ARTÍCULO ORIGINAL

Contenidos de aceite y de los ácidos láurico y mirístico en frutos maduros de *Roystonea regia* colectados durante dos años

Oily contents and the lauric and myristic acids in mature fruits of *Roystonea regia* harvested for two year

Eduardo A. Rodríguez Leyes^I, Víctor L. González Canavaciolo^{II}, David Marrero Delange^{III}, Yuliamny Adames Fajardo^{IV} y Roxana Vicente Murillo^V

^IMáster en Química Analítica. Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Investigador Agregado. Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II}Doctor en Ciencias Farmacéuticas. Licenciado en Radioquímica. Investigador Auxiliar. Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ciudad de La Habana, Cuba.

III Doctor en Ciencias Farmacéuticas. Licenciado en Química. Investigador Auxiliar. Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{IV}Técnico Medio en Farmacia Industrial. Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ciudad de La Habana, Cuba.

^VTécnico Medio en Química Industrial. Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: el D004, un ingrediente activo promisorio en el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna, se obtiene a partir del aceite del fruto de *Roystonea regia* (Kunth) O.F. Cook. Está compuesto por una mezcla de ácidos grasos libres que incluye los ácidos láurico y mirístico, ambos de gran interés por sus efectos farmacológicos.

OBJETIVO: determinar la posible influencia de la época de colecta sobre el contenido de aceite y la concentración de los ácidos láurico y mirístico de los frutos de *R. regia*.

MÉTODOS: se colectaron cada mes, durante 2 años, frutos maduros de *R. regia* en una población seleccionada. En las muestras secas y molidas se determinó el

contenido de aceite gravimétricamente y el de ácidos grasos por cromatografía de gases.

RESULTADOS: se encontraron diferencias estadísticas significativas en los contenidos de aceite y de los ácidos láurico y mirístico; no obstante, los contenidos determinados en todos los casos se mantuvieron dentro de las especificaciones calidad establecidas para el material vegetal.

CONCLUSIONES: el material vegetal colectado durante todo el año puede ser empleado en la obtención del aceite de *R. regia*, materia prima empleada en la producción de D004.

Palabras clave: aceite, ácidos láurico y mirístico, época de colecta, frutos de *Roystonea regia*.

ABSTRACT

INTRODUCTION: D004, an promissory active ingredient in treatment and prevention of begnin prostatic hyperplasia, is obtained from the fruit oil of *Roystonea regia* (Kunth) O.F. Cook. It is composed by a mixture of free fatty acids including lauric and myristic acids, both very important by their pharmacological effects.

OBJECTIVE: to determine the potential influence of harvest season on the oily content and the concentration of lauric and myristic acids from *R. regia* fruits. **METHODS**: each month for two years, it was possible to collect mature fruits from *R. regia* in a selected group. In dry and milled samples it was determined the oily content in a gravimetric way and that of fatty acids by gas chromatography. **RESULTS**: there were differences statistically significant in oily contents and of lauric and myristic acids; however, the contents determined in all the cases remained within the quality specifications established for the plant material. **CONCLUSIONS**: the plant material collected for all the year may be used in obtaining of *R. regia* oil, raw material used in the production of D004.

Key words: oil, lauric and myristic acids, harvest season, *Roystonea regia* fruits.

INTRODUCCIÓN

A partir del aceite del fruto de *Roystonea regia* (Kunth) O.F. Cook se obtiene el D004, ingrediente activo promisorio en el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna. 1,2 El D004 está compuesto por una mezcla de ácidos grasos (AG) libres, entre los que se encuentran los ácidos láurico y mirístico, compuestos cuyos efectos inhibitorios sobre la enzima 5α -reductasa han sido demostrados, 3,4 que es uno de los mecanismos claves para inhibir la progresión de la hiperplasia prostática benigna. 4

Teniendo en cuenta lo anterior, en la presente investigación sus autores se propusieron determinar la posible influencia de la época de colecta de los frutos de *R. regia* sobre su contenido de aceite y acerca de la concentración en este de los ácidos láurico y mirístico.

MÉTODOS

Se colectaron frutos de *R. regia* de una población situada en el municipio Playa, Ciudad de La Habana, con más de 70 ejemplares adultos. El muestreo se realizó mensualmente durante 2 años, siempre el mismo día del mes, y consistió en tomar aproximadamente 1 kg de frutos maduros (coloración rojo oscuro a violáceo) de más de 15 palmas.

