

# **Caracterización de capsaicina en frutos de *Capsicum annum*, variedad habanero y su impacto medicinal como principio para controlar procesos inflamatorios.**

Isabella Alpízar Solano<sup>1</sup> y Óscar Castro Castillo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Licenciada en Farmacia. Universidad de Iberoamérica (UNIBE), Facultad de Farmacia.

<sup>2</sup> PhD en Química. Director de tesis. Facultad Farmacia (UNIBE)

## **Resumen**

El presente proyecto de investigación evaluó el contenido de capsaicina, en los frutos de una de las variedades de chile más picante que se cultivan en Costa Rica conocido como Habanero y discute las propiedades medicinales más relevante relacionadas con este alcaloide.

Todos los chiles conocidos, en sus diversas formas, tamaños, colores y pungencia, pertenecen al género *Capsicum* (Familia Solanaceae), son nativos de América y constituyen variedades genotípicas de la especie *annum*.

Este fruto tiene la particularidad de concentrar en su interior unos compuestos denominados capsaicinoides, los cuales le confieren el sabor picante (pungente) y son los principales agentes activos de esta planta, junto con la vitamina C y los carotenos.

Los capsaicinoides, constituyen un grupo de alcaloides muy particulares, porque en ese caso, el nitrógeno forma parte de una función amida, razón por la cual no pueden formar sales, como la mayoría de los alcaloides que tienen el nitrógeno en sus moléculas formando ciclos como aminas secundarias y terciarias. Por este motivo, los capsaicinoides, no pueden extraerse y purificarse por los métodos convencionales ácido/base.

La metodología usada en esta investigación, comparó dos métodos de extracción: maceración y extracción asistida por ultrasonido (EAU), empleando, en todos los casos, 5g de muestras secas y molidas de chile habanero (EAU), y como solventes: Hexano, Acetona y Etanol.

La capsaicina se identificó mediante métodos cromatográficos y espectroscópicos de análisis y se encontró que la mezcla  $\text{CHCl}_3$  /Hexano (1:1), es de muy buena resolución para separar este compuesto en los diferentes extractos obtenidos.

También, se observó que la técnica de (EAU), es un método de extracción muy práctico, eficiente y requiere mucho menos solvente y tiempo de extracción que la maceración.

**Palabras clave:** *Capsicum annum*, alcaloides, métodos de extracción, capsaicina. Impacto medicinal.

## Abstract

The present research project evaluated the content of capsaicin, in the fruits of a variety of the most spicy Chilli varieties grown in Costa Rica, known as Habanero, and the most relevant medicinal properties related to this alkaloid.

All known chillis, in their various forms, sizes, colors and pungency, belonging to the genus *Capsicum* (Family Solanaceae), are native to America and are genotypic varieties of the *annum* species.

This fruit has the particularity of concentrating in its interior, some compounds called capsaicinoids, which give it the spicy flavor and the active agents of this plant, along with vitamin C and carotenes.

The capsaicinoids, constitute a group of very particular alkaloids, because in that case, nitrogen is part of an amide function, which is why they can not form salts, like most alkaloids that have nitrogen in their molecules forming cycles like secondary and tertiary amines. For this reason, capsaicinoids can not be extracted and purified by conventional acid / base methods.

The measure used in this investigation, compared the extraction methods: maceration and ultrasound-assisted extraction (UAE), using, in all cases, 5g of dried and ground samples of habanero pepper (UAE), and as solvents. Hexane, Acetone and Ethanol.

Capsaicin was identified by chromatographic and spectroscopic methods of analysis and was found in the mixture  $\text{CHCl}_3$  / Hexane (1: 1), it is very good resolution to separate this compound in the different obtained extracts.

In addition, it is a very useful, efficient extraction method and requires much less extraction time than the extraction technique.

**Key words:** *Capsicum annum*, alkaloids, amide, capsaicin. Medical impact.

## Introducción

*Capsicum annum*, conocido popularmente en nuestro país como chile picante, Rocoto en Perú y ají, en México, es una planta arbustiva de indiscutible valor histórico y medicinal.

