

COMPARACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Piper lanceifolium* Kunth Y *P. hispidum* Sw DEL DEPARTAMENTO DEL CHOCÓ

COMPARISON OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OILS OF *Piper lanceifolium* Kunth AND *P. hispidum* Sw FROM CHOCÓ DEPARTMENT

NAYIVE PINO BENÍTEZ¹, ERIKA MELÉNDEZ LEÓN¹, ELENA E. STASHENKO²

RESUMEN

Se estudió la composición química del aceite esencial de las hojas de dos especies de la familia Piperaceae (*Piper lanceifolium* Kunth y *P. hispidum* Sw.) con el objeto de establecer una comparación en cuanto a sus constituyentes químicos. El material vegetal se colectó en los municipios de Bagadó y Atrato respectivamente. Los aceites esenciales se obtuvieron por hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWH) y se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), encontrándose que ambos aceites esenciales son del tipo sesquiterpenoide. Los componentes mayoritarios para *P. lanceifolium* son *trans*- β -cariofileno (11.6%) y germacreno D (10.7%) y para *P. hispidum*: *trans*-nerolidol (23.6%) y óxido de cariofileno (5.4%). Algunos compuestos como α -pineno, β -pineno, limoneno, linalol, α -cubebeno, β -elemeno, *trans*- β -cariofileno, α -humuleno, γ -cadineno, *trans*-nerolidol, espatulenol y óxido de cariofileno se encontraron en los aceites esenciales de las especies en estudio, presentando una proporción variable en sus porcentajes.

Palabras clave: Género *Piper*; Aceite esencial; Sesquiterpenoide; *Trans*-nerolidol; *Trans*- β -cariofileno.

ABSTRACT

The chemical composition of essential oil from leaves of two species of the family Piperaceae: *Piper lanceifolium* Kunth and *P. hispidum* Sw, was studied, to establish a comparison in terms of its chemical constituents. The plant material was collected in the municipalities Bagadó and Atrato respectively. Essential oils were obtained by hydrodistillation assisted by microwave radiation (MWH) and analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS); found both essential oils are sesquiterpenoide type, the main components for *P. lanceifolium* were *trans*- β -caryophyllene (11.6%) and germacrene D (10.7%) and for *P. hispidum*: *trans*-nerolidol (23.6%) and caryophyllene oxide (5.4%). Some compounds such as α -pinene, β -pinene, limonene, linalool, α -cubebene, β -elemene, *trans*- β -caryophyllene, β -humulene, γ -cadinene, *trans*-nerolidol, espatulenol and caryophyllene oxide were found in essential oils of the species under study, with a variable proportion of their percentage

Keywords: Genus *Piper*; Essential oil; Sesquiterpenoid; *Trans*-nerolidol; *Trans*- β -caryophyllene.

INTRODUCCIÓN

La familia *Piperaceae* comprende 4 géneros y más de 2.000 especies, muchas de las cuales se usan en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades como dolores reumáticos, mlares y estomacales, como también anti-infeccioso y cicatrizante (Pino *et al.*, 2005). Estas plantas se en-

cuentran en una gran variedad de hábitats, crecen por lo general en lugares húmedos y sombreados y en climas cálidos, medios o fríos; pueden ser arbustos, frútices o yerbas (García *et al.*, 1992). La familia *Piperaceae* se informa como una de las dicotiledonias mejor representadas en la flora chocoana (4 géneros y 140 especies). El género *Piper*, se destaca como uno de los más abundantes

1. Laboratorio de Productos Naturales, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Colombia. Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM. e-mail: nayivepino@yahoo.com
2. Laboratorio de Cromatografía, Centro de Investigación en Biomoléculas (CIBIMOL) y Centro de Investigación de Excelencia (CENIVAM), Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. e-mail: elenastashenko@gmail.com

Fecha de recibido: Diciembre 19, 2008

Fecha de aprobación: Marzo 5, 2009

(Forero & Gentry, 1989), en el que se encuentran las especies en estudio (*P. lanceifolium* y *P. hispidum*).