Estos frutos se secaron a temperatura ambiente durante 15 d, protegidos de la exposición directa a los rayos solares, y luego se trituraron en un molino de acero inoxidable con una malla de 2,36 mm de luz. Una muestra del material vegetal seco, molido y debidamente homogeneizado (25 g) se extrajo de modo exhaustivo (6 h) con hexano (500 mL) en un equipo de extracción Söxhlet. El extracto obtenido se secó al vacío a 60 °C hasta eliminar por completo el hexano. Se determinó el contenido de aceite (n= 3) por gravimetría y su composición de AG por cromatografía de gases.⁵

Los resultados se sometieron a un ANOVA (p=0,05) para buscar diferencias significativas y, posteriormente, a la prueba de Tukey HSD (p=0,05) para conocer entre cuales se encontraban las diferencias detectadas. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete de programas STATISTICA 5.0 para Windows.

RESULTADOS

Los contenidos de aceite obtenidos a partir de frutos de *R. regia* colectados mensualmente durante 2 años se muestran en la <u>figura 1</u>, donde se puede observar que ocurrieron variaciones apreciables en este parámetro, el cual presentó un máximo en el período de abril a octubre de 2005.

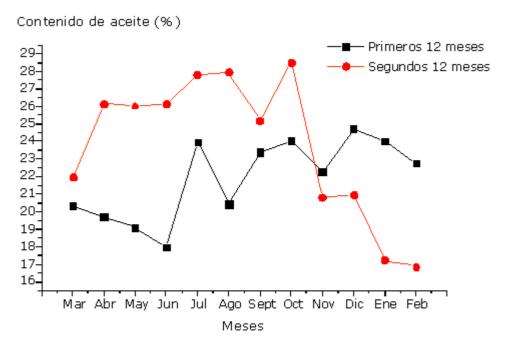


Fig. 1. Contenido de aceite durante 24 meses (desde marzo de 2004 hasta marzo de 2006).

En los primeros 12 meses del estudio, los menores contenidos de aceite se obtuvieron en el período de marzo a junio de 2004 y en agosto de ese año, mientras que los mayores se obtuvieron en julio de 2004 y de septiembre de 2004 a febrero de 2005. En los siguientes 12 meses, sin embargo, los menores contenidos se encontraron en marzo de 2005, y en el período de noviembre de 2005 a febrero de 2006, mientras que los mayores se encontraron entre abril y octubre de 2005. Los únicos meses en los que coincidieron altos contenidos de aceite en ambos años fueron julio, septiembre y octubre.

La comparación de estos datos mediante un ANOVA mostró la existencia de diferencias significativas entre los contenidos promedios de los 2 años (21,9 y 23,8 %), entre los promedios de los diferentes meses, así como al combinar ambas variables, meses y años.

Mediante la prueba de Tukey se determinó además que para un mismo mes el contenido de aceite varió en general de un año a otro, porque solo no hubo variación en marzo, septiembre y noviembre. Las diferencias encontradas entre los contenidos promedio obtenidos para cada mes se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Contenidos promedios de aceite en frutos de *R. regia* colectados mensualmente durante 2 años

Mes	Contenido de aceite (% m/m)	
Enero	20,6 ³	
Febrero	19,8 ª	
Marzo	21,1 ª	
Abril	22,9 b	
Mayo	22,5 ^b	
Junio	22,0 b	
Julio	25,8 ^c	
Agosto	24,1 ^d	
Septiembre	24,3 ^d	
Octubre	26,2 e	
Noviembre	21,5 b	
Diciembre	22,8 ^b	

Contenido de aceite: $a \neq b, c, d, e$; $b \neq c, d, e$; c = d, e; $d \neq e$.

Como se observa, los menores contenidos de aceite se obtuvieron entre enero y marzo, y los mayores entre julio y octubre. Las mayores diferencias se encontraron entre el contenido promedio obtenido en febrero, que fue el menor, y los contenidos promedio obtenidos en julio y octubre, que fueron los mayores.

Aunque durante el estudio se cuantificaron todos los AG que componen el aceite, solo se realizó el análisis estadístico de los contenidos de los ácidos laúrico y mirístico, teniendo en cuenta la importancia farmacológica de estos dos compuestos. En las figuras 2 y 3 se puede apreciar que los contenidos de estos ácidos fueron en general inferiores en los primeros 12 meses, exceptuando los meses de agosto, diciembre, enero y febrero, para el láurico, así como agosto y enero para el mirístico.

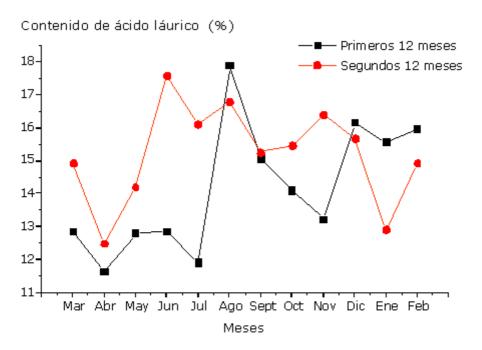


Fig. 2. Contenido de ácido láurico durante 24 meses (desde marzo de 2004 hasta marzo de 2006).