Civilizaciones como los aztecas e Incas lo consideraron como un fruto sagrado por sus bondades medicinales y su utilidad como arma de defensa, aplicando el humo del chile seco para afectar la vista y las vías respiratorias de sus adversarios.

Su consumo como saborizante de alimentos es mundial y masivo en alimentación humana, encontrando aplicación también como arma de defensa y en medicina para aliviar dolores musculares y los relacionados entre otros con enfermedades crónicas como osteoporosis y artritis reumatoide.

## Características botánicas<sup>1-3</sup>

*Capssicum annum* En una planta herbácea perenne, con ciclo de cultivo anual. Alcanza alturas que van desde los 0.5m de altura hasta los 2m, posee tallos ramificados abundantes, hojas aovadas, flores blancas de 5 pétalos, frutos de color, forma y tamaño muy variables, son bayas huecas y carnosas, generalmente picantes y producen numerosas semillas<sup>1-3</sup>.

Evidencias arqueológicas indican que el género *Capsicum* fue cultivado hace más de 6000 años en América, específicamente en México y Per, siendo llevado a España por Cristóbal Colón en su segundo viaje alrededor de 1493, propagándose así por toda Europa, África y el mundo entero<sup>1</sup>.

El chile picante y dulce es uno de los frutos de mayor consumo y valor económico a nivel mundial por su valor como saborizante, nutricional y medicinal.

## Usos populares

Muy recomendado tradicionalmente para aliviar cólicos, digestiones difíciles y flatulentas, tratar laringitis en gargarismos,

rubefaciente (estimular insuficiencia circulatoria periférica, tratar neuralgias y tópicamente en forma de pomadas para dolores musculares, relacionados principalmente con lumbalgias, osteoporosis artritis reumatoide<sup>1-3</sup>.

## Constituyentes químicos<sup>4,5</sup>

Se han identificado los siguiente principios activos de importancia medicinal: Carotenoides como licopeno, ácido ascórbico y vitamina A y B, vitamina E y los capsaicinoides, alcaloides de relevante actividad farmacológica<sup>8 y 9</sup>. Figura 1.

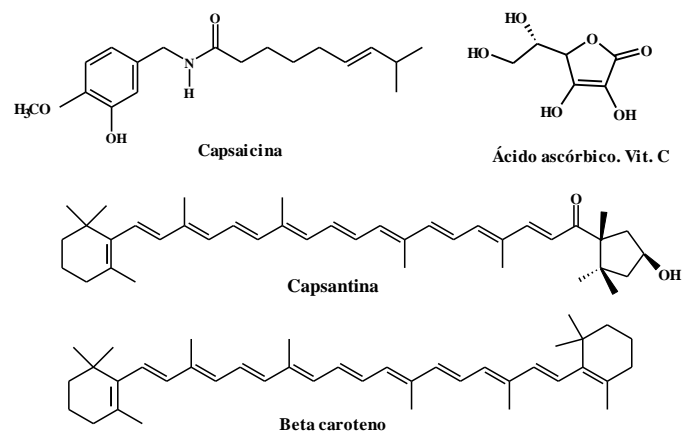


Figura 1. Componentes químicos principales del fruto de *Capsicum annum*.

## Evaluaciones Farmacológicas<sup>6</sup>

Variadas investigaciones considerando evaluaciones *in Vitro*, *in Vivo* y Clínicas han justificado las bondades medicinales populares atribuidas a estos frutos y se han identificado los capsaicinoides y en especial la capsaicina como los principales principios activos. Estos estudios han revelado, que la capsaicina, es una droga que muestra sensible propiedades:

**Antitumorales:** (con efecto antiproliferativo sobre células relacionadas con cáncer gástrico, de próstata y leucemia), induciendo apoptosis y sin efectos tóxicos relevantes<sup>7-10</sup>.

**Analgésicas:** constituyendo una nueva estrategia para controlar el dolor, porque la acción se atribuye a la parte aromática de la molécula que es un derivado de la vainillina, el cual estimula los receptores tipo vainilloides, evitando las hiperalgias inflamatorias, relacionadas con migrañas y dolores musculares comunes en espalda, zona lumbar y comunes en artritis y osteoporosis<sup>11-13</sup>.

