UNIVERSIDAD NACIONAL
"SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO"

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS

INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN:

"Determinación de los principios antibacterianos de *Peperomia hartwegiana* Miquel (Congona redonda)"

Percy Olivera Gonzales
Carmen Tamariz Angeles
Delia Infantas de Fukusaki
Maximiliano Choy Wong
Pablo Cabello Chávez

HUARAZ- PERÚ

"Determinación de los principios antibacterianos de *Peperomia hartwegiana* Miquel (Congona redonda)".

Percy Olivera Gonzales[a], Carmen Tamariz Angeles[a*], Delia Infantas de Fukusaki[b†], Maximiliano Choy Wong y Pablo Cabello Chávez[a]

[a] Lab. de Biología, Fac. Ciencias-UNASAM, [b] Lab. de Fitoquímica, Dpto. Química, Fac. Ciencias-UNALM. [*]e-mail: crtamariz@lamolina.edu.pe

RESUMEN

La finalidad de este trabajo fue conocer que tipos de compuestos son los responsables de la actividad antibacteriana de *P. hartwegiana* Miquel, una planta del ande peruano. Esta planta es usada en medicina tradicional y es llamada "congona redonda"

Los extractos fueron preparados a temperatura ambiental con eter de petróleo y metanol. Este último fue fracionado con cloroformo y cloroformo-etanol (3:2).

Según las evaluaciones fitoquímicas esta especie contiene flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos y/o esteroides. La actividad antibacteriana fue evaluada mediante el método de dilución – estrías y usando concentraciones de 500 y 1000 µg/mL. Las bacterias usadas fueron *E..coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeuriginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* 49444, y *Staphylococcus epidermidis* 12228. Se encontró que usando este método de extracción y cepas, *P. hartwegiana* Miquel no exhibe actividad antibacteriana.

Palabras Claves: *P. hartwegiana* Miquel, actividad antibacteriana, plantas medicinales andinas, fitoquímica.

ABSTRACT

The purpose of this paper was know what type of compound is involved in the the antibacterial response of *P. hartwegiana* Miquel, a plant from peruvian high andean. This plant is used as folck – medicin plant and named “congona redonda”.

The extracts were prepared at rom temperature using petroleum ether and methanol. The later extract was fractioned with cloroform, cloroform-ethanol (3:2).

According to the phytochemical assays this species contain flavonoids, phenolic compounds, triterpenoids and/or steroids. The antibacterial activity was evaluated by the dilution – streak method, and using concentrations of 500 and 1000 µg/mL of each extract. The bacteries used were *E..coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeuriginosas* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* 49444, and *Staphylococcus epidermidis* 12228. It was found that using this method of extraction and these bacteries all extracts don’t exhibet antibacterial activity.

Key word: *P. hartwegiana* Miquel, antibacterial activity, phytochemical, andean medicinal plants

I. INTRODUCCIÓN

El Perú es un país megadiverso que presenta gran variedad de plantas. Entre estas plantas se encuentran aquellas que tienen potencial medicinal que es una de las fuentes de las plantas medicinales es la sierra; así mismo estas plantas en las localidades altoandinas son extraídas y comercializadas en diversas formas en los mercados y en las ferias populares, también cabe resaltar que gran cantidad de estas plantas medicinales son transportadas a la capital del país para su comercialización.

En nuestra Región, específicamente en el Callejón de Huaylas se encuentra una diversidad de flora útil que puede ser utilizada por el poblador andino y por los pobladores de las ciudades como plantas medicinales; debido a esto se reporta el uso medicinal por algunos investigadores, tal es el caso de Cerrate (1982) que reporta el uso de varias especies medicinales altoandinas del Callejón de Huaylas que son usadas para curar heridas, Cox (1992) hace un estudio de 27 plantas altoandinas con potencial medicinal promisorio de la Provincia de Huaylas (en el Callejón de Huaylas), Falcón (1988) reporta el uso de 92 plantas medicinales de las cuales aproximádamente el 30% de ellas se encuentran en la zona altoandina de Huaraz.

Los estudios fitoquímicos y farmacológicos de las plantas medicinales altoandinas se realizan dentro y fuera del país y es de algunas especies de nuestra flora, generalmente las más conocidas y difundidas. Es así que Rossi (1988) reporta estudios de efecto antimicrobiano de ocho especies medicinales del Callejón de Huaylas, Tamariz (1999) reporta la actividad antibacteriana, citotóxica y la evaluación fitoquímica de 13 especies del Parque Nacional Huascarán (Callejón de Huaylas), entre otros. Dado a estos antecedentes todavía, en nuestra localidad se encuentran un gran número de plantas

medicinales con potencial promisorio que debido a su poca difusión o conocimiento de ellas, todavía no han sido estudiadas en sus aspectos farmacológicos y fitoquímicos.

El género *Peperomia* se comercializa en las ferias populares de la ciudad de Huaraz los días lunes y jueves. Las especies pertenecientes a este género más frecuentes son *P. galioides* y *P. rotundata* (observación personal de los autores) y son utilizadas para sanar y aliviar enfermedades en las cuales existen procesos infecciosos; según Cerrate (1982) y Mostacero y cols (2002) estas plantas también se utilizan para curar heridas, problemas de otitis, ginvigitis, afecciones urinarias, del riñón, entre otras.

De acuerdo a lo mencionado, la información bibliográfica respecto a los estudios farmacológicos y fitoquímicos la única especie que presenta reportes es *P. galioides*. Es así que Rossi (1988) menciona que contiene terpenoides, esteroides y/o hidrocarburos aromáticos responsables de la actividad antibacteriana; Mahiou et al. (1995) han aislado además la hidropiperona que exhibe actividad antipasítica sobre tres especies de *Leishmania* y *Tryponosoma cruzy*; Villegas y cols (1997) reportan que posee actividad cicatrizante, no incrementa la fragilidad capilar en ratas y no es toxica en ratones; así mismo en pruebas biodirigidas se han aislado principios involucrados en la cura de heridas (Villegas y cols, 2001).

Por otro lado, varios extractos metanólicos de las especies del género *Peperomia* han sido estudiadas en su efecto antibacteriano, entre las cuales *P. microphyla* y *P. hartwegiana* y *P. gallioides* reportan las actividades más promisorias sobre gram positivas y negativas, teniendo en varios casos concentraciones mínimas inhibitorios menores a 0,1mg/mL (Tamariz et al. 2004). Dichos resultados demuestran la potente actividad de éstas especies, sin embargo los principios involucrados en tal actividad aún no son conocidos. Por lo tanto el siguiente trabajo tienen como fin establecer y dilucidar cuales son los tipos de principios activos antibacterianos de dichas especies debido a la

predominante presencia de éstas en el uso y la comercialización por la población andina, y finalmente permitan comparar y rescatar los verdaderos valores medicinales y económicos de dichas especies.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases Teóricas

Selección del material vegetal

Para la selección de las plantas se emplean tres métodos: al azar, por familias botánicas y según la base etnobotánica (Estella, 1995; Gary, 1995).

La metodología del azar, consiste en colectar cualquier planta, sus ventajas son que las muestras tienen rangos diversos y se puede hacer una rápida colecta de un gran número de