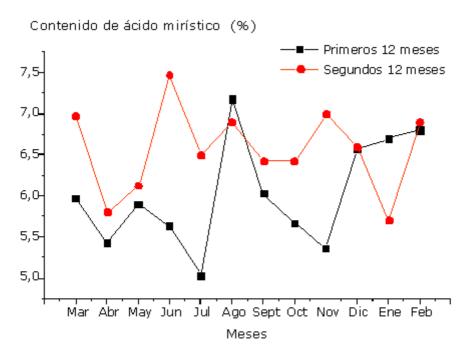


Fig. 3. Contenido de ácido mirístico durante 24 meses (desde marzo de 2004 hasta marzo de 2006).

Al aplicar el ANOVA se encontraron diferencias significativas entre los contenidos promedios de cada ácido en los 2 años: 14,1 y 15,2 % el láurico, y 6,0 y 6,5 % el mirístico. Además, se encontraron diferencias significativas para ambos ácidos

entre los contenidos promedios obtenidos en los diferentes meses, también al combinar las variables meses y años.

Al aplicar la prueba de Tukey se determinó que había diferencias significativas entre la mayoría de los contenidos de ambos ácidos obtenidos en los diferentes meses. Se encontró además que incluso para un mismo mes los contenidos promedios de ambos ácidos en general variaron de un año a otro, con la excepción de septiembre para el láurico, y de febrero y diciembre para el mirístico. Como se aprecia en la tabla 2, donde se presentan los promedios obtenidos para cada mes, los mayores contenidos de ambos ácidos se alcanzaron en agosto, los cuales se diferencian significativamente de los menores contenidos, obtenidos en abril.

Mes	ácido láurico	ácido mirístico
Enero	14,2 ª	6,2 ª
Febrero	15,4 ^b	6,8 ^e
Marzo	13,9 °	6,4 ^b
Abril	12,0 ^f	5,6 f
Mayo	13,5 9	6,0 °
Junio	15,2 ^{bd}	6,5 ^{bd}
Julio	14,0 ^{ac}	5,7 9
Agosto	17,3 ^h	7,0 h
Septiembre	15,1 ^d	6,2 ª

Tabla 2. Contenidos promedios de los ácidos láurico y mirístico en frutos de *R. regia* colectados mensualmente durante 2 años

Para el láurico: a = ac, b = bd, c = ac, $a \ne c$, bd = d, $b \ne d$, el resto difieren entre sí.

Para el mirístico: bd = b y d, $b \ne d$, el resto difieren entre sí.

14,7 e

14.8 e

15,9 ⁱ

6,0 °

6,1 a

6,5 d

Octubre

Noviembre

Diciembre

DISCUSIÓN

El hecho de que los mayores contenidos de aceite se encontraran en el período de marzo a octubre de 2005, coincide con que en esa etapa se reportaron en general los mayores volúmenes de precipitaciones (Datos de Archivo del Instituto de Meteorología, 2004 - 2006). Por otra parte, los únicos meses en los que coincidieron altos contenidos de aceite en ambos años fueron los comprendidos entre julio y octubre, resultado que coincide con que esta es la época del año donde se observa el mayor grado de fructificación y maduración de los frutos de *R. regia*.⁶

A pesar de las diferencias estadísticas encontradas entre los contenidos de aceite obtenidos, estos quedan comprendidos en el intervalo previamente determinado al caracterizar el material vegetal empleado en la obtención del D004 (18,9-30,2 %). Se puede afirmar, por lo tanto, que las variaciones observadas no afectan el proceso productivo ni la calidad del D004, por lo que atendiendo a este parámetro la colecta de los frutos puede ser realizada durante todo el año.

Al igual que se analizó anteriormente para el caso del aceite, se pudiera inferir que el mayor contenido de los ácidos láurico y mirístico en el segundo año se relaciona con el mayor volumen de las precipitaciones en ese período. A pesar de las diferencias anteriormente comentadas entre los contenidos de ambos ácidos, estos presentaron patrones de comportamiento similares durante todo el estudio, lo cual era de esperarse teniendo en cuenta que son compuestos homólogos y, por tanto, deben estar involucrados en la misma ruta metabólica.