El análisis de los constituyentes volátiles de algunas especies de la familia Piperaceae ha sido objeto de diversos estudios, los cuales revelan sobre todo la presencia de monoterpenos, sesquiterpenos y arilpropanoides con interesantes propiedades biológicas (Dias dos Santos *et al.*, 2001). Entre estos estudios cabe destacar a la composición química realizada a los aceites esenciales de hojas de *P. fulvescens* (colectadas en Paraguay), analizados por GC y GC-MS, mostrando como componentes mayoritarios a anetol (26.4%), seguido por ishwaranol (12.1%) (Vila *et al.*, 2001).

Los aceites esenciales de las partes aéreas de *P. capense*, *P. guineense*, *P. umbellatum* y del fruto de *P. nigrum* (colectadas en el occidente de África), los componentes principales para *P. capense* fueron α -pineno (32.5%) y *trans*- β -cariofileno (12.6%) para *P. nigrum* limoneno (18.8%), *trans*- β -cariofileno (15.4%), sabineno (16.5%) y β -pineno (15.4%). El aceite esencial de *P. umbellatum* se caracterizó por alto contenido de β -pineno (26.8%), β -pineno (17.6%) y *trans*-nerolidol (12.4%). Por otro lado, los derivados fenilpropanoides fue el grupo de compuestos más importante en el aceite esencial de *P. guineense* encontrándose como mayor constituyente dill apiol (44.8%), seguido por miristicin (9.8%) (Martins *et al.*, 1998).

La importancia del presente estudio radica en analizar la composición química de los aceites esenciales de las especies *P. lanceifolium* y *P. hispidum*, utilizadas como medicinales en el departamento del Chocó. Además de establecer diferencias en cuanto al tipo de constituyentes presentes en ellos, se realizará una comparación de los resultados obtenidos en relación con estudios realizados con las mismas especies pero que han sido colectadas en diferentes regiones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. El material vegetal (hojas de *P. lanceifolium* y *P. hispidum*) empleado en el estudio fue recolectado por personal adscrito al Grupo de Investigación en Productos Naturales de la Universidad Tecnológica del Chocó, en dos municipios del departamento del Chocó (Bagadó y Atrato respectivamente). La identificación taxonómica se llevó a cabo en el Herbario CHOCÓ y luego se confirmó en el Herbario Nacional Colombiano (COL), de la Universidad Nacional de Colombia (sede en Bogotá). Los pliegos testigos de cada planta quedaron almacenados como muestra permanente en el COL de la siguiente manera: *Piper lanceifolium* Kunth N° 519993 y *Piper hispidum* Sw. N° 519969.

Extracción. Los aceites esenciales se extrajeron de las hojas de *P. lanceifolium* y *P. hispidum*, utilizando el método de hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWH) (Stashenko *et al.*, 2004), empleando un equipo de destilación tipo *Clevenger* con reservorio de destilación *Dean-Stark* y adaptación para calentamiento por radiación de microondas, a través de un horno de microonda convencional LG, modelo MS-1242 ZK, con una potencia de salida de 800 vatios y frecuencia de radiación de 2.5 GHz. Al material vegetal se añadieron 250 ml de agua destilada. La extracción se realizó durante 10 intervalos (10 min cada uno) y 5 min de reposo entre intervalos.

Preparación de la muestra. Una alícuota de cada aceite esencial (20 μ l) se disolvió en diclorometano hasta un volumen final de 1 ml; 1 μ l de la solución se inyectó al equipo GC-MS para su correspondiente análisis cromatográfico.

