus aurantifolia*, (Rutaceae), *Chrysobalanus icaco* (Chrysobalanaceae) y *Malpighia puniceifolia* (Malpighiaceae). Los autores no detectaron la presencia de fenilpropanoides, por el contrario, los aceites se destacaron por contener el monoterpeno limoneno como metabolito mayoritario (28–35%) (Zoghbi, et al., 2005). Este estudio contrasta con otro realizado en 2009, donde el metabolito mayoritario detectado fue el decanal (43%), aunque se confirmó la presencia del limoneno como segundo mayoritario (8%) (de Lira, et al., 2009).

Otra especie en la que tampoco se han detectado fenilpropanoides es *P. maculosa*; al igual que en *P. rotundifolia*, se encontró al decanal (48%), seguido del ácido láurico (37%) (Villa-Ruano, 2018).

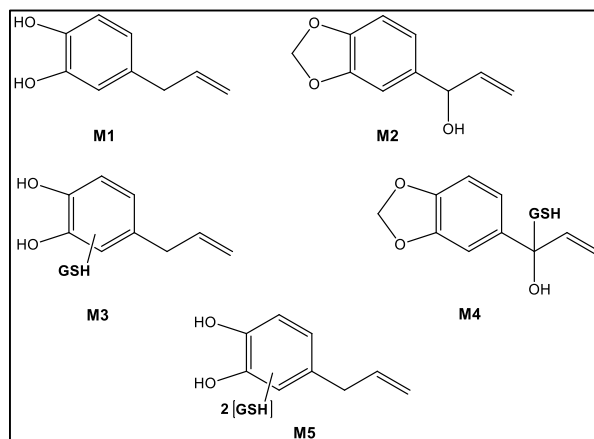
Interesantemente y distinguiéndose de las otras especies de *Peperomia* usadas en México, *P. tetraphylla* contiene benzoato de bencilo y salicilato de bencilo como componentes principales (44 y 17%, respectivamente) (Klein-Júnior, et al., 2016). Estos compuestos no son muy comunes en el género *Peperomia*, pero si están presentes en varias especies del género *Piper* (Fernandes-Silva, et al., 2020).

## 1.5. Toxicidad del safrol y sus derivados

Siendo el safrol y sus derivados, parte de la composición de varias especies de *Peperomia* spp, llama la atención el riesgo que podrían representar estos metabolitos en el consumo de las especies vegetales que los contengan. Fue el investigador Sueco Freddy Homburger quien expusiera por primera vez en 1961 la hepatotoxicidad del safrol al trabajar con ratas machos (cepa CFN), alimentadas con dieta normal y enriquecidas con 1 % de safrol (Homburger, et al., 1961). Diez años después, la OMS publicó en 1971 el primer volumen de lo que sería una serie de monografías realizadas por la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) en las cuales se resumían todas las evidencias existentes hasta la fecha sobre diversos compuestos que representaban un riesgo de carcinogenicidad y mutagenicidad y que eran principalmente usados en la industria de alimentos (IARC, 1972). El safrol, isosafrol y el dihidrosafrol, fueron incluidos en este primer volumen. A partir de aquí sucedieron una serie de restricciones para su uso tanto en alimentos como en productos del hogar. Y es que antes de 1960, el safrol era considerado uno de los aditivos más importantes en la industria cervecera, de dulces, productos cárnicos, y se incorporaba también a pastas de dientes y algunas bebidas refrescantes (Kempriai, et al., 2019). Pocas industrias de alimentos se resistían a su aroma característico a “tienda de dulces”. En 1997 la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos lo clasificó como un hepatocarcinógeno débil con genotoxicidad asociada (sólo demostrada en roedores), originando restricciones más severas sobre su uso en alimentos (Kempriai, et al., 2019). Actualmente el safrol se encuentra enlistado como “posible cancerígeno para los seres humanos” por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) “ (ubicándose en el grupo 2B) (Pflaum, et al., 2016) y el nivel permitido de safrol e isosafrol se indica que no debe ser mayor a 0.5 mg por kg para alimentos y bebidas alcohólicas y 0.05% para bebidas no alcohólicas (Kempriai, et al., 2019).

Sobre la forma en que ejerce su toxicidad se han publicado varios trabajos. Recientemente Hu y colaboradores (2019) dieron a conocer los resultados relacionados a su biotransformación y posterior formación de metabolitos reactivos (MR), la cual se sabe es mediada por el citocromo CYP450 (Hu, et al., 2019). Utilizaron el modelo

hepático in vitro de células HepaRG®, que son hepatocitos diferenciados que se derivan de una línea celular progenitora hepática humana y que retienen muchas características de los hepatocitos humanos primarios. Los autores encontraron lo que varias publicaciones ya habían reportado en experimentos anteriores: que uno de los metabolitos reactivos (MR) del safrol es un producto de oxidación (M1) generado por la apertura del anillo de dioxolano, presente en todos los derivados del safrol (Bolton, et al., 1994; Yang, et al., 2018). Este producto de oxidación inicialmente es una *o*-quinona que debido a su inestabilidad, es fácilmente interconvertida a su forma dihidroxilada (M1, conocido como hidroxichavicol). Los autores también detectaron otro metabolito reactivo en menor proporción, e identificaron que se trataba de un producto de una  $\omega$ -oxidación en el residuo alílico (M2). Estos dos metabolitos se formaron como parte del metabolismo de Fase 1 del safrol y mediadas principalmente por la isoforma CYP1A2 y en menor participación de CYP2E1. También se detectó la presencia de tres metabolitos reactivos adicionales (M3, M4 y M5, **Figura 3**) conjugados con glutatión (GSH) y generados por un exceso de metabolitos M1 y M2, originando de esta manera una disminución en la biodisponibilidad del GSH. Los autores encontraron que el agotamiento de GSH es un evento iniciador en la citotoxicidad inducida por el safrol. La posterior sobreproducción de M1 y la poca disposición de GSH resultaron en la hepatotoxicidad elevada del safrol. Sin embargo, los mismos autores mencionan que estos resultados no explican cómo podrían afectar los factores genéticos y/o ambientales que contribuyen a la hepatotoxicidad idiosincrásica de este fenilpropanoide (Hu, et al., 2019).



**Figura 3.** Metabolitos reactivos del safrol.

Sobre las evidencias de la hepatotoxicidad no se puede negar el hecho de que el safrol, al igual que varios derivados de este metabolito, están presentes en altas concentraciones en especias y plantas de uso común en la cocina, destacándose las que pertenecen a la familia Lauraceae como *Sassafras albidum* (sasafrás) y *Ocotea pretiosa*, *Cinnamomum camphora*, y algunas de la familia Piperaceae del género *Piper*: *P. divaricatum*, *Piper betle* o *P. hispidinervum* (Kempriai, et al., 2019). También se encuentra en la nuez moscada (*Myristica fragrans*), aunque en esta última el contenido de safrol e isosafrol es menor en comparación a la miristicina. Esto ha originado que algunas investigaciones se dirijan a demostrar también su efecto benéfico. Pushpavalli y colaboradores (2009) al estudiar la especie *P. betle* conocida comúnmente como betel, encontraron que un extracto hidroalcohólico de hoja administrado en una dosis de 200 mg/kg (p.o.), ejerció un efecto antioxidante significativo en ratas albinas Wistar (Pushpavalli, et al., 2008, 2009). El safrol, al ser administrado en ratones BALB/c por vía oral (p.o.) a las dosis de 4, 8 y 12 mg/kg, mostró un efecto potenciador de la respuesta inmune al reducir la población de CD3 (células T) y CD19 (células B) (Rahman, et al., 2019). También se ha encontrado que el safrol y su metabolito hidroxichavicol (M1) ejercen efectos beneficiosos y/o tóxicos dependientes de la concentración/dosis en los sistemas de ensayo; ellos presentan no solo un efecto anticancerígeno importante, sino también un efecto sinérgico entre sí y potencian los efectos citotóxicos de algunos medicamentos contra el cáncer, como es el caso del cisplatino (Young, et al., 2006) y 5-fluorouracilo (Ng, et al., 2014).

En el caso particular de la miristicina, su cuestionada psicotoxicidad estuvo falsamente soportada sobre un planteamiento teórico presentado en la revista *Nature* en el año 1966 que involucra la adición “potencial” in vivo de una molécula de amonio, para dar origen a la 3,4-metilendioxi-metanfetamina (MMDMA, una anfetamina sintética relacionada a la MDMA o éxtasis) que se empezó a popularizar por esas fechas (Shulgin, 1966). Algunos años después de esta publicación, Braun y colaboradores (1973) alimentaron el mito de la psicotoxicidad ya que dieron a conocer los resultados realizados sobre homogeneizados de hígado de ratas albinas Wistar administradas con miristicina y en las cuales detectaron por cromatografía en capa fina al MMDMA. Ellos planteaban que una reacción de transaminación precedía a una oxidación para formar



al grupo amino en la cadena alílica (Braun y Kalbhen, 1973). Sin embargo, estudios recientes utilizando técnicas analíticas como es la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas y utilizando ratas machos Wistar y humanos (Beyer et al., 2006), así como en ratones machos de la cepa C57BL/6, demostraron que no se genera ningún derivado de anfetamina (Zhu, et al., 2019), pero sí se demostró que los metabolitos generados eran productos tanto de la oxidación en el anillo como en la cadena alílica.

La miristicina, al poseer un residuo de metilendioxi-bencilo puede, como el safrol, ser biotrasformado por los citocromos CYP450 (Yang, et al., 2015; Zhu, et al., 2019). En este sentido, se ha demostrado que las reacciones de fase 1 que le ocurren a la miristicina son la hidroxilación, apertura del anillo del dioxolano y la deshidratación, siendo el principal metabolito reactivo formado la 1'-hidroximiristicina, que se origina de la  $\omega$ -oxidación por efecto de la CYP1A1, en contraste con el safrol, que el principal metabolito detectado es el que se genera de la ruptura del anillo de dioxolano por efecto principalmente de la CYP1A2. También, otra diferencia relevante con respecto al safrol, es que la miristicina presenta como reacciones de fase 2 la conjugación con ácido glucurónico y Nac (N-acetilcisteína) (Zhu, et al., 2019).

Debido a varios reportes sobre efectos alucinógenos al consumir nuez moscada, se llegó a plantear que la miristicina podría actuar como un antagonista de los receptores de serotonina, sin embargo, a la fecha no ha sido demostrado este efecto. (Dawidowicz, et al., 2012; Lee, et al., 2005).

Por otra parte, un estudio realizado con la miristicina, así como de 21 especias que la contienen, entre ellas la nuez moscada (*Myristica fragrans*), y la pimienta negra (*Piper nigrum*), se demostró el efecto hepatoprotector en presencia de inductores de lesión hepática (Morita, et al., 2003). Se prepararon extractos etanólicos que fueron administrados a ratas con daño hepático causado por la administración intraperitoneal de lipopolisacárido (LPS) y D-galactosamina (D-GalN) que causan apoptosis de los hepatocitos a través de la acción del factor de necrosis tumoral TNF- $\alpha$  que es liberado de los macrófagos en respuesta a la presencia principalmente de LPS (Morita, et al., 2003). La miristicina marcadamente suprimió el aumento de TNF- $\alpha$  en suero y la ruptura del ADN causada por LPS/D-GalN. Se sabe que en humanos la lesión hepática es

causada por virus, algunas sustancias químicas, alcohol y enfermedades autoinmunes. Se ha demostrado que el TNF- $\alpha$  también participa en la lesión hepática causada por dichos agentes. Sin embargo, los mismos autores mencionan que la lesión hepática inducida por LPS/D-GalN en roedores no corresponde rigurosamente con las lesiones hepáticas humanas (Morita, et al., 2003).