También, se observó que pacientes tratados con capsaicina durante 22 semanas, un 50% reveló sensible mejoría. Esto se justificó, porque esta amida induce la liberación y el agotamiento de la sustancia P, que es un neuropéptido responsable de la sensación del dolor.<sup>14</sup> Este mecanismo de acción se representa en la figura. 2

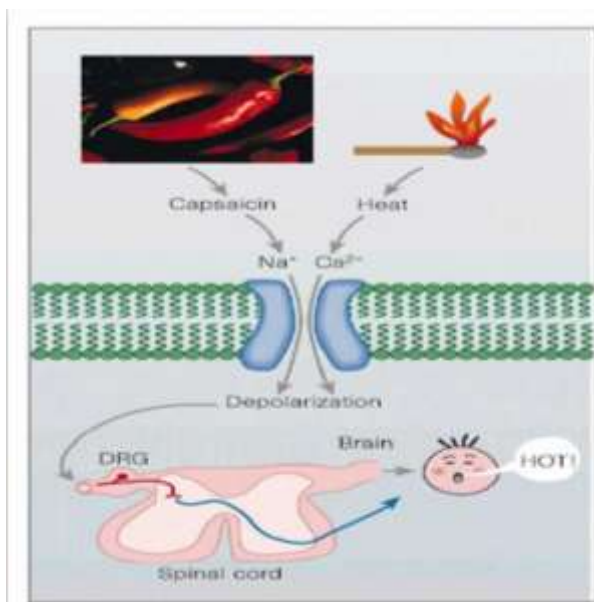


Figura 2. Esquema del mecanismo de acción de Capsaicina

**Anti-angiogénica en hojas:** Se sabe que la inducción de angiogénesis es un paso esencial para el desarrollo de tumores.

Se observó que en los chiles rojos parasita una bacteria endofítica (EML-CAP3), que sintetiza un péptido antimicrobial lipofílico, con potente acción antiogénica in Vivo e in Vitro, que podría ser de utilidad para tratar tumores hipervascularizados.<sup>15</sup>

**Anti-obesidad:** La distribución de tejido adiposo entre vísceras y tejido subcutáneo es controlada por nervios aferentes (sensitivos) presentes en la mucosa intestinal. La activación de los receptores de la función vainilloide en la capsaicina, previene y evita la adipogénesis. También, la ingestión de este alcaloide se asocia con un aumento en el gasto energético a través de la activación del tejido adiposo, aumentando la oxidación de las grasas y mejorando la lipólisis<sup>16</sup>.

**Condiciones dermatológicas:** Aplicada en formulaciones tópicas, reduce síntomas relacionados con psoriasis (escamación, eritemas), porque es un inhibidor de la vasodilatación cutánea.

Inclusive, en mujeres embarazadas, la crema tópica de capsaicina al 0.075%, es muy exitosa para el tratamiento de lipodermatoesclerosis aguda y paniculitis lobular aguda y además reduce el dolor nociceptivo y la inflamación neurogénica<sup>17,18</sup>.

#### **Hipocolesterolemia e hipolipidémica.**

Pruebas con conejos alimentados con pimientos rojos al 1%, dieron niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, LDL-C, VLDL-C y VLDL-TG e índice aterogénico muy disminuidos, mientras que el nivel de HDL-C fue mayor<sup>19</sup>.

**Agente respiratorio:** La capsaicina es muy sensible para el reflejo de la tos y por esta razón es empleada para evaluar mecanismos en investigaciones farmacológicas y clínicas en humanos. Se ha utilizado para la evaluación clínica de supresores de la tos como, benzonatate y guaifenesina.

En humanos ha mostrado que hace menos sensible la mucosa nasal y reduce síntomas de alergia y dolores nasales<sup>21,22</sup>.