Análisis cromatográfico de los aceites esenciales (GC-MS). El análisis cromatográfico de los aceites esenciales se llevó a cabo en un equipo *Agilent Technologies* 6890 Plus (HP, Palo Alto, CA,

EE.UU.), acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* MSD 5975, equipado con un puerto de inyección split/splitless (relación 1:50), un inyector automático *Agilent* 7863, un sistema de datos *HP ChemStation*. Se utilizó una columna capilar de sílice fundida DB-5MS (*J & W Scientific* Folsom, CA, EE.UU.), de 60 m x 0.25 mm, D.I. x 0.25 μm , d_p con fase estacionaria de 5% fenil-poli (metilsiloxano). La temperatura del horno se mantuvo a 45°C (5 min), se aumentó 4°C/min hasta 150°C (2 min), luego a 5°C/min hasta 250°C (5 min) y finalmente a 10°C/min hasta 275°C. Se empleó helio como gas de arrastre, con una presión de entrada en la cabeza de la columna de 16.47 psi, y una velocidad de flujo de 1ml/min.

Índices de retención. Los índices de retención (I_R) se calcularon utilizando los datos de cromatografía de gases (GC) de una serie homóloga de hidrocarburos alifáticos saturados entre C_8 y C_{25} , analizados en la misma columna y con las mismas condiciones cromatográficas utilizadas para el análisis de cada aceite.

Identificación de los compuestos. La identificación de los compuestos se llevó a cabo mediante el cálculo de los índices de Kováts (I_k), utilizando los tiempos de retención del compuesto (t_R) y los de una serie de hidrocarburos lineales y por comparación de los patrones de fragmentación representados en los espectros de masas experimentales con los encontrados en las bases de datos o librerías (NIST02, Adams, Wiley7n) (Joulán 1998 y Adams 2004).

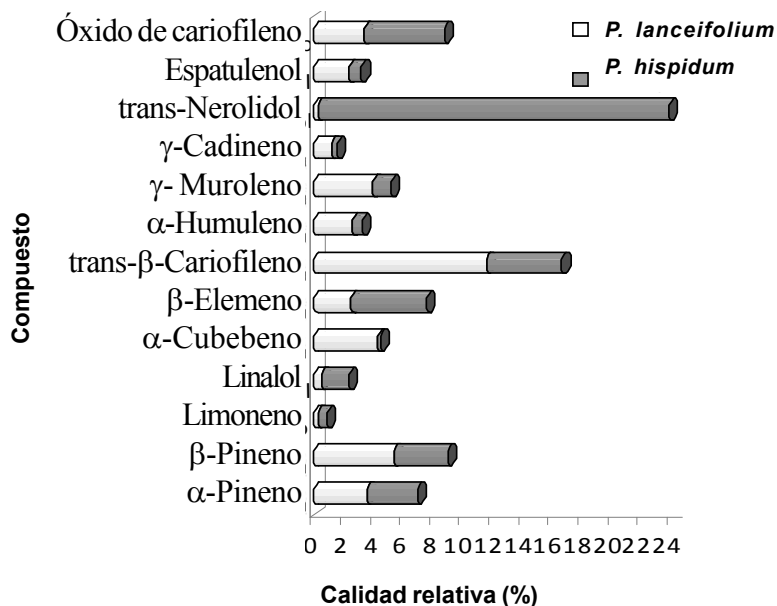
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la composición química encontrada para los aceites esenciales de ambas especies de *Piper* se presentan en la Tabla 1. El aceite esencial de la especie *P. lanceifolium* se caracterizó por poseer un alto contenido de sesquiterpenos (71.7%), esta composición está representada por

hidrocarburos sesquiterpénicos (58.5%) y sus derivados oxigenados (13.2%); los principales componentes *trans*- β -cariofileno (11.6%), germacreno D (10.7%) seguido por α -selineno (7.8%), β -pineno (5.4%), β -selineno (4.8%) y α -cubebeno (4.3%). Al igual que el anterior, el aceite esencial de *P. hispidum* informa un alto contenido de compuestos sesquiterpénicos (74.4%). Esta composición está representada por hidrocarburos sesquiterpénicos (28%) y sus derivados oxigenados (46.4%), siendo los principales componentes *trans*-nerolidol (23.6%) y óxido de cariofileno (5.4%), seguido por β -elemeno (5.1%), *trans*- β -cariofileno (5.1%), curzereno (4.9%) y germacreno B (4.5%).