### **1.6. Taxonomía y etnobotánica de *Peperomia hintonii***

Especie endémica de México. Distribuida en los estados de Puebla, Ciudad de México, Estado de México, Michoacán y Jalisco (Calderón de Rzedowski, et al. 2005). Así como en los estados de Chiapas, Hidalgo y Veracruz (Villaseñor, 2016). Planta anual, generalmente terrestre, a veces epífita, de 5 a 30 cm de alto; tallos carnosos, hojas generalmente alternas. Crece generalmente a una altura de 2500-2900 m al nivel del mar. En lugares sombreados y húmedos de cañadas. Asociada a bosques de Oyamel y bosques mesófilos (Calderón de Rzedowski, et al. 2005). Es conocido comúnmente como Berro de monte, y de acuerdo, al Dr. Robert Bye, etnobotánico del Instituto de Biología de la UNAM, y responsable del inventario de quelites de México, la planta se consume fresca en ensaladas. Su cultivo es local y de temporal, por lo cual su consumo anual es poco, y casi siempre es en temporada de lluvias.



**Figura 4.** Partes aéreas de *Peperomia hintonii* (fotos cortesía de: Dr. R. Bye).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Frente al gran problema de alimentar a una población mexicana cada vez más creciente y demandante, existe una necesidad apremiante por identificar especies vegetales subutilizadas que puedan aportar los nutrientes necesarios, y puedan integrarse a esquemas de alimentación tanto locales como a nivel nacional. En este contexto, varias especies del género *Peperomia* son valoradas en México como alimento, y son consideradas “quelites”, que son definidos como “plantas cuyas hojas, tallos tiernos y en ocasiones las inflorescencias inmaduras, son consumidas como verdura”. Pero, a pesar de que los quelites han formado parte de la dieta de los mexicanos desde épocas prehispánicas, estos han sido poco valorados y por lo tanto no han sido objeto de estudio para determinar los nutrientes con los que cuentan y mucho menos se conocen sus metabolitos bioactivos. En este contexto, los estudios conducentes a establecer la composición química de plantas con valor nutrimental cobra relevancia. Por ejemplo, la FAO (Food and Agriculture Organization) promueve el uso de la quinoa (*Chenopodium quinoa*; Fam: Amaranthaceae) la cual se presenta con un alto potencial tanto por sus bondades nutritivas como por su versatilidad agronómica para contribuir a la seguridad alimentaria de diversas regiones del planeta (consultar: <http://www.fao.org/in-action/quinoa-platform/en/>), especialmente en aquellos países del tercer mundo donde la población no tiene acceso a fuentes de proteína, o donde presentan limitaciones agroeconómicas para la producción de alimentos. Los estudios sobre la composición química de la quinoa han demostrado que tiene un alto contenido en vitaminas del complejo B y E, isoflavonas y almidón de bajo índice glicémico, lo que beneficia, por ejemplo, a pacientes con diabetes mellitus (Contreras-Jiménez, 2019). A este respecto, muy pocas especies del género *Peperomia* han sido exploradas y a pesar de que son muy consumidas en México, no se ha podido determinar su contenido de metabolitos bioactivos. Dentro de la gran diversidad de *Peperomia* spp útiles que aún no cuenta con estudios sobre su composición química se encuentra *P. hintonii*, especie muy valorada como alimento y es cultivo de temporada en algunas comunidades del Estado de México.

Con la finalidad de rescatar este conocimiento y aprovecharlo para beneficio de la sociedad mexicana, en 2009 se creó la Red Nacional de Quelites, perteneciente al

Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos (SAGARPA-SNICS-SINAREFI). Algunos estudios generados de este esfuerzo multidisciplinario, han permitido revalorar a algunas especies, como es el caso de la verdolaga (*Portulaca* sp) (Mera-Ovando, et al., 2014), fuente rica de micronutrientes, como son vitaminas y minerales. Otra especie que también ha sido motivo de análisis por su amplio consumo como alimento en el sureste de México es *Peperomia maculosa* y se ha podido determinar que tiene un alto contenido de ácido láurico y decanal, lo que explica su olor parecido al cilantro (*Coriandrum sativum*) y, además, que el consumo de *P. maculosa* podría ayudar a disminuir los niveles de triglicéridos en la sangre (Villa-Ruano, et al., 2018). Finalmente, y como un gran esfuerzo adicional por identificar a los quelites con alto valor nutritivo de México, se generó un proyecto enfocado a generar un inventario de quelites, cuyo responsable es el Dr. Robert Bye, investigador del IB-UNAM y que junto con la Mtra. Edelmira Linares, también investigadora del IB-UNAM, proporcionaron el material vegetal para esta investigación. Es así que este trabajo se enfoca en obtener y analizar el aceite esencial de *P. hintonii*, lo cual no sólo contribuirá a conocer su composición química, sino que permitirá darle un valor agregado a la planta, desde el punto de vista nutrimental.

### 3. OBJETIVOS

#### **Objetivo general:**

Determinar la composición química del aceite esencial de *Peperomia hintonii*, así como establecer los principios volátiles de la especie utilizando la técnica de microextracción en fase sólida. Determinar el efecto inhibitorio sobre la enzima  $\alpha$ -glucosidasa del aceite y compuestos puros con el propósito de agregar una ventaja al uso de la planta como alimento.

#### **Objetivos específicos:**

- Obtener el aceite esencial de las partes aéreas de *P. hintonii* por hidrodestilación.
- Extraer los principios volátiles utilizando la Microextracción en Fase sólida con espacio de cabeza (MEFS-EC).
- Identificar a los componentes, tanto del aceite esencial como los compuestos volátiles extraídos por MEFS-EC mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.
- Determinar el efecto inhibitorio sobre la enzima  $\alpha$ -glucosidasa de la esencia y compuestos mayoritarios utilizando un método espectrofotocolorimétrico.

## 4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 4.1. Procedimientos generales

Los análisis cromatográficos por capa delgada (CCD) y a nivel preparativo (CCDP) se realizaron en placas de aluminio y de vidrio, respectivamente, recubiertas de gel de sílice (60 F<sub>254</sub> Merck KGaA, Alemania) de diferentes dimensiones, y se utilizó como sistema de elución, hexano-acetato de etilo (9:1). Como agente revelador se empleó una solución cromógena de anisaldehído (**Tabla 3**), seguido de calentamiento (110°C aprox.) para desarrollar el color. Posteriormente las placas se visualizaron con una lámpara de luz UV ( $\lambda$  de onda corta 254 nm;  $\lambda$  de onda larga 355 nm). Espectrofotómetro de UV/visible modelo lambda 2, Perkin Elmer. Rango: 200-1100 nm.

**Tabla 3.** Composición del agente revelar utilizado.

Agente revelador	Composición	Referencia
Anisaldehído	-Anisaldehído	0.5 mL
	-Ácido acético glacial	10.0 mL
	-Metanol	85.0 mL
	-Ácido sulfúrico	5.0 mL
		EUROPEAN PHARMACOPEIA 5.0

### 4.2. Material vegetal

La planta *Peperomia hintonii* utilizada en el presente estudio fue recolectada en el parque nacional Izta-Popo, Estado de México, en el mes de octubre de 2019. La identificación botánica de la especie fue realizada por la Mtra. Edelmira Linares y el Dr. Robert Bye Boettler. Un ejemplar de referencia (Bye 39806 & Linares) se depositó en el Herbario Nacional (MEXU), Instituto de Biología, UNAM.

Para este estudio se utilizaron las partes aéreas frescas y secas de *Peperomia hintonii*. En el caso del material seco, este se fragmentó en un molino de cuchillas

Thomas Wiley Modelo 4 (malla: 2 mm). Las partes áreas frescas fueron fragmentadas manualmente previo a su análisis.

#### **4.3. Determinación de las constantes espectroscópicas y espectrométricas**

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear protónica (RMN  $^1\text{H}$ ) y de Carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ) se realizaron en un equipo de 500 MHz: NMR spectra Jeol ECA-500 spectrometer ( $^1\text{H}$  NMR: 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  NMR: 125.7 MHz).

Se utilizó  $\text{CDCl}_3$  como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. El programa MestreNova® se utilizó para el análisis de los espectros de RMN monodimensionales y bidimensionales (versión 12.0).

#### **4.4. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM)**

Se empleó un cromatógrafo de gases marca Agilent 6890N acoplado a un espectrómetro de masas LECO Pegasus 4D. La columna utilizada fue una DB-5 de sílice fundida no polar (5% difenil, 95% dimetilpolisiloxano; 10 m x 0.18 mm; grosor de película 0.18  $\mu\text{m}$ , Agilent HP). Las condiciones de operación fueron las siguientes: el inyector funcionó en modo Split (relación 20:1) y las temperaturas de la línea de transferencia del espectrómetro de masas se fijaron a 200 y 300 °C. La temperatura del horno subió gradualmente de 40 a 260 °C a una velocidad de calentamiento de 4 °C/min, manteniendo la temperatura constante a 260 °C durante 20 min, y finalmente incrementando la temperatura a 340 °C, a una velocidad de calentamiento de 4 °C/min en 20 min isotérmicamente; la temperatura del inyector se fijó a 300 °C. Se empleó Helio como gas acarreador (Praxair, grado 5.0, ultra alta pureza) con una velocidad de 1 mL/min. Los análisis se realizaron por la técnica de impacto electrónico a 70 eV, utilizando el modo de barrido total del espectro de 45 a 500 uma para la identificación de los pesos moleculares y/o iones de inters y lograr la identificación de los componentes.

#### **4.5. Identificación química**

Los componentes fueron identificados mediante el cálculo de sus índices de retención (software Chroma TOF®) utilizando una serie homóloga de *n*-alcanos (C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub>), así como el análisis de los patrones de fragmentación de cada uno de los espectros de masas obtenidos por impacto electrónico. Estos últimos se compararon analizando los picos base y padres utilizando la base de datos del National Institute of Standards Technology (NIST) con aquellos datos descritos en la literatura.

#### **4.6. Obtención y análisis del aceite esencial de *P. hintonii***

En un matraz bola de 3 L se colocaron 50 gramos de material vegetal seco y 2000 mL de H<sub>2</sub>O destilada (con tres repeticiones). Se utilizó un aparato de tipo Clevenger y se llevó a cabo el proceso de hidrodestilación por un periodo de 2 horas y 30 minutos. En el caso de la planta fresca, se usaron 200 g en 2000 mL de H<sub>2</sub>O destilada (con tres repeticiones). El hidrodestilado obtenido en cada caso se recolectó en un matraz Erlenmeyer y se sometió a un proceso de reparto con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 200 mL). Las fases orgánicas se recolectaron y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Posteriormente se filtraron sobre papel Whatman no. 1 y el disolvente fue eliminado por evaporación in vacuo a 30°C. Después de estos procesos se obtuvieron 0.1023 g de esencia de planta fresca y 0.0306 g de esencia de planta seca (rendimientos planta fresca: 0.05%; planta seca: 0.09%).