**Inmunosupresor:** Directa administración de chile y capsaicina, suprimió la producción de interleukin (IL-2), interferón (IFN-gamma) IL-4 y 5. También, el análisis del flujo citométrico reveló una población reducida de células CD3 (+) y un incremento en células CD19 (+) Estos efectos modularon la respuesta de células inmunes T, todo lo cual evidencia potencial inmunomodulatorio.<sup>23</sup>

### Tipo de estudio

Hipotético-deductivo. Para justificar la hipótesis se consideraron resultados divulgados en la literatura científica

También, fue analítico-experimental porque se obtuvieron resultados mediante pruebas de laboratorio, los cuales fueron interpretados comparándolos con análogos reportados para variedades de chile picante discutidos en la literatura.

### Material botánico

Las muestras de *Capsicum annum* fueron recolectadas en la Universidad Earth, Guácimo, Limón, Costa Rica, Durante los meses de febrero a mayo que están en producción.

La investigación se realizó en laboratorios de la Universidad de Iberoamérica (UNIBE) entre marzo del 2017 y abril del 2018.

### Metodología de extracción y purificación

La metodología usada en esta investigación, comparó dos métodos de extracción: maceración y extracción asistida por ultrasonido (EAU), empleando, en todos los casos, 5g de muestras secas y molidas de chile habanero (EAU) y como solventes: Hexano, Acetona y Etanol. y 20 minutos de tiempo de extracción

Todos estos extractos fueron concentrados usando destilación con vacío a temperaturas menores a 50° C y colocados en frasco de vidrio debidamente identificados, según se indica en el siguiente esquema general de extracción Figura 3.



Figura 4. Esquema general de extracciones.

### Análisis por cromatografía de capa fina

#### Cromatografía de capa fina

En todas los caso se usaron cromatoplacas con fase estacionaria de sílica gel de 8cm de altura y 4cm de ancho.

Los diferentes extractos se aplicaron con un capilar, 1 cm arriba de la base de la placa y se dejaron ascender por capilaridad hasta llegar 1cm antes del borde superior..

Para separar la capsaicina, se exploraron, las fases móviles: CHCl<sub>3</sub>/hexano (1:1), CHCl<sub>3</sub> y la mezcla de CHCl<sub>3</sub> / MeOH (95:5).

Todas las placas se evaluaron empleando los siguientes agentes de revelado:

- Luz Ultravioleta. Onda corta (264nm) y larga (365nm)
- Vainillina Ácida
- Vapores de Yodo
- Cloruro de Hierro (III) al 5%
- Reactivo de Dragendorff

Las fase móvil de mejor resolución fue la mezcla  $\text{CHCl}_3$  / Hexano (1:1), y la mancha que caracterizó a la capsaicina dio positivo tanto con Dragendorff (Reactivo específico para alcaloides), como con  $\text{FeCl}_3$ (5%), el cual oxida con facilidad funciones fenólicas.

### Análisis por Espectroscopia UV e IR.

Los espectros ultravioleta de los extractos ricos en capsaicina mostraron un máximo de absorción en 280nm característico de un anillo aromático y en espectro IR las siguientes bandas de absorción en  $\text{cm}^{-1}$  que confirmaron la identidad de este compuesto: 3354 (vibración atribuible a N-H de amida superpuesta a función fenólica)), 1715 y 1645  $\text{cm}^{-1}$ , correspondiente al grupo carbonilo y el enlace N-H de la amida secundaria, respectivamente junto con la absorción en 1516 característica de los dobles enlace C=C del anillo aromático. No dejan duda sobre la identidad de la capsaicina.

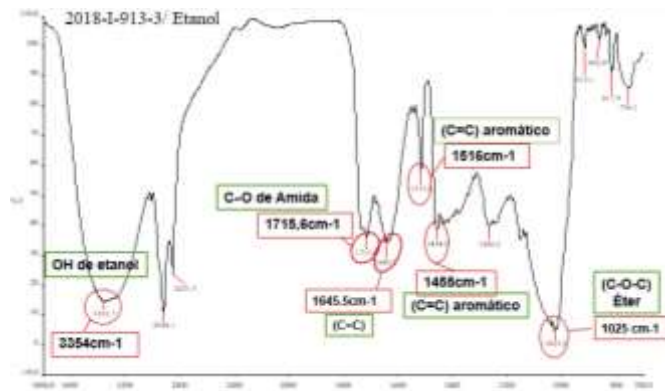


Figura 5. Perfil de absorción en espectro Infrarrojo del extracto de Capsaicina en Etanol (US).