Como se muestra en la Gráfica 1, los compuestos α -pineno, β -pineno, limoneno, linalol, α -cubebeno, β -elemeno, *trans*- β -cariofileno, α -humuleno, γ -muroleno, γ -cadineno, *trans*-nerolidol, espatulenol y óxido de cariofileno, se encontraron en el aceite esencial de las dos especies presentando una variable proporción en sus porcentajes, principalmente en los compuestos *trans*- β -cariofileno, *trans*-nerolidol y α -cubebeno (11.6%, 0.3%, 4.3% y 5.1%, 23.6%, 0.2% para *P. lanceifolium* y *P. hispidum* respectivamente).

Pino *et al.* (2004), reportan como componentes mayoritarios a β -eudesmol (17.5%) y otro identificado tentativamente como *trans*-3,6-dimetil-5-isoprenil-6-vinil-4,5,6,7-tetrahidrobenzofurano (12.9%) del aceite esencial de hojas de *P. hispidum* en Cuba, a diferencia del presente estudio y como se muestra en la Tabla 1, este aceite esencial registra otros compuestos mayoritarios (*trans*-nerolidol (23.6%) y óxido de cariofileno con 5.4%). En el caso del análisis de la composición química del aceite esencial de los frutos de *P. hispidum* en Cundimamarca (Delgado & Cuca, 2007), se identifican como componentes mayoritarios: limoneno (16.3%), β -pineno (14.5%), linalol (9.6%), α -terpineol (8.5%), los cuales se encontraron en bajos porcentajes en el presente estudio (0.6%, 3.6%, 1.9%, y



Gráfica 1. Compuestos comunes en el aceite esencial de *P. lanceifolium* y *P. hispidum*

0.3% respectivamente). Con base en el estudio realizado por McGimpsey *et al.* (1994), estas diferencias composicionales del aceite esencial de las hojas colectadas en Cuba y Colombia, se pueden deber a variaciones químicas naturales denominadas quimiotipos, que suceden en el metabolismo secundario de las plantas, inducidas quizás por factores ambientales tales como el tipo de suelo, altitud, exposición al sol, lluvia, época de colecta, variaciones estacionales, entre otras, que someten al individuo a una condición de estrés y hace que su metabolismo produzca algunos metabolitos en mayor cantidad que otros; sin embargo, las variaciones observadas pueden estar influidas también por factores genéticos (McGimpsey *et al.*, 1994). En el caso de la diferencia en la composición de los frutos y hojas de *P. hispidum*, se atribuye a que esta composición puede variar según la parte de la planta (Delgado & Cuca, 2007).

Un estudio realizado en Costa Rica por Mundina *et al.* (2001), informa el aceite esencial de las hojas de *P. lanceifolium* con alto contenido de hidrocarburos sesquiterpénicos (42.8%), siendo los principales *trans*-β-cariofileno (20.6%) y germacreno D (12.5%); además, reveló la presencia de fenil-

propanoides (36.3%) representando a este grupo, los compuestos elemicin (24.4%) y *parsley* apiol (11.7%); las diferencias encontradas en este estudio y el presente son significativas en cuanto a los tipos de compuestos, porque en este último no se informa la presencia de fenilpropanoides; sin embargo, los hidrocarburos sesquiterpénicos *trans*-β-cariofileno (11.6%) y germacreno D (10.7%) fueron los constituyentes mayoritarios de este aceite esencial; por otra parte el aceite esencial obtenido por Mundina *et al.* (2001) de las ramas de *P. lanceifolium* posee un alto contenido de α y β-pineno (13.7% y 15.8%, respectivamente); de igual manera estos hidrocarburos monoterpénicos se encontraron en el presente estudio en porcentajes de 3.6% y 5.4% del aceite esencial de las hojas de *P. lanceifolium*; estas diferencias pueden atribuirse a factores genéticos, a las fases de desarrollo de la planta, las partes utilizadas u otros factores climático-ambientales y geográficos.