#### **4.7. Aislamiento de safrol y miristicina de la esencia**

El aislamiento y purificación del safrol y miristicina se realizó mediante la técnica de cromatografía en capa delgada preparativa (CCDP). La placa se colocó en una cámara saturada con 100 mL de la mezcla de elución hexano-acetato de etilo (90:10); una vez finalizado el proceso de elución se dejó evaporar el disolvente de la placa. A partir de este procedimiento se obtuvieron 13.4 mg de safrol y 83.4 mg miristicina.



#### 4.8. Microextracción en Fase sólida

Los componentes volátiles fueron extraídos por el método de Microextracción en fase sólida con espacio de cabeza MEFS-EC empleando cuatro fibras de diferente polaridad: Divinilbenceno/Carboxeno en Polidimetilsiloxano (DVB/CAR-PDMS; 50/30 $\mu$ m), Polidimetilsiloxano (PDMS; 100  $\mu$ m), Polidimetilsiloxano/Divinilbenceno (PDMS/DVB; 65  $\mu$ m). Las fibras se acondicionaron durante 2 horas previas al experimento en el puerto de inyección Split/splitless de CG a 250 °C.

Se utilizaron 200 mg de material vegetal, los cuales fueron introducidos en un vial con tapón horadado y membrana de silicona. Enseguida se agregaron 50 mg de NaCl y 15 mL de agua grado HPLC, la mezcla se agitó con un agitador magnético a 450 rpm y se mantuvo a temperatura controlada de 60 °C. La extracción duró 30 minutos y se realizó con espacio de cabeza de aproximadamente 2 cm. Luego del tiempo de extracción establecido las fibras fueron retiradas y colocadas en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases para la desorción de las muestras. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

#### 4.9. Evaluación del efecto inhibitorio sobre la enzima $\alpha$ -glucosidasa

Para la evaluación de la actividad inhibitoria de los extractos, fracciones y compuestos puros se utilizó la  $\alpha$ -glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* (GHY; Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA); esta enzima se utilizó a una concentración de 11.2 U/mL en una solución amortiguadora de fosfatos (PBS, 100 mM, pH 7).

Las muestras a evaluar se disolvieron en MeOH o en solución amortiguadora de fosfatos a concentraciones de 10000  $\mu$ g/mL para extractos y/o fracciones y 30 mM para compuestos puros. Como control positivo se utilizó acarbosa (30 mM) disuelta en solución amortiguadora de fosfatos. Como sustrato se utilizó p-nitrofenil  $\alpha$ -D-glucopiranosido (*p*-NPG) disuelto en solución amortiguadora de fosfatos a una concentración de 5 mM. Todas las evaluaciones se realizaron en placas de Elisa de 96 pozos. Las absorbancias se obtuvieron utilizando un espectrofotómetro BioRad® modelo iMark a una longitud de onda de 415 nm, utilizando el software Microplate Manger® 6 (versión 6.3 BioRad®, Hercules, CA, EUA). Las muestras se evaluaron por

triplicado utilizando alícuotas de 0, 2, 4, 6, 8 y 10  $\mu\text{L}$  de los inhibidores de prueba (extractos, fracciones o compuestos), 5  $\mu\text{L}$  de la solución de enzima y el volumen necesario de solución amortiguadora para obtener un volumen final de 90  $\mu\text{L}$ ; posteriormente se incubaron durante 10 min a 37 °C. Una vez transcurridos los 10 min se adicionó a cada pozo 10  $\mu\text{L}$  de sustrato (*p*-NPG) e inmediatamente después se registraron las absorbancias a tiempo cero ( $T_i$ ) y se incubó por segunda vez a 37 °C durante 20 min. Al concluir el periodo de incubación se registró la absorbancia al tiempo final ( $T_f$ ). La actividad de los compuestos se determinó como porcentaje de inhibición al comparar los valores de absorbancia de las muestras con el blanco (PBS), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\alpha GHY\% = \left(1 - \frac{A_{415c}}{A_{415b}}\right) \times 100$$

Donde  $\alpha GHY\%$  es el porcentaje de inhibición;  $A_{415c}$  es el valor de absorbancia (corregida) de los extractos, fracciones o compuestos evaluados ( $A_{415-Tf} - A_{415-Ti}$ ) y  $A_{415b}$  es la absorbancia del blanco ( $A_{415-Tf \text{ blanco}} - A_{415-Ti \text{ blanco}}$ ). El valor de la concentración inhibitoria 50 ( $Cl_{50}$ ) se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A_{100}}{1 + \left(\frac{I}{Cl_{50}}\right)^s}$$

Donde  $A_{100}$  es el porcentaje máximo de inhibición,  $I$  es la concentración del inhibidor,  $Cl_{50}$  es la concentración requerida para inhibir la actividad de la enzima en un 50% y  $s$  es el grado de cooperatividad. El cálculo se llevó a cabo en el software OriginPro® 8 (Versión 8.0724, Northampton, MA, EUA).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La especie vegetal *Peperomia hintonii* fue seleccionada para esta investigación considerando su uso como alimento en algunos lugares del Estado de México. A diferencia de otros quelites de la familia Piperaceae que son ampliamente utilizados como es el caso de *Piper auritum*, las especies comestibles del género *Peperomia* son poco conocidas y en el caso de *P. hintonii*, no existen datos sobre el contenido de micronutrientes, y mucho menos de su contenido de metabolitos bioactivos. Sobre estos últimos, se consideran que son no esenciales desde el punto de vista de su valor nutricional, como lo son las vitaminas y minerales, pero que sí aportan beneficios a la salud principalmente desde el punto de vista preventivo, esto debido a que pueden poseer propiedades como antioxidantes, antihipertensivas, antiinflamatorias, entre otras (Ulian, et al., 2020; Gan, et al., 2017). Asimismo, las plantas usadas como alimentos (ya sea como condimento o verduras) son valoradas por su olor, sabor y el aroma que pueden impregnar como especias, de tal forma que el estudio de sus componentes volátiles se vuelve un requisito indispensable.

A este respecto, el análisis de los aceites esenciales permite identificar los componentes volátiles que aportan las características sensoriales que las destacan. Por esta razón, en este trabajo se consideró como objeto de estudio a la esencia de *P. hintonii*. Se seleccionó a la Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM), así como a los índices de retención ( $I_r$ ) como parámetros para la caracterización química. También, se utilizó la técnica de Microextracción en Fase Sólida con Espacio de Cabeza (MEFS-EC), la cual nos permite detectar los compuestos volátiles, que son liberados de la planta sin la interferencia de un tratamiento adicional como es la extracción líquido-líquido, necesaria para recuperar los aceites esenciales o el uso de algún disolvente orgánico que pueda representar un riesgo ambiental o de salud. Con la finalidad de confirmar la caracterización de los metabolitos contenidos en la esencia, de manera adicional se obtuvieron los espectros de Resonancia Magnética de protón y carbono 13.

Finalmente el aceite esencial y sus metabolitos mayoritarios fueron evaluados para conocer su efecto inhibitorio sobre la enzima  $\alpha$ -glucosidasa, que es considerada uno

de los blancos moleculares en el tratamiento de la diabetes, un padecimiento que afecta a un gran sector de la población mexicana. La presencia de inhibidores de alfa-glucosidasa en un producto alimenticio, contribuiría a disminuir la absorción de glucosa a nivel intestinal

### 5.1. Análisis del Aceite esencial de *P. hintonii*

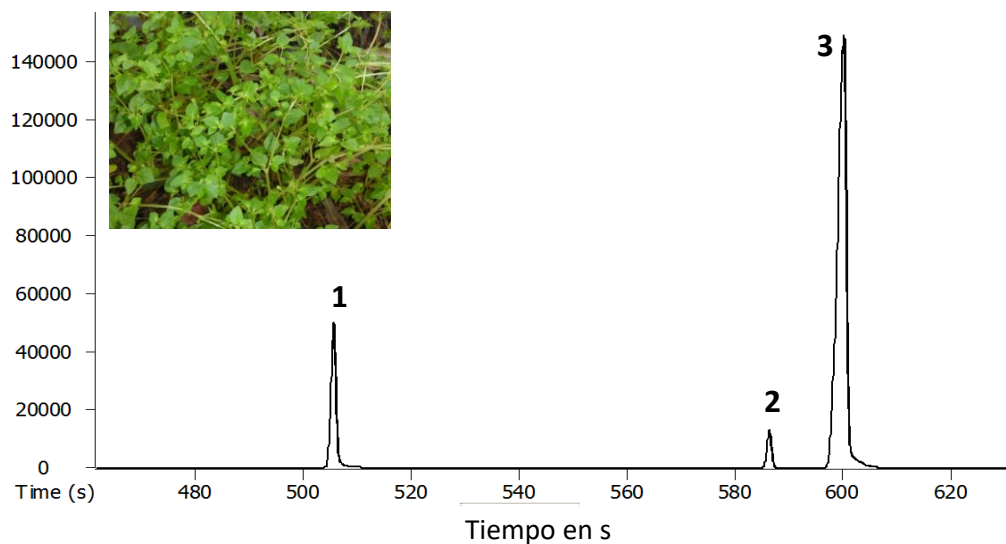
Los aceites esenciales de *P. hintonii* se obtuvieron por hidrodestilación de las partes aéreas de la planta. Se preparó tanto el aceite de la planta fresca, esto debido a que se documentó que se consume en ensaladas. De manera adicional también se preparó el aceite de la planta seca con la posibilidad de que la planta pueda ser almacenada y conservada para su posterior uso. Los metabolitos identificados se enlistan en la **Tabla 4** y los cromatogramas iónicos totales obtenidos se muestran en las **Figuras 5 y 6**.

**Tabla 4.** Componentes identificados por CG-EM en los aceites esenciales de *P. hintonii*.

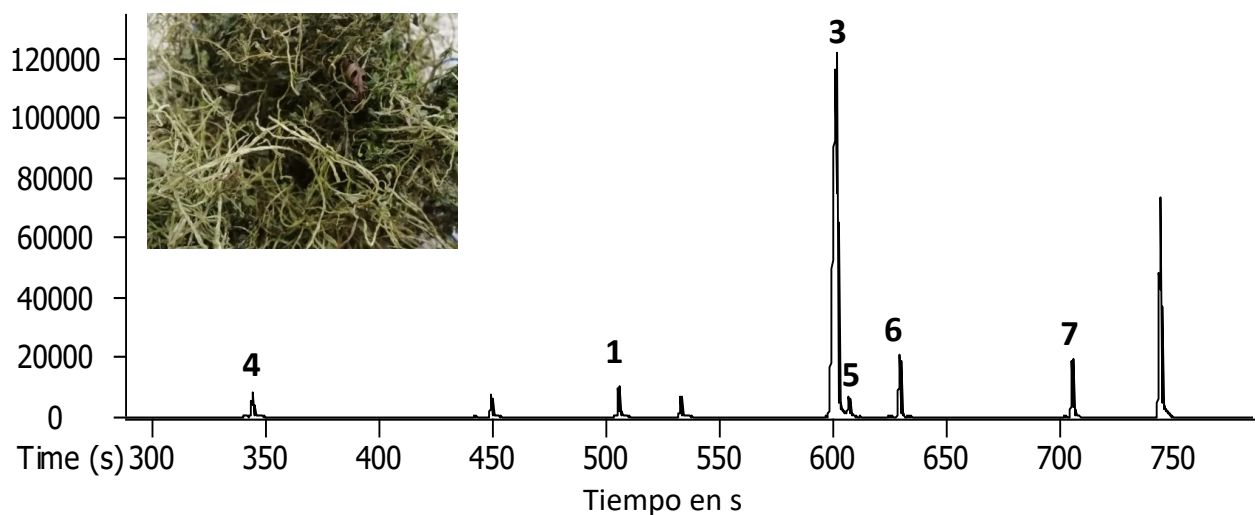
No.	Compuesto	$I_r^*$	% <sup>a</sup>	
			Fresca	Seca
4	1-Hepten-3-ol	966	-	2.8
1	Safrol	1276	20.4	4.9
2	$\alpha$ -Farneseno	1473	6.6	-
3	Miristicina	1514	72.9	63.8
5	Dehidroactinólida	1528	-	1.4
6	Aromadendreno	1588	-	8.0
7	Fitol	1815	-	5.4
<b>Total</b>			<b>99.9</b>	<b>86.3</b>

\* Índices de retención obtenidos experimentalmente con la columna DB-5.