### Conclusiones

- La extracción asistida con ultrasonido es una técnica de extracción muy recomendable y efectiva para extraer capsicinoides y carotenos de *Capsicum annuum*. Chile picante.
- La variedad conocida como Havanero, es reconocida popularmente como la más picante en el país y crece con facilidad en todas las áreas tropicales y húmedas.
- Dado el fuerte efecto pungente (picante), de estos frutos, deben manipularse con mucho cuidado, bajo capilla, porque afectan sensiblemente la piel ojos y respiración.
- La extracción asistida por ultrasonido, comparada con la de maceración es mucho más efectiva, práctica y requiere tiempos de extracción y cantidad de materias primas muchos menores.
- El carácter lipofílico de los carotenos y los capsicinoides permiten su extracción selectiva usando como solventes hexano y acetona.
- El etanol, aunque es un excelente solvente de extracción, tiene el inconveniente de disolver tanto compuestos polares como no polares (menos selectivo).
- Se obtienen oleorresinas ricas en capsacinas y carotenos, tratando directamente la materia prima seca de

chile picante, con aceites de cocina, los cuales son ampliamente usados, como condimentos y saborizantes en alimentación humana.

- Los capsaicinoides son principios activo de indiscutible valor medicinal para tratar dolores relacionados con artritis reumatoides, dolores musculares en general y para prevenir el crecimiento de células cancerígenas y controlar obesidad, entre otras muchas otras aplicaciones de interés medicinal.

- El Hexano es un mal solvente para extraer usando ultrasonido, porque por ser por ser un hidrocarburo estas ondas no lo afectan.).

### **Recomendaciones**

- Aprovechar el prometedor potencial terapéutico de la capsaicina para formular medicamentos debidamente dosificados..
- Estimular el cultivo de chiles picantes en el país, para explotarlo no solo como saborizante en alimentación, sino como opción parara desarrollar la industria farmacéutica en el país.
- Optimizar procesos de extracción simples , baratos y eficientes.
- Estimular investigaciones, empleando nanotecnología, con principios activos que se concentran en fuentes naturales fáciles de cultivar y de reconocido valor farmacológico como la cúrcuma y el jengibre.

### **Bibliografía**

1. Esteban Núñez Meléndez. Plantas Medicinales de Costa Rica y su Folclore. Editorial Universidad de Costa Rica. Segunda edición. 1978,p.243-244.Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. P. 347-49.
2. Juan Tomás Roig. Plantas Medicinales Aromáticas do venenosas de Cuba. Editorial Científico-Técnica. La habana-Cuba. 1980. Pags. 122-124

3. Bernard Weniger y Lionel Robineau. 1988. Elementos para una Farmacopea Caribeña. Seminario Tramil 3,

4. Jean Bruneton. Elementos de Fitoquímca y de Farmacognosia. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. P. 347-49

5. Joanne Barnes, Linda A. Anderson y J, David Phillipson. Plantas Medicinales. Primera edición. Pharma editores, S.L Barcelona, España. 2005. Pag 400-402

6. *Syeda Nishat Fathima et al.*A Systematic Review on Phytochemical and Pharmacological Activities of *Capsicum annum* . *Ijppr.Human,Journal.* 2015; Vol. 4 (3): 51-68.

7. Maoka T, Mochida K, Kozuka M, Ito Y, Fujiwara Y, Hashimoto K, Enjo F, Ogata M, Nobukuni Y, Tokuda H, Nishino H. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annum* L. *CancerLett.* 2001 Oct 30;172(2):103-9.

8. Yi-Ching Lo, Yuan-Chieh Yang, I-Chen Wu, Fu-Chen Kuo, Chi-Ming Liu, Hao-Wei Wang, Chao-Hung Kuo, Jeng-Yi Wu, Deng-Chyang Wu, "Capsaicin-induced cell death in a human gastric adenocarcinoma cell line", *World Journal of Gastroenterology*, 2005; 11(40):6254-6257.