De acuerdo con las principales familias de compuestos encontradas en los aceites esenciales de *P. lanceifolium* y *P. hispidum* (monoterpenoides y sesquiterpenoides), este estudio corrobora lo expresado por Ciccío (1996), debido que los principales consti-

Tabla 1
Composición química de las especies de *Piper*

Compuesto ^a	Cantidad relativa (%)		
	I _k ^b	<i>P. lanceifolium</i>	<i>P. hispidum</i>
α-Pineno	936	3.6	3.4
Canfeno	954	0.2	-
β-Pineno	983	5.4	3.6
β-Mirceno	990	0.3	0.4
<i>p</i> -Cimeno	1026	0.8	-
Limoneno	1031	0.3	0.6
<i>cis</i> -β-Ocimeno	1034	0.2	0.4
<i>trans</i> -β-Ocimeno	1044	-	3.1
γ-Terpineno	1057	0.2	-
Linalol	1093	0.5	1.9
Perileno	1106	-	0.3
α-Terpineol	1196	0.3	0.3
Acetato de linalilo	1244	-	0.7
Bicicloelemeno	1336	0.1	-
α-Cubebeno	1353	4.3	0.2
α-Ylangeno	1377	0.2	1.4
Sesquiterpeno C ₁₅ H ₂₄	1385	3.8	0.3
β-Elemeno	1394	2.5	5.1
α-Gurjuneno	1417	0.2	-
Sesquiterpeno C ₁₅ H ₂₄	1428	-	0.2
<i>trans</i> -β-Cariofileno	1433	11.6	5.1
γ-Elemeno	1435	-	2.8
β-Copaeno	1440	0.8	-
Sesquiterpeno C ₁₅ H ₂₄	1446	-	0.4
Aromadendreno	1449	0.4	-
<i>trans</i> -β-Farneseno	1456	0.4	-
<i>trans</i> -Muuro-la-3,5-dieno	1459	0.2	-
α-Humuleno	1467	2.6	0.7
<i>allo</i> -Aromadendreno	1471	-	0.3
<i>cis</i> -Cadina-1(6),4-dieno	1472	0.3	-
γ-Muroleño	1483	4.0	1.2
Sesquiterpeno C ₁₅ H ₂₄	1487	0.5	0.3
<i>trans</i> -Muuro-la-4(14)-5-dieno	1491	-	2.9
Germacreno DPentadecano	1493	10.7	-
Curzereno	1497	2.5	-
β-Selineno	1500	-	4.9
Sesquiterpenol	1501	4.8	-
Sesquiterpenol	1506	0.9	-
α-Selineno	1507	-	2.9
Sesquiterpeno C ₁₅ H ₂₄	1508	7.8	-
γ-Cadineno	1511	-	1.4
Sesquiterpenol	1523	1.2	0.4
<i>trans</i> -Calameneno	1526	-	1.2
<i>trans</i> -Cadina-1,4-dieno	1532	2.1	-
Sesquiterpeno C ₁₅ H ₂₄	1541	0.3	-

Tabla 1
Composición química de las especies de *Piper* (continuación)