<sup>a</sup> Promedio de tres repeticiones. Ver condiciones en parte experimental.



**Figura 5.** Cromatograma iónico total del aceite esencial de la planta fresca de *P. hintonii*. Ver condiciones de análisis en parte experimental.



**Figura 6.** Cromatograma iónico total del aceite esencial de la planta seca de *P. hintonii*. Ver condiciones de análisis en parte experimental.

Como puede observarse, tanto la planta fresca como seca presentan un alto contenido de miristicina (**3**), un compuesto de tipo fenilpropanoide y que contiene un residuo metilendioxi-benceno como rasgo principal químico. Esta característica estructural es común a todos los derivados del safrol. En el caso de la planta fresca, el segundo metabolito en abundancia fue el safrol (**1**); en la planta seca este metabolito

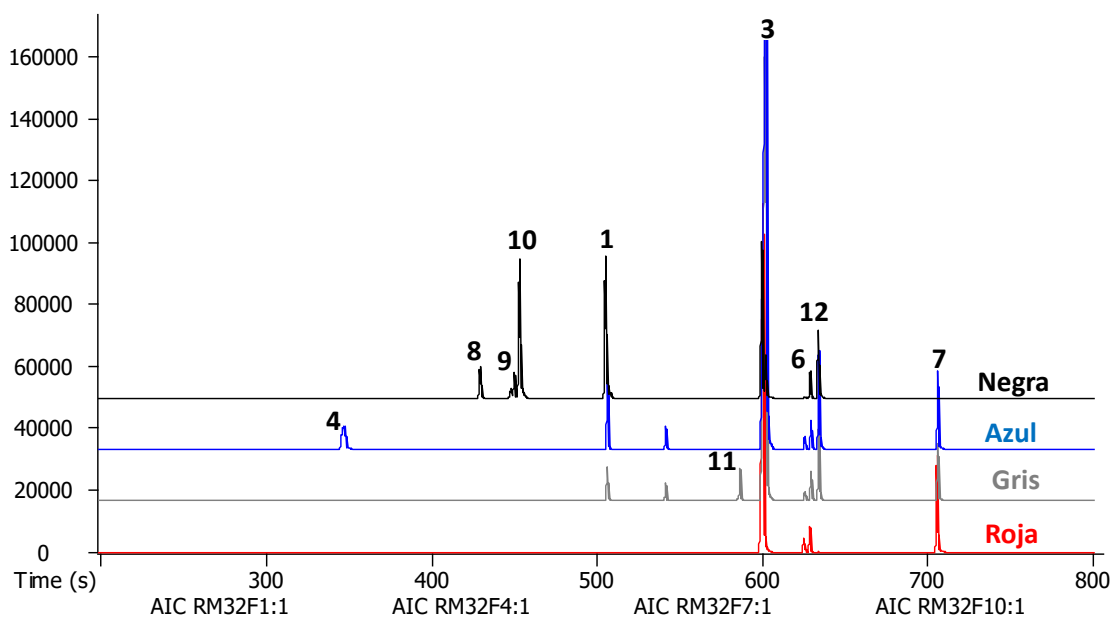
se detectó en menor proporción, pero en su lugar se observó la presencia del aromadendreno (6), el fitol (7), el 1-Hepten-3-ol (4) y la dehidroactinólida (5). Tal y como se documentó en el capítulo de antecedentes, la miristicina y el safrol están presentes en otras especies de *Peperomia* como *P. pellucida*, la cual se consume en nuestro país, así como *P. borbonensis*, Nativa de la Isla Reunión, en el Océano Índico, que contiene mirisiticina (39.5%) como metabolito mayoritario (Dorla, et al., 2017). En *P. inaequalifolia*, nativa de Ecuador, se identificó a la miristicina (13.3%) y al safrol en un 32.10% (Noriega Rivera, et al., 2015). Así, tanto el safrol como la miristicina son metabolitos comunes del género.

Encontrar fitol (un alcohol de cadena larga) no es extraño dado que es relativamente común a las plantas, esto debido a las múltiples funciones que desempeña. No solo es parte fundamental de la estructura de la clorofila, sino que también participa en la generación de tocoferol (vitamina E), filoquinol (vitamina K) y en la producción de algunos ésteres de ácido grasos (Gutbrod, et al., 2019). También presenta varias actividades biológicas muy relevantes a los humanos como son: antidiabética, antinociceptiva, ansiolítica, y puede actuar como inmunomodulador, entre otras (Islam, et al., 2018).

## **5.2. Microextracción en fase sólida con espacio de cabeza (MEFS-EC)**

La planta seca fue analizada por Microextracción en Fase sólida con Espacio de Cabeza en cuatro diferentes tipos de fibras (**Figura 7**). Con esta técnica también se pueden analizar los componentes volátiles de las plantas y la principal diferencia con respecto a los aceites esenciales es que se realiza en condiciones de temperatura baja y tiempos de extracción cortos, lo que podría evitar que metabolitos termolábiles puedan descomponerse. Esta técnica es muy útil, por ejemplo, para observar etapas de crecimiento fenológico de las plantas, o en comunicaciones activas entre ellas (interacciones inter- e intraespecíficas), mostrando de esta manera, los componentes volátiles involucrados en estos fenómenos (Araniti, et al., 2018). También se está aplicando en la búsqueda de pesticidas (Jalili, et al., 2020). En el caso de *Peperomia hintonii*, los resultados obtenidos con las mismas condiciones de ensayo en las cuatro

fibras permitieron confirmar la presencia de la miristicina (**3**) como metabolito volátil mayoritario de la planta (**Tabla 5**). El aceite esencial de la planta seca presentó menor cantidad de safrol (**1**) y esto se vio igualmente reflejado en la MEFS-EC. Interesantemente, la fibra roja mostró una selectividad hacia la miristicina (**3**), por lo cual se podría especular que podría haber ocurrido una saturación de la fibra, a diferencia de la negra, que permitió una extracción efectiva y por lo tanto se pudieron detectar otros metabolitos. La fibra azul está más en armonía con la esencia de la planta seca ya que compuestos que podrían ser importantes para definir un perfil químico de la especie, se detectaron en proporciones similares usando esta fibra. Finalmente, el uso conjunto de las cuatro fibras permitió corroborar que la miristicina (**3**) y el safrol (**1**) son los dos fenilpropanoides importantes de la especie junto con el fitol y el aromadendreno.



**Figura 7.** Cromatogramas iónicos totales de los componentes volátiles extraídos por MEFS-EC de las partes aéreas secas de *P. hintonii*. Ver condiciones de análisis en parte experimental.

**Tabla 5.** Componentes identificados por MEFS-EC en las partes aéreas secas de *P. hintonii* %<sup>a</sup>

No.	Compuesto	$I_r^*$	% <sup>a</sup>			
			PDMS Roja	DVB/CAR/PDMS Gris	PDMS/DVB Azul	CAR/PDMS Negra
4	1-Hepten-3-ol	966	-	-	2.0	-
8	Camfolenal	1117	-	-	-	10.9
9	Borneol	1156	-	-	-	3.3
10	<i>p</i> -Menten-1-ol	1163	-	-	-	13.4
1	Safrol	1276	-	1.9	6.2	13.5
2	$\alpha$ -Farneseno	1473	-	-	-	-
11	$\beta$ -Lonona	1474	-	1.8	-	-
3	Miristicina	1514	80.5	76.1	74.2	24.4
5	Dehidroactinólida	1528	-	-	-	-
6	Aromadendreno	1588	6.4	5.0	2.7	4.3
12	Der. de miristicina	1598	-	4.2	8.9	9.1
7	Fitol	1815	13.1	7.4	3.1	-
<b>Total</b>			<b>100</b>	<b>96.4</b>	<b>97.1</b>	<b>78.9</b>

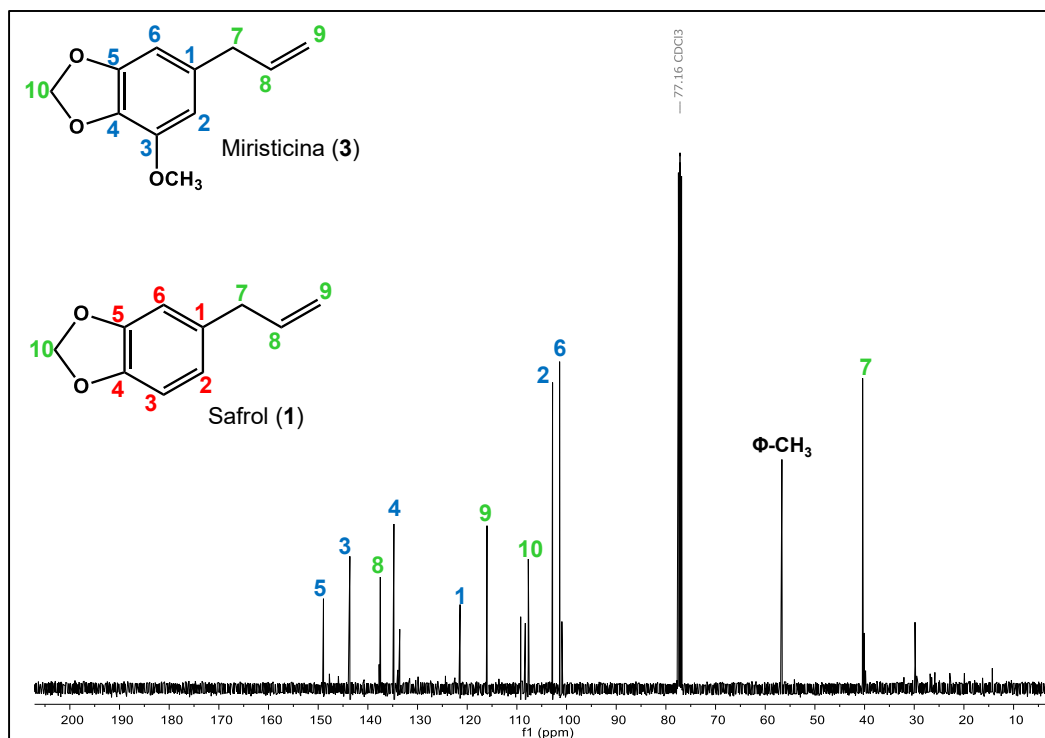
\* Índices de retención obtenidos experimentalmente con la columna DB-5.