Los intervalos de concentración hallados para estos ácidos (el láurico de 11,6 a 17,9 % y el mirístico de 5,0 a 7,47 %), permiten garantizar las concentraciones requeridas de ambos ácidos en el D004 obtenido a partir de estos aceites,⁸ aun teniendo en cuenta el ligero aumento que pueden tener sus contenidos al ser producido el D004, por la eliminación de compuestos polares como la glicerina. Por lo tanto, atendiendo a este parámetro, también se puede plantear que la colecta de los frutos puede ser realizada en todas las épocas del año.

En general, las variaciones observadas en los contenidos de estos AG no resultan significativas si se les compara con las usualmente observadas en la mayoría de las especies para los metabolitos secundarios, cuyos contenidos en algunos casos casi llegan a desaparecer en algunas épocas del año. ^{9,10} La poca variación observada para estos AG puede deberse a que forman parte de los glicéridos, componentes mayoritarios del aceite y metabolitos primarios de la planta. Estos glicéridos constituyen las principales reservas energéticas del fruto, ¹¹ el cual aparece durante todo el año. ⁶ Lo anterior explica el hecho de que la época de colecta no tenga un peso predominante sobre el contenido de estos AG, ni sobre el contenido de aceite.

En conclusión, los estudios realizados permitieron conocer el comportamiento, durante 2 años, de la fracción lipídica obtenida a partir de una población seleccionada de la especie *R. regia*, tanto en su contenido de aceite como en la concentración de los ácidos con mayor interés farmacológico. Las variaciones observadas en ambos parámetros no impiden que se obtengan buenos rendimientos de obtención del aceite, así como contenidos adecuados de los ácidos láurico y mirístico en todos los meses. El material vegetal colectado durante todo el año, por tanto, puede ser empleado en la obtención del aceite de *R. regia*, materia prima empleada en la producción de D004.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Arruzazabala ML, Carbajal D, Más R, Molina V, González V, Rodríguez E. Effect of D-004, a lipid extract from Cuban Royal Palm (*Roystonea regia*) fruits, on prostate hyperplasia induced with testosterone on intact and castrated rodents. Drugs Exp Clin Res. 2004;30(5-6):227-33.
- 2. Arruzazabala ML, Más R, Molina V, Noa M, Carbajal D, Mendoza N. Effect of D-004, a lipid extract from the Cuban royal palm fruit on atypical prostate hyperplasia induced by phenylephrine in rats. Drugs R &D. 2006;7:233-41.
- 3. Arruzazabala ML, Molina V, Más R, Carbajal D, Marrero D, González V, et al. Effects of coconut oil on testosterone-induced prostatic hyperplasia in Sprague Dawley rats. J Pharm Pharmacol. 2007;59:1-5.
- 4. Cristoni A, Di Pierro F, Bombardelli E. Botanical derivatives for the prostate. Fitoterapia. 2000;71:S21-S28.

- 5. Rodríguez E, Marrero D, González V, Sierra R, Adames Y. Validación de un método analítico por cromatografía de gases para la determinación de los ácidos grasos que componen el D-004 ingrediente activo. Revista CENIC de Ciencias Químicas. 2009;40(1):17-22.
- 6. Ruebens C. Industrialización del palmiche en Cuba. Industria Alimentaria. 1968;1:8-25.
- 7. Rodríguez E, González V, Adames Y. Caracterización del material vegetal empleado en la obtención del ingrediente activo D004. Rev Cubana Plant Med. 2007;12(3). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol12 3 07/pla07307.html
- 8. Laguna AM, Rodríguez EA, Más RM, Carbajal D, Arruzazabala ML, Molina V, et al, inventores; concedida a LABORATORIOS DALMER. Extracto obtenido a partir de frutos de *Roystonea regia* utilizado contra la hiperplasia prostática y la prostatitis. Patente cubana CU 23256, noviembre de 2007.
- 9. Cutler SJ, Cutler HG. Biologically active natural products: Pharmaceutical. Washington, D.C.: CRC Press; 2000.
- 10. Khare CP. Indian Medicinal Plants. Berlin/Heidelberg, Germany: Sringer-Velag; 2007.
- 11. Uhl N, Dransfield J. Genera Palmarum: A classification of palms based on the work of H.E. Moore Jr. Lawrence. Kansas: Allen Press; 1987.

Recibido: 17 de febrero de 2010. Aprobado 25 de abril de 2010.

MSc. Eduardo A. Rodríguez Leyes. Centro de Productos Naturales del Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ave. 25 y 158, Cubanacán, Playa, AP: 6414. Ciudad de La Habana, Cuba. Teléfs.: 271 4225 y 271 4238. Correo electrónico: eduardo.rodriguez@cnic.edu.cu; victor.gonzalez@cnic.edu.cu