Compuesto ^a	Cantidad relativa (%)		
	I _k ^b	<i>P. lanceifolium</i>	<i>P. hispidum</i>
Elemicino	1545	-	0.2
Sesquiterpeno C ₁₅ H ₂₄	1548	0.8	-
Sesquiterpenol	1550	-	0.6
<i>trans</i> -Nerolidol	1552	-	0.7
Elemol	1558	0.3	23.6
β-Calacoreno	1557	-	3.6
Germacreno B	1573	0.1	-
Davanona B	1574	-	4.5
Espatulenol	1582	-	0.3
Óxido de Cariofileno	1592	2.4	0.8
Epóxido de Humuleno II	1599	3.4	5.4
Óxido de humuleno	1625	0.4	-
Sesquiterpenol	1626	-	0.4
Compuesto oxigenado C ₁₅ H ₂₆ O	1632	0.8	0.5
Sesquiterpenol	1640	1.8	-
γ-Eudesmol	1641	0.4	-
α-Eudesmol	1645	-	1.1
Sesquiterpenol	1672	-	2.4
11-Selinen-4-α-ol	1675	2.6	-
Sesquiterpenol	1676	-	1.4
Sesquiterpenol	1697	-	0.3
Hidrocarburos monoterpénicos	1725	-	0.5
Monoterpenos oxigenados		10.8	11.5
Hidrocarburos sesquiterpénicos		1.0	2.5
Sesquiterpenos oxigenados		58.5	28.0
Compuestos oxigenados		13.2	46.4
N.I.		-	6.1
Otros		13.9	4.9
Total		-	6.1
		97.4	99.4

a. Compuestos listados en orden de elución

b. Índice de retención en una columna DB-5MS

tuyentes en la composición química de varios aceites esenciales de plantas del género *Piper*; son monoterpenoides, sesquiterpenoides y fenilpropanoides.

En el aceite esencial de *P. lanceifolium* se destaca la presencia del sesquiterpeno *trans*-β-cariofileno, compuesto presente en productos naturales tales como el aceite de clavo de olor, canela y bálsamo de copaiba, los cuales se han utilizado ampliamente como remedios naturales y fragancias; el olor del *trans*-β-cariofileno se describe como leñoso y picante (Sköld

et al., 2006); además de ser utilizado en fragancias (Verghese, 2004), este compuesto presenta actividad antiinflamatoria en algunos modelos de células animales (Martin *et al.*, 1993, Fernández *et al.*, 2007), como también actividad anestésica local al ser evaluado *in vivo* e *in vitro* por Ghelardini *et al.* (2001).

La especie *P. hispidum* del departamento del Chocó, se destaca debido a la presencia del compuesto *trans*-nerolidol como componente mayoritario en su aceite esencial; diversos estudios informan la utilidad de este

compuesto como agente saborizante en alimentos y que además exhibe propiedades biológicas tales como antineoplástica, antimalárica y antileishmaniasis (Wattenberg 1991, Lopes *et al.*, 1999, Arruda *et al.*, 2005). Dada la importancia de estos compuestos y debido a su presencia en las especies *P. lanceifolium* y *P. hispidum*, constituyen como especies con gran potencial en el Pacífico colombiano.

CONCLUSIONES

El estudio de composición química de los aceites esenciales de las especies *P. lanceifolium* y *P. hispidum* contribuye al conocimiento y aprovechamiento de los recursos vegetales del departamento del Chocó, porque estas especies revelan la presencia de metabolitos secundarios cuya aplicación le confieren a estas plantas un gran uso potencial. La variabilidad observada en la composición química de los aceites esenciales extraídos de las hojas de estas especies, puede atribuirse tanto a factores climáticos como a factores genéticos. Los aceites esenciales se clasifican según su composición química, de acuerdo con esto; ambos aceites esenciales se clasifican del tipo sesquiterpenoide.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen de una manera especial a la Universidad Tecnológica del Chocó (Quibdó, Chocó), al Laboratorio de Cromatografía, Centro de Investigación en Biomoléculas (CIBIMOL) y al Centro de Investigación de Excelencia (CENIVAM), Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