<sup>a</sup> Promedio de tres repeticiones. Ver condiciones en parte experimental.

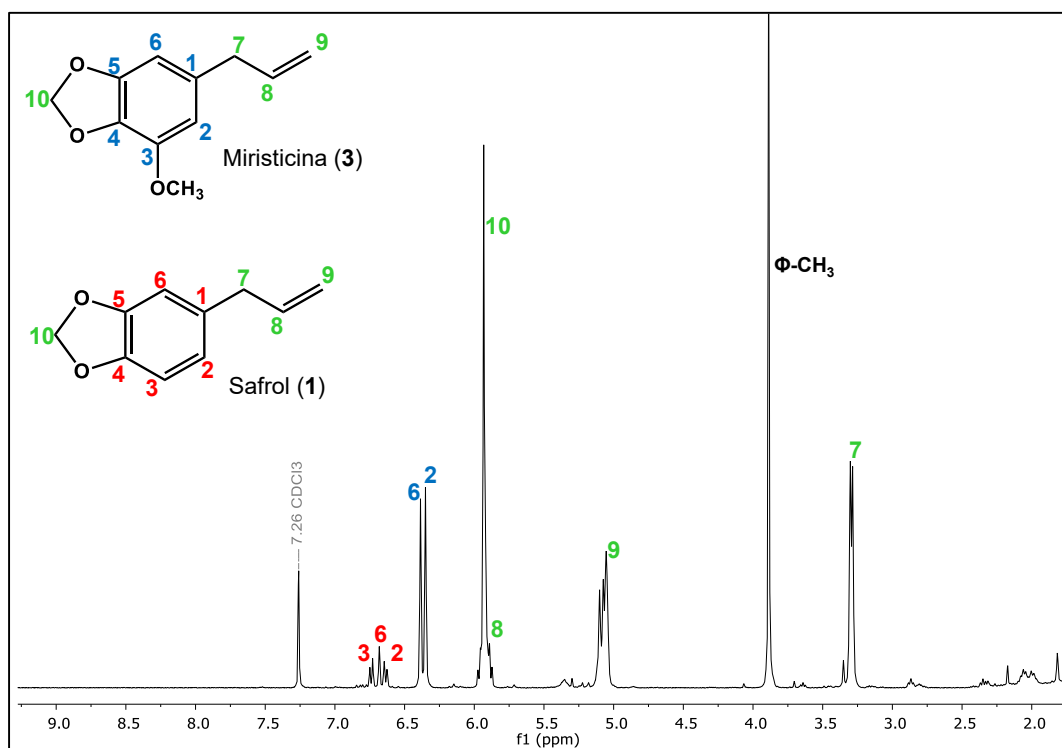
### 5.3. Caracterización de los metabolitos mayoritarios por RMN

El aceite esencial de la planta fresca se analizó también por Resonancia Magnética Nuclear. Aunque la RMN es un método principalmente utilizado para el análisis estructural de compuestos puros, en algunos casos se aplica para conocer la composición de mezclas (Krause, et al., 2018). Al detectar que el aceite esencial preparado con la planta fresca (**Figura 5**) no era tan complejo, se hizo pertinente llevar a cabo su análisis por RMN. Considerando que las señales distintivas del aceite de *P. hintonii* corresponden a los anillos aromáticos del safrol y la miristicina, metabolitos que se diferencian, como se observa en los espectros de RMN <sup>1</sup>H y RMN <sup>13</sup>C (**Figuras 8 y 9**) de la esencia. De manera cualitativa podemos ver la mayor concentración de miristicina en relación al safrol; ningún otro componente fue detectado.





**Figura 8.** Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del aceite esencial de planta fresca de *P. hintonii* (10 mg en 0.7 mL de CDCl<sub>3</sub>).



**Figura 9.** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del aceite esencial de planta fresca de *P. hintonii* (10 mg en 0.7 mL de CDCl<sub>3</sub>).

#### 5.4. Efecto inhibitorio sobre la enzima $\alpha$ -glucosidasa

La diabetes es una enfermedad crónica que puede ocurrir por dos razones: que el páncreas no pueda producir insulina, o que el organismo no puede utilizar la insulina que produce (FID, 2019). Los factores de riesgo asociados incluyen la obesidad, las dietas poco saludables, así como la inactividad física generalizada. Las  $\alpha$ -glucosidasas es uno más de los varios blancos moleculares importantes en el tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2. Considerando que los componentes de una dieta pudieran llegar a ser benéficos para el tratamiento o prevención de la diabetes, se decidió evaluar a la especie *P. hintonii* que, como se mencionó previamente, forma parte de la dieta de algunas comunidades del Estado de México. Debido posiblemente a su mala reputación como hepatotóxicos, ni la miristicina ni el safrol han sido evaluados para conocer su efecto como inhibidores de las  $\alpha$ -glucosidasas, sin embargo se ha explicado en los antecedentes que estos compuestos podrían, dependiendo de la concentración o la presencia de otros metabolitos en las plantas, no solo actuar como hepatoprotectores (Zhao y O'Brien, 1996; Morita, et al., 2003), sino que en caso de la miristicina (3), también podría actuar como gastroprotector (Badr, 2020); por lo tanto, este efecto ambivalente que frecuentemente presentan las plantas medicinales debe abordarse de manera individual para cada especie vegetal. Bajo esta premisa y considerando que se obtuvieron de una planta que se consume como alimento, se evaluó al safrol (1) y la miristicina (3) para conocer su efecto sobre las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas. Los resultados se presentan en la **Tabla 6** y podemos observar que fueron más efectivos para inhibir a la enzima que el fármaco de referencia: la acarbosa, lo que podría apoyar en su consumo.

**Tabla 6.**  $CI_{50}$  e inhibición de los compuestos y esencia contra la enzima  $\alpha$ -glucosidasa

	<b>Metabolito y extracto</b>	<b><math>CI_{50}</math> (mM)</b>
<b>1</b>	Safrol (1)	$0.857 \pm 0.030$
<b>3</b>	Miristicina (3)	$1.867 \pm 0.047$
	Acarbosa*	$0.177 \pm 0.037$
	Aceite esencial seco	628.8 ppm**

\*Control positivo.

\*\*Inhibición.

## 6. CONCLUSIONES

Se identificaron más del 90% de los metabolitos presentes en el aceite esencial de *Peperomia hintonii*.

La miristicina (3) fue identificada como el componente mayoritario en el aceite esencial, tanto en planta fresca como seca. El segundo metabolito de importancia fue el safrol (1) en planta fresca y en el caso de la planta seca fueron el fitol (7) y el aromadendreno (6).

La presencia de la miristicina (3) y el safrol (1) está en armonía con los componentes característicos del género.

Con respecto a su actividad inhibitoria contra la  $\alpha$ -glucosidasa, los metabolitos presentaron un efecto inhibitorio significativo con respecto a la acarbosa, el fármaco de referencia, por lo que el consumo de la planta podría representar una opción para la reducción de la glucosa postprandial en diabéticos y prediabéticos; sin embargo, es importante realizar estudios farmacológicos a profundidad para establecer los beneficios y/o los riesgos de usar esta planta como parte de una dieta.

Sobre su toxicidad asociada a su metabolismo por su consumo, esta podría representar un inconveniente como alimento, sin embargo, no se descarta que pudiera presentarse una atenuación del efecto tóxico en el consumo de la planta, esto debido a la presencia de otros metabolitos presentes en la especie que pudieran participar como hepatoprotectores, como es el caso de flavonoides y lignanos que han sido reportados en el género, así como a un efecto hepatoprotector dependiente de la concentración del safrol (1) y miristicina (3).

## 7. PERSPECTIVAS

- Determinar la toxicidad de extractos acuosos y orgánicos de *Peperomia hintonii*.

-Determinar la composición química tanto de extractos acuosos como orgánicos.

-Determinar su perfil nutrimental con la finalidad de conocer el contenido de minerales y aporte en fibra.

## 8. REFERENCIAS

- Ahmad, I., Ambarwati, N. S., Elya, B., Omar, H., Mulia, K., Yanuar, A., Negishi, O. & Mun'im, A. (2019). A new angiotensin-converting enzyme inhibitor from *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 9: 257-262.
- Alves, N. S. F., Setzer, W. N. & da Silva, J. K. R. (2018). The chemistry and biological activities of *Peperomia pellucida* (Piperaceae): A critical review. *Journal of Ethnopharmacology* 232: 90-102.
- Araniti, F., Pantò, S., Lupini, A., Sunseri, F. & Abenavoli, M.R. (2018). Chemical Characterization of Volatile Organic Compounds (VOCs) Through Headspace Solid Phase Micro Extraction (SPME). En: Sánchez-Moreiras A., Reigosa M. (Eds.). *Advances in Plant Ecophysiology Techniques*. Springer, Cham, pp 401-417.
- Arrieta, J., López-Lorenzo, Y., Gómez-Patiño, M.B., Sánchez-Mendoza, Y. & Sánchez-Mendoza, M.E. (2018). Relaxant effects of *Peperomia hispidula* (Sw.) A. Dietr. on isolated rat tracheal rings. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 17(6): 610-618.
- Badr, G., Elsayy, H., Amalkia, M. A., Alfwuaires, M., El-Gerbed, M. S. A. & Abdel-Moneim, A. M. (2020). Protective effects of myristicin against ulcerative colitis induced by acetic acid in male mice. *Food and Agricultural Immunology* 31(1): 435–446.
- Beyer, J., Ehlers, D. & Maurer, H. H. (2006). Abuse of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.): Studies on the Metabolism and the Toxicologic Detection of its Ingredients Elemicin, Myristicin, and Safrole in Rat and Human Urine Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Therapeutic Drug Monitoring* 28(4): 568–575.
- Bialangi, N., Mustapa, A., Salimi, Y., Widiatoro, A. & Situmeang, B. (2018). Isolation of Steroid Compounds from Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) and Their Antimalarial Activity. *Asian Journal of Chemistry* 30(8): 1751–1754.

- Bolton, J. L., Acay, N. M. & Vukomanovic, V. (1994). Evidence that 4-allyl-o-quinones spontaneously rearrange to their more electrophilic quinone methides: potential bioactivation mechanism for the hepatocarcinogen safrole. *Chemical Research in Toxicology* 7(3): 443-500.
- Braun, U. & Kalbhen, D. (1973). Evidence for the Biogenic Formation of Amphetamine Derivatives from Components of Nutmeg. *Pharmacology* 9(5): 312–316.
- Calderón de Rzedowski, G. & Rzedowski, J. (2005). Flora fanerogámica del Valle de México. 2a. ed., 1a reimp., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), 1406 pp.
- Contreras-Jiménez, B., Torres-Vargas, O. L. & Rodríguez-García, M. E. (2019). Physicochemical characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and isolated starch. *Food Chemistry* 298: 124982.
- Cortez, C. A. R., Arroyo, G. C. A. & Reyes, N. L. (2003). Determinación de la actividad antimicrobiana de *Peperomia galioides* HBK «Congona». *Ciencia e Investigación* 6(1): 25-29.
- Da Silva, M. H. L., Zoghbi, M. D. G. B., Andrade, E. H. A. & Maia, J. G. S. (1999). The essential oils of *Peperomia pellucida* Kunth and *P. circinnata* Link var. *circinnata*. *Flavour and Fragrance Journal* 14(5): 312–314.
- Da Silva Mota, J., Leite, A., Batista Junior, J., Noelí López, S., Luz Ambrósio, D., Duó Passerini, G., Kato, M. J., Da Silva Bolzani, V., Barretto Cicarelli, R. M. & Furlan, M. (2009). *In vitro* Trypanocidal Activity of Phenolic Derivatives from *Peperomia obtusifolia*. *Planta Medica* 75(06): 620–623.
- Dawidowicz, A. L. & Dybowski, M. P. (2012). Simple and rapid determination of myristicin in human serum. *Forensic Toxicology* 31(1): 119–123.
- De Feo, V., Belaunde, A. J., Sandoval, J. G., Senatore, F. & Formisano, C. (2008). Antibacterial Activity and Composition of the Essential Oil of *Peperomia galioides* HBK (Piperaceae) from Peru. *Natural Product Communications* 3(6): 933–936.