9. Mori A, Lehmann S, O'Kelly J, Kumagai T, Desmond TC, Pervan M, McBride WH, Kizaki M, Koeffler HP. Capsaicin, a Component of Red Peppers, Inhibits the Growth of Androgen-Independent, p53 Mutant Prostate Cancer Cells. *Cancer Research.* 2006; 66:3222-3229.

10. Ito K, Nakazato T, Yamato K, Miyakawa Y, Yamada T, Hozumi N, Segawa K, Ikeda Y, Kizaki M. Inductionof apoptosis in leukemic cells by homovanillic acid derivative, capsaicin, through oxidative stress: implication of phosphorylation of p53 at Ser-15 residue by reactive oxygen species. *Cancer Res.* 2004 Feb 1;64(3):1071-8.

11. Menéndez L, Lastra A, Hidalgo A, Baamonde A. The analgesic effect induced by capsaicin is enhanced in inflammatory states. *Life Sciences*. 2004; 74
12. Deal CL, Schnitzer TJ, Lipstein E, Seibold JR, Stevens RM, Levy MD, Albert D, Renold F. Treatment of arthritis with topical capsaicin: a double-blind trial. *Clinical Therapeutics*. 1991; 13(3):383-395.
13. Marks DR, Rapoport A, Padla D, Weeks R, Rosum R, Sheftell, F, Arrowsmith F. A double-blind placebo-controlled trial of intranasal capsaicin for cluster headache. *Cephalalgia*. 1993; 13(2):114-116
14. Berger A, Henderson M, Nadoolman W, Duffy V, Cooper D, Saberski L, Bartoshuk L. Oral capsaicin provides temporary relief for oral mucositis pain secondary to chemotherapy/radiation therapy. *Journal of Pain and Symptom Management*. 1996; 10(3): 243-248
15. Jung HJ, Kim Y, Lee HB, Kwon HJ. Antiangiogenic activity of the lipophilic antimicrobial peptides from an endophytic bacterial strain isolated from red pepper leaf. *Mol Cells*. 2015 Mar;38(3):273-8
16. Bernstein JE, Parish LC, Rapaport M, Rosenbaum MM, Roenigk Jr HH. Effects of topically applied capsaicin on moderate and severe psoriasis vulgaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1986; 15(3):504-507
17. Yosipovitch G, Mengesha Y, Facliaru D, M David. Topical capsaicin for the treatment of acute lipodermatosclerosis and lobular panniculitis. *Journal of Dermatological Treatment*. 2005; 16(3):178-180.
18. Monsereenusorn Y. Effect of *Capsicum annuum* on Blood Glucose Level. *Pharmaceutical Biology*. 1980; 8(1):1-7.
19. Kwon MJ, Song YS, Choi MS, Song YO. Red pepper attenuates cholesteryl ester transfer protein activity and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Clinica Chimica Acta*. 2003; 332(1-2):37-44.
20. Takashi K, Akiko I, Toshihiro Y. Effect of red pepper *Capsicum annuum* var. conoides and garlic *Allium sativum* on plasma lipid levels and cecal microflora in mice fed beef tallow. *Food and Chemical Toxicology*. 2004; 42(10):1695-1700.
21. Leung FW. Capsaicin as an anti-obesity drug. *Prog Drug Res*. 2014; 68:171-179.
22. Takano F, Yamaguchi M, Takada S, Shoda S, Yahagi N, Takahashi T, Ohta T. *Capsicum* ethanol extracts and capsaicin enhance interleukin-2 and interferon-gamma production in cultured murine Peyer's patch cells ex vivo. *Life Sci*. 2007 Apr 3;80(17):1553-63.
23. Stjärne P, Rinder J, Hedén-Blomquist E, Cardell LO, Lundberg J, Zetterström O, Anggård A. Capsaicin desensitization of the nasal mucosa reduces symptoms upon allergen challenge in patients with allergic rhinitis. *Acta Otolaryngol*. 1998 Mar;118(2):235-9.