LITERATURA CITADA

- Adams, R. P. 2004 *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectrometry*. 4th ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation.
- Arruda, D. C., D'Alexandri F. L., Katzin M., Uliana S. R. 2005. Antileishmanial Activity of the Terpene Nerolidol *Antimicrob Agents Chemother.* **49** (5): 1679-87.
- Ciccío, J. F. 1996. Constituyentes del aceite esencial de las hojas de *Piper terrabanum* (Piperaceae). *Rev Biol Trop.* **44**: 507-11.
- Delgado, W. A., Cuca L. E. 2007. Composición química del aceite esencial de los frutos de *P. hispidum* Kunth. *Rev Produc Natur.* **1** (1): 5-8.
- Dias Dos Santos, P. R., Guimara, E. F. y Coelho, M. A. 2001. Essential oil analysis of 10 *Piperaceae* species from the Brazilian Atlantic forest. *Phytochem.* **58**: 547-51.
- Fernández, E. S., Passos G. F., Medeiros R., da Cunha F. M., Ferreira J., Campos M. M., *et al.* 2007. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-) -*trans*-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *Eur J Pharmacol.* **569**: 228-36.
- Forero, E., Gentry A. 1989. *Lista de las plantas del departamento del Chocó*. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá: Editorial Guadalupe Ltda. p. 11, 121.
- García, H. 1992 Flora medicinal de Colombia. *En: Botánica Médica*. Tomo I. 2ª ed. Bogotá: Tercer Mundo Ed. p. 222.
- Ghelardini, C., Galeotti N., Mannelli L., Mazzanti G., Bartolini A. 2001 Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. *Il Farmaco.* **56**: 387-9.
- Joulán, D. y W. Kong. 1998. *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*. Hamburg: E.B. Verlag.
- Lopes, N. P., Kato M. J., Andrade E. H., Maia J. G., Yoshida M., Planchart A. R., *et al.* 1999. Antimalarial use of volatile oil from leaves of *Virola surinamensis* (Rol.) Warb. by Waiapi Amazon Indians. *J Ethnopharmacol.* **67**: 313-19.
- Martin, S., Padilla E., Ocete M.A., Gálvez J., Jiménez y Zarzuelo J.A. 1993 Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Bupleurum frutescens*. *Planta Med.* **59**: 533-6.
- Martins, P. Salgueiro L., Vila R., Tomi F., Cañigual S., Casanova J., *et al.* 1998. Essential oils from four *Piper* species. *Phytochem.* **49** (7): 2019-23.
- McGimpsey, J. A., Douglas, M. H., van Klink, J. W., Beavregard, D. A. y Perry, N. B. 1994. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus vulgaris* L. in New Zealand. *Flavor Fragr J.* **9**: 347-52.
- Mundina, M., Vila R., Tomi F., Tomás X., Ciccío J. F., Adzet T., *et al.* 2001. Composition and chemical polymorphism of the essential oils from *Piper lanceaefolium*. *Biochem Syst Ecol.* **29**: 739-48.
- Pino, J.A. Marbot R., Bello A., Urquiola A. 2004. Composition of the essential oil of *Piper hispidum*

- Sw. from Cuba. *J Essent Oil Res.* **16**: 459-60.
- Pino, N.**, Yurgaky T., Cuesta J. 2005. Aspectos botánicos y química preliminar de seis especies del género *Piper* usadas como medicinales en el Municipio de Quibdó, Chocó. *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó.* **23**: 20-5.
- Sköld, M.**, Karlberg A.T., Matura M., Börje A. 2006. The fragrance chemical β -caryophyllene-air oxidation and skin sensitization. *Food Chem Toxicol.* **44**: 538-45.
- Stashenko, E.E.**, Jaramillo B.E., Martínez J.R. 2004. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity. *J Chromatogr A.* **1025**: 93-103.
- Verghese, J.** 1994. Fragrances from caryophyllene, the sesquiterpene constituent of clove oil. *J Pafai.* **16**: 21-5.
- Vila, R.**, Milo B., Tomi F., Casanova J., Ferro E.A., Cañigual S. 2001. Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Piper fulvescens*, a plant traditionally used in Paraguay. *J Ethnopharmacol.* **76**: 105-7.
- Wattenberg, L. W.**, 1991 Inhibition of azoxymethane-induced neoplasia of the large bowel by 3-hydroxy-3, 7, 11-trimethyl-1,6,10-dodecatriene (nerolidol). *Carcinogenesis.* **12**: 151-2.