- De Lira, P. N. B., da Silva, J. K. R., Andrade, E. H. A., Sousa, P. J. C., Silva, N. N. S. & Maia, J. G. S. (2009). Essential Oil Composition of Three *Peperomia* Species from the Amazon, Brazil. *Natural Product Communications* 4(3): 427-430.
- De Oliveira, J. C. S., Da Camara, C. A. G., Neves, R. C. S. & Botelho, P. S. (2017). Chemical composition and acaricidal activity of essential oils from *Peperomia pellucida* Kunth. against *Tetranychus urticae*. *Revista Virtual de Química* 9(6): 2204-2213.
- De Souza Santos, E. B., Cavalcante Oliveira, G., Da Costa Rodrigues, R., do Ó Pessoa, C., De Cássia Evangelista de Oliveira, F., Bezerra de Abreu, B., Feitosa Cidade, A., Silva Rocha, E. P., De Oliveira Araújo, N. F., Macedo Mariano, J., Duarte Mielke, T., Bonadeu, F. & Azevedo da Silva, M. (2020). Potencial citotóxico do extrato clorofórmico das folhas de *Peperomia quadrangularis* contra linhagens de células de câncer. *SAJEBTT, Rio Branco, UFAC* 7(1): 678-682.
- Dorla, E., Gauvin-Bialecki, A., Deuscher, Z., Allibert, A., Grondin, I., Deguine, J.-P. & Laurent, P. (2017). Insecticidal Activity of the Leaf Essential Oil of *Peperomia borbonensis* Miq. (Piperaceae) and Its Major Components against the Melon Fly *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Chemistry & Biodiversity* 14(6): e1600493.
- Fajado Ramos, L. M. (2017). Caracterización del aceite esencial de la especie *Peperomia subspathulata* (piperaceae) y evaluación de su capacidad como agente antimicrobiano, trabajo de grado para optar al título de químico farmacéutico, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A) Facultad de Ciencias. Programa de química farmacéutica. Bogotá D.C.
- Fernandes-Silva, C.C., Teixeira, E. W., Alves, M.L. TMF., Negri, G., Salatino, M. L. F. & Antonio, S. (2020). Propolis obtained in a clearing inside the Atlantic Forest in Ubatuba (São Paulo state, Brazil): essential oil and possible botanical origin. *Journal of Apicultural Research*. 1–9.
- FID (Federación Internacional de diabetes), 2019. DIABETES ATLAS. 9a edición, Recuperado de:

[https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200121\\_115939\\_2407-IDF-Advocacy-Guide-SP-Final-lowres-210120.pdf](https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200121_115939_2407-IDF-Advocacy-Guide-SP-Final-lowres-210120.pdf).

- Fournet, A., Ferreira, M. E., Rojas de Arias, A., Fuentes, S., Torres, S., Inchausti, A., Yaluff, G., Nakayama, H., Mahiou, V., Hocquemiller, R. & Cavé, A. (1996). In vitro and in vivo leishmanicidal studies of *Peperomia galioides* (Piperaceae). *Phytomedicine* 3(3): 271–275.
- Gan, R.-Y., Lui, W.-Y., Wu, K., Chan, C.-L., Dai, S.-H., Sui, Z.-Q. & Corke, H. (2017). Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. *Trends in Food Science & Technology* 59: 1–14.
- Gutbrod, K., Romer, J. & Dörmann, P. (2019). Phytol metabolism in plants. *Progress in Lipid Research* 74: 1-17.
- Gutierrez, Y. V., Yamaguchi, L. F., de Moraes, M. M., Jeffrey, C. S. & Kato, M. J. (2016). Natural products from *Peperomia*: occurrence, biogenesis and bioactivity. *Phytochemistry Reviews*, 15(6), 1009-1033.
- Heinrich, M. (2000). Ethnobotany and its role in drug development. *Phytotherapy Research*, 14(7), 479–488.
- Homburger, F., Kelley, Jr., T., Friedler, G. & Russfield, A. B. (1961). Toxic and Possible Carcinogenic Effects of 4-Allyl-1,2-Methylenedioxybenzene (Safrole) in Rats on Deficient Diets. *Pharmacology*, 4(1), 1–11.
- Hu, L., Shao, H., He, J., Zhong, L., Song, Y. & Wu, F. (2019). Cytotoxicity of safrole in HepaRG Cells: Studies on the Role of CYP1A2 - mediated ortho-quinone Metabolic Activation. *Xenobiotica*, 1–35.
- Huang, Y., Ho, S. H. & Kini, R. M. (1999). Bioactivities of Safrole and Isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology* 92(3): 676–683.
- IARC. 1972. Safrole, isosafrole, and dihydroisosafrole. En: Natural Products. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 1. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, pp 169-174.



- Ilyas, S., Naz, S., Aslam, F., Parveen, Z. & Ali, A. (2014). Chemical composition of essential oil from in vitro grown *Peperomia obtusifolia* through GC-MS. *Pakistan Journal of Botany* 46(2): 667-672.
- Islam, M. T., Ali, E. S., Uddin, S. J., Shaw, S., Islam, M. A., Ahmed, M. I. & Atanasov, A. G. (2018). Phytol: A review of biomedical activities. *Food and Chemical Toxicology* 121: 82–94.
- Jalili, V., Barkhordari, A. & Ghiasvand, A. (2020). A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews. *Microchemical Journal* 152: 104319.
- Kartika, I G. A. A., Insanu, M., Safitri, D., Putri, C. A. & Adnyana, I. K. (2016). New Update: Traditional Uses, Phytochemical, Pharmacological and Toxicity Review of *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. *Pharmacology on line* 31: 30-43.
- Kemprai, P., Protim Mahanta, B., Sut, D., Barman, R., Banik, D., Lal, M., Proteem Saikia, S. & Haldar, S. (2019). Review on safrole: identity shift of the “candy shop” aroma to a carcinogen and deforester. *Flavour and Fragrance Journal*. 00:1–19.
- Klein-Júnior, L.C., Recalde-Gil, M.A., Passos, C. dos S., de Bitencourt, F.G., Salton, J., Danielli, L. J. & Henriques, A.T. (2016). The Monoamine Oxidase Inhibitory Activity of Essential Oils Obtained from *Peperomia* Ruiz. & Pav. (Piperaceae) Species and Their Chemical Composition. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 19(7): 1762–1768.
- Krause, A., Wu, Y., Tian, R. & van Beek, T. (2018). Is Low-field NMR a Complementary Tool to GC-MS in Quality Control of Essential Oils? A Case Study: Patchouli Essential Oil. *Planta Medica* 84(12/13): 953–963.
- Langfield, R. D., Scarano, F. J., Heitzman, M. E., Kondo, M., Hammond, G. B. & Neto, C. C. (2004). Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. *Journal of ethnopharmacology* 94(2-3): 279-281.
- Lee, B. K., Kim, J. H., Jung, J. W., Choi, J. W., Han, E. S., Lee, S. H., Ko, K. H. & Ryu, J. H. (2005). Myristicin-induced neurotoxicity in human neuroblastoma SK-N-SH cells. *Toxicology Letters* 157(1): 49–56.

- Li, Y.-Z., Tong, A.-P. & Huang, J. (2012). Two New Norlignans and a New Lignanamide from *Peperomia tetraphylla*. *Chemistry & Biodiversity* 9(4): 769–776.
- Mahiou, V., Roblot, F., Hocquemiller, R., Cavé, A., Rojas De Arias, A., Inchausti, A., Yaluff, G. & Fournet, A. (1996). New prenylated quinones from *Peperomia galioides*. *Journal of Natural Products* 59(7): 694-697.
- Martínez-Bautista, B. G., Bernal-Ramírez, L. A., Bravo-Avilez, D., Samain, M.-S., Amezcua, J. M. R. & Rendón-Aguilar, B. (2019). Traditional Uses of the Family Piperaceae in Oaxaca, Mexico. *Tropical Conservation Science* 12: 194008291987931.
- Meckes, M., Villarreal M.L., Tortoriello J., Berlin B. & Berlin E.A. (1995). A microbiological evaluation of medicinal plants used by the Maya people of Southern Mexico. *Phytoterapy Research* 9: 244-250.
- Mera-Ovando, L. M. (2014). La verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) Fuente vegetal de omega-3 y omega-6. *Agro Productividad*, 7(1). Recuperado de: <https://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/496>.
- Morita, T., Jinno, K., Kawagishi, H., Arimoto, Y., Suganuma, H., Inakuma, T. & Sugiyama, K. (2003). Hepatoprotective Effect of Myristicin from Nutmeg (*Myristica fragrans*) on Lipopolysaccharide/d-Galactosamine-Induced Liver Injury. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(6): 1560–1565.
- Noriega Rivera, P., Mosquera, T., Baldisserotto, A., Abad, J., Aillon, C., Cabezas, D., Piedra, J., Coronel, I. & Manfredini, S. (2015). Chemical Composition and in-vitro biological activities of the essential oil from leaves of *Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav. *American Journal of Essential Oils and Natural Products* 2(4): 29-31.
- Ng, P.L., Rajab, N.F., Then, S.M., Mohd Yusof, Y.A., Wan Ngah, W.Z., Pin, K.Y. & Looi, M.L. (2014). *Piper betle* leaf extract enhances the cytotoxicity effect of 5-fluorouracil in inhibiting the growth of HT29 and HCT116 colon cancer cells. *J Zhejiang Univ Sci B* 15:692–700.

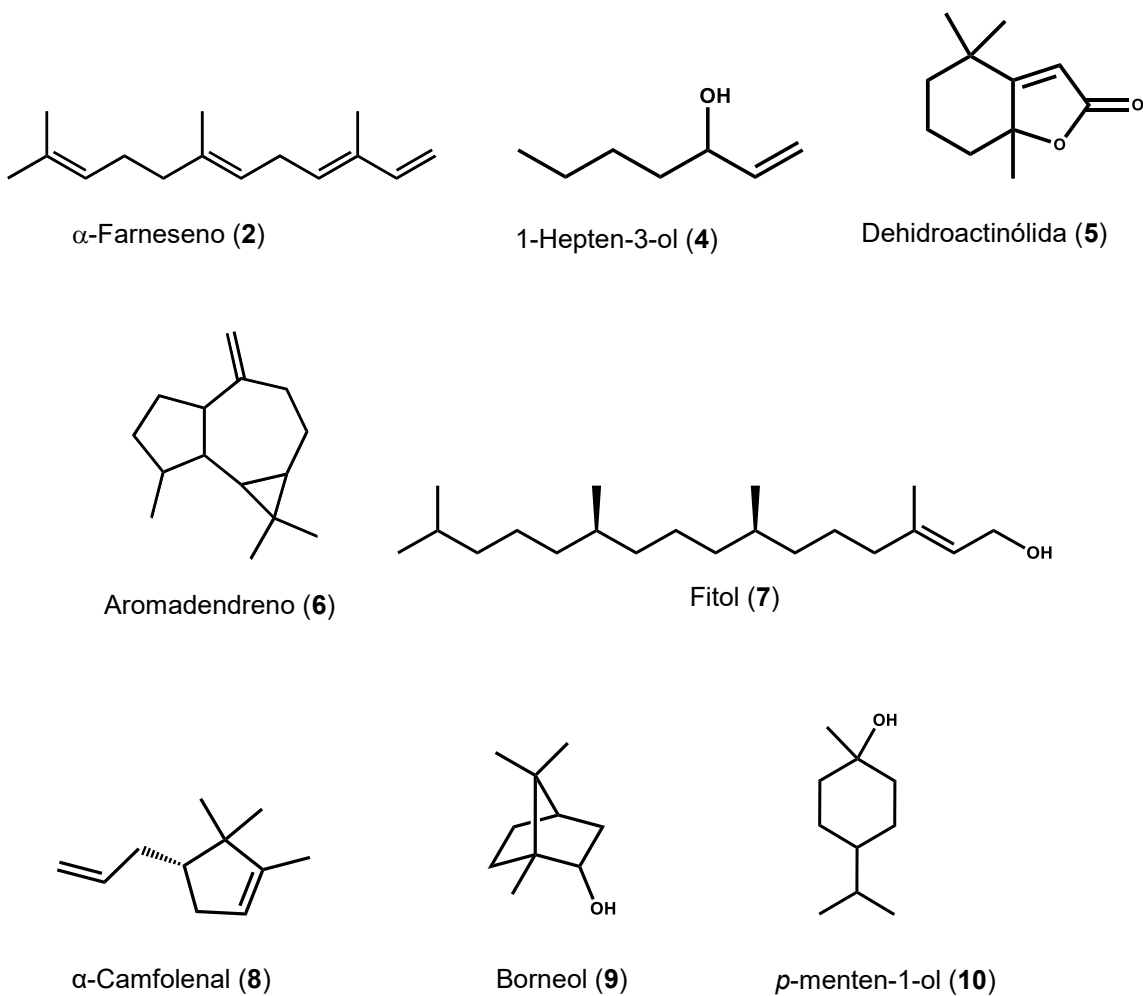
- Ordóñez Díaz, M. J. (2018). Atlas biocultural de huertos familiares en México: Chiapas, Hidalgo, Oaxaca, Veracruz y península de Yucatán. Cuernavaca. Universidad Nacional Autónoma de México, Centro Regional de Investigaciones Multidisciplinarias.
- Palmarola, A., Barrios, D. & González, L. R. (2012). Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas., Volumen 9 / N° 1 enero. -abril.
- Pflaum, T., Hausler, T., Baumung, C., Ackermann, S., Kuballa, T., Rehm, J. & Lachenmeier, D. W. (2016). Carcinogenic compounds in alcoholic beverages: an update. *Archives of Toxicology* 90(10): 2349–2367.
- Pushpavalli, G., Veeramani, C. & Pugalendi, K. V. (2008). Influence of *Piper betle* on hepatic marker enzymes and tissue antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatotoxic rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 19(2): 131-150.
- Pushpavalli, G., Veeramani, C. & Pugalendi, K. V. (2009). Effect of *Piper betle* on plasma antioxidant status and lipid profile against D-galactosamine-induced hepatitis in rats. *Redox Report* 14(1): 7–12.
- Ragasa, C., Dumato, M. & Rideout, J. (1998). Antifungal compounds from *Peperomia pellucida*. *ACGC Chemical Research Communications* 7: 54–61.
- Raghavendra, H. L. & PrashithKekuda, R. (2018). Ethnobotanical uses, phytochemistry and pharmacological activities of *Peperomia pellucida* (L.) Kunth (piperaceae)-a review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2(10): 1-8.
- Rahman, M. M., Yusuf, A. :T. M. & Islam, M. T. (2019). Protective and toxicogenetic aspects of *Piper betle*. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 1-11.
- Rangel-Landa, S., Casas, A., Rivera-Lozoya, E., Torres-García, I. & Vallejo-Ramos, M. (2016). Ixcatec ethnoecology: plant management and biocultural heritage in Oaxaca, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 12(1): 30.

- Robayo-Gama, P. A., Quijano, C. E., Morales, G. & Pino, J. A. (2010). Composition of the essential oil from leaves of *Peperomia galioides* HBK grown in Colombia. *Journal of Essential Oil Research* 22(4): 307-309.
- Samain, M. S., Mathieu, G., Vanderschaeve, L., Wanke, S., Neinhuis, C. & Goetghebeur, P. (2007). Nomenclature and typification of subdivisional names in the genus *Peperomia* (Piperaceae). *Taxon* 56(1): 229-236.
- Sánchez-Mendoza, M. E., Cruz-Antonio, L., Arrieta-Baez, D., OlivaresCorichi, I. M., Rojas-Martínez, R., Martínez-Cabrera, D. & Arrieta, J. (2015). Gastroprotective Activity of Methyleugenol from *Peperomia hispidula* on Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats. *International Journal of Pharmacology* 11 (7): 697-704.
- Shulgin, A. T. (1966). Possible implication of myristicin as a psychotropic substance. *Nature* 210(5034): 380-344.
- Ulian, T., Diazgranados, M., Pironon, S., Padulosi, S., Liu, U., Davies, L., Howes, M-J. R., Borrell J. S., Ondo, I., Pérez-Escobar, O. A., Sharrock, S., Ryan, P., Hunter, D., Lee, M. A., Barstow, C., Łuczaj, Ł., Pieroni, A., Cámara-Leret, R., Noorani, A., Mba, C., Womdim, R. N., Muminjanov, H., Antonelli, A., Pritchard, H. G. & Mattana, E. (2020). Unlocking plant resources to support food security and promote sustainable agriculture. *Plants, People, Planet* 2(5): 421–445.
- Velozo, L. S., Ferreira, M. J., Santos, M. I. S., Moreira, D. L., Guimarães, E. F., Emerenciano, V. P. & Kaplan, M. A. C. (2009). C-glycosyl flavones from *Peperomia blanda*. *Fitoterapia* 80(2): 119-122.
- Vergara-Rodríguez, D., Mathieu, G., Samain, M. S., Armenta-Montero, S. & Krömer, T. (2017). Diversity, Distribution, and Conservation Status of *Peperomia* (Piperaceae) in the State of Veracruz, Mexico. *Tropical Conservation Science* Volume 10: 1–28.
- Vergara-Rodríguez, D. (2013). Diversidad y distribución de las especies del género *Peperomia* (Piperaceae) en el estado de Veracruz. Tesis de maestría. Universidad Veracruzana, Xalapa, México.
- Villa-Ruano, N., Pacheco-Hernández, Y., Zárata-Reyes, J. A., Becerra-Martínez, E., Lozoya-Gloria, E. & Cruz-Duran, R. (2018). Nutraceutical potential

- and hypolipidemic properties of the volatiles from the edible leaves of *Peperomia maculosa*. *Journal of Food Biochemistry* 42(6): e12650.
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 87(3): 559–902.
  - Villegas, L. F. (2001). (+)-epi- $\alpha$ -bisabolol is the wound-healing principle of *Peperomia galioides*: Investigation of the in vivo wound healing activity of related terpenoides. *Journal of Natural Products* 64: 1357-1359.
  - Xu, S., Li, N., Ning, M. M., Zhou, C. H., Yang, Q. R. & Wang, M. W. (2006). Bioactive compounds from *Peperomia pellucida*. *Journal of Natural Products* 69(2): 247-250.
  - Yang, A.-H., He, X., Chen, J.-X., He, L.-N., Jin, C.-H., Wang, L.-L., Zhang, F.-L. & An, L.-J. (2015). Identification and characterization of reactive metabolites in myristicin-mediated mechanism-based inhibition of CYP1A2. *Chemico-Biological Interactions* 237: 133–140.
  - Yang, A.-H., Zhang, L., Zhi, D.-X., Liu, W.-L., Gao, X. & He, X. (2018). Identification and analysis of the reactive metabolites related to the hepatotoxicity of safrole *Xenobiotica* 48(11): 1164–1172.
  - Young, S. C., Wang, C. J., Hsu, J. D., Hsu, J.L. & Chou, F. P. (2006) Increased sensitivity of Hep G2 cells toward the cytotoxicity of cisplatin by the treatment of *Piper betel* leaf extract. *Archives of Toxicology* 80:319–327.
  - Yu, D., Yang, X., Lu, X., Shi, L. & Feng, B. (2016). Ethyl acetate extract of *Peperomia tetraphylla* induces cytotoxicity, cell cycle arrest, and apoptosis in lymphoma U937 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 84: 1802–1809.
  - Zamora-Martinez, M. C. & de Pascual Pola, C. N. (1992). Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* 35(3): 229–257.
  - Zhang, Z., Zhao, Q., Liu, T., Zhao, H., Wang, R., Li, H., Zhang, Y., Shan, L., He, B., Wang, X., Huang, L., Hao, D. & Sun, H. (2020). Effect of Vicenin-2 on ovariectomy-induced osteoporosis in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 129: 110474.

- Zhao, Z. S., y O'Brien, P. J. (1996). The Prevention of CCl<sub>4</sub>-Induced Liver Necrosis in Mice by Naturally Occurring Methylenedioxybenzenes. *Toxicology and Applied Pharmacology* 140(2): 411–421.
- Zhu, X., wang, yikun, Yang, X. N., Xiao, X.-R., Zhang, T., Yang, X.-W. & Li, F. (2019). Metabolic activation of myristicin and its role in cellular toxicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67: 4328–4336.
- Zoghbi, M. G. B., Andrade, E. H. A., Lobato, R. C. L., Tavares, A. C. C., Souza, A. P. S., Conceição, C. C. C. & Guimaraes, E. F. (2005). *Peperomia circinnata* Link and *Peperomia rotundifolia* (L.) Kunth growing on different host-trees in Amazon: volatiles and relationship with bryophytes. *Biochemical Systematics and Ecology* 33(3): 269-274.
- Zotz, G. (2016). The Role of Vascular Epiphytes in the Ecosystem. *Fascinating Life Sciences* 229–243.

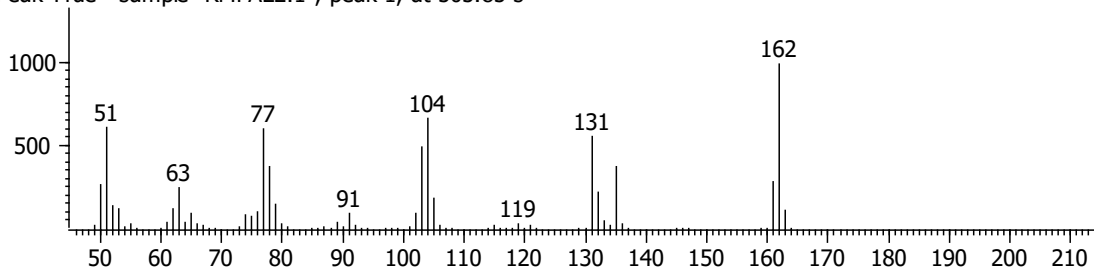
## 9. ANEXOS



**Figura 10.** Metabolitos identificados en el aceite esencial de *P. hintonii*.

### Safrol (1):

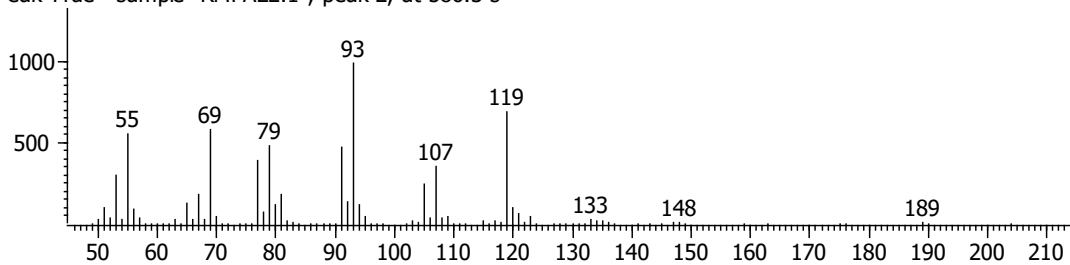
Peak True - sample "RMPAE2:1", peak 1, at 505.85 s



Library Hit - similarity 942, "Benzene, 1,2-(methylenedioxy)-4-propenyl, (E)-"

### $\alpha$ -farneseno (2):

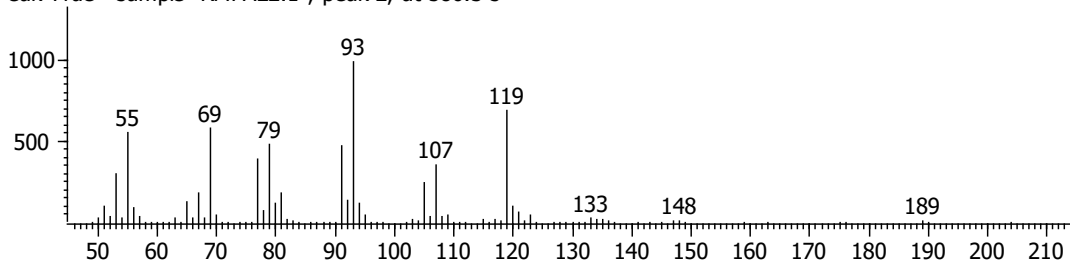
Peak True - sample "RMPAE2:1", peak 2, at 586.3 s



Library Hit - similarity 980, "1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl, (Z,E)-"

### Miristicina (3)

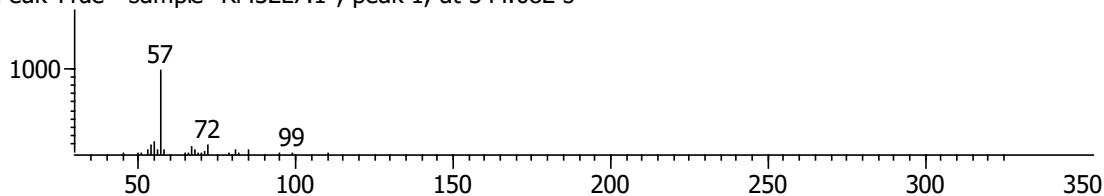
Peak True - sample "RMPAE2:1", peak 2, at 586.3 s



Library Hit - similarity 980, "1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl, (Z,E)-"

### 1-Hepten-3-ol (4):

Peak True - sample "RM32L7:1", peak 1, at 344.082 s

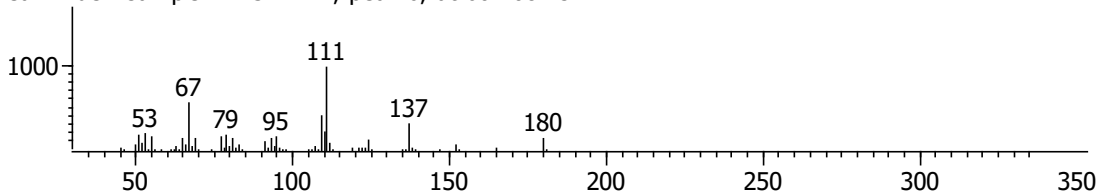


Library Hit - similarity 853, "1-Hepten-3-ol"



### Dehidroactinólida (5):

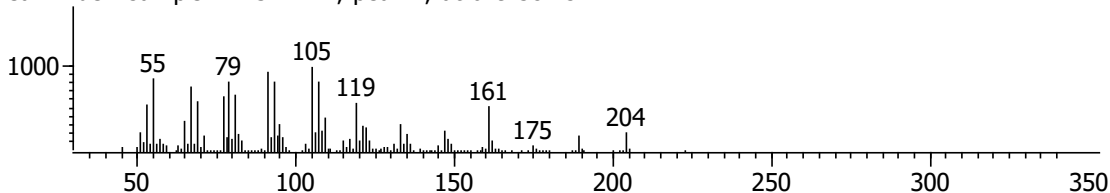
Peak True - sample "RM32L7:1", peak 6, at 607.082 s



Library Hit - similarity 910, "2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-"

### Aromadendreno (6):

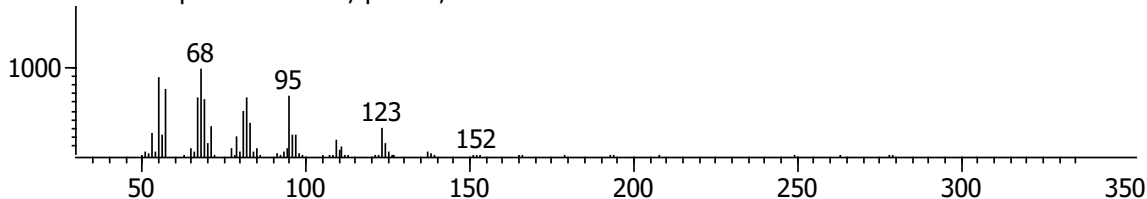
Peak True - sample "RM32L7:1", peak 7, at 629.582 s



Library Hit - similarity 881, "Aromadendrene"

### Fitol (7):

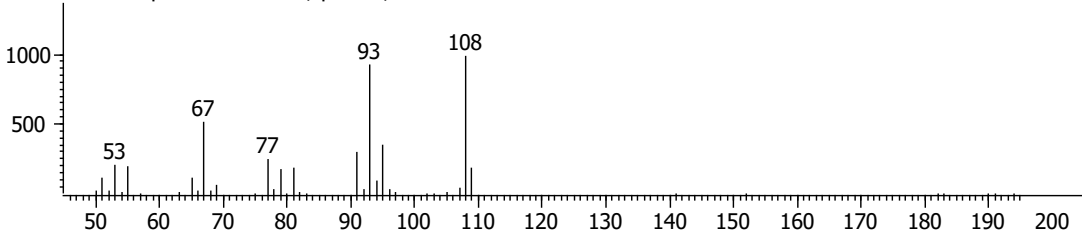
Peak True - sample "RM32L7:1", peak 8, at 705.732 s



Library Hit - similarity 894, "3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol"

### Camfolenal (8):

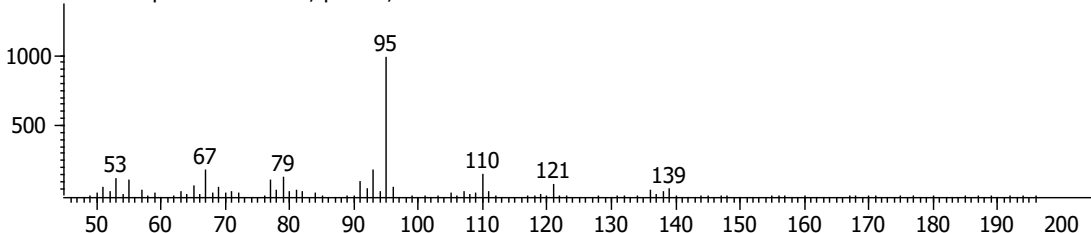
Peak True - sample "RM32F10:1", peak 1, at 429.228 s



Library Hit - similarity 866, "3-Cyclopentene-1-acetaldehyde, 2,2,3-trimethyl-"

### Borneol (9):

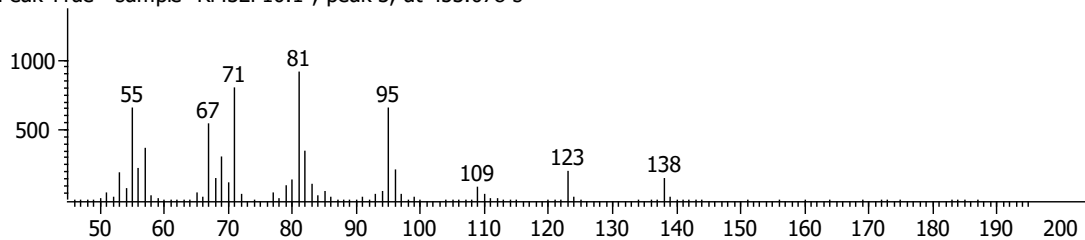
Peak True - sample "RM32F10:1", peak 2, at 449.978 s



Library Hit - similarity 839, "Borneol"

### **p-menten-1-ol (10):**

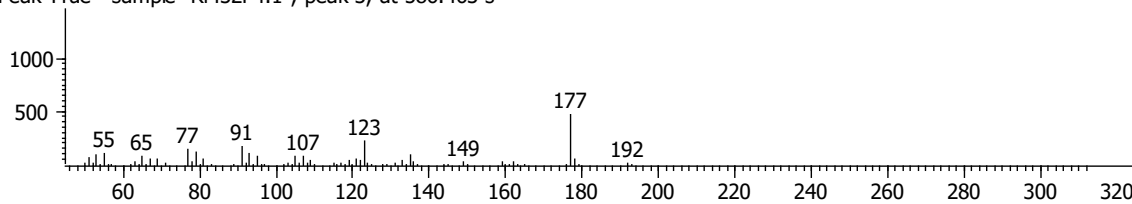
Peak True - sample "RM32F10:1", peak 3, at 453.078 s



Library Hit - similarity 939, "Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-"

### **β-Ionona (11):**

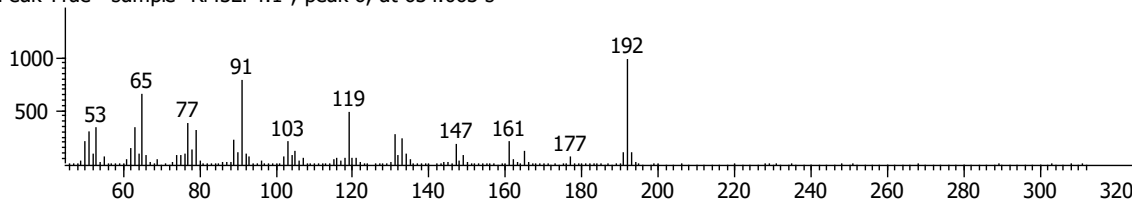
Peak True - sample "RM32F4:1", peak 3, at 586.463 s



Library Hit - similarity 903, "3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-, (E)-"

### **Derivado de miristicina (12):**

Peak True - sample "RM32F4:1", peak 6, at 634.063 s



Library Hit - similarity 888, "1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)-"

**Figura 11:** Espectros de masas por Impacto Electrónico de los compuestos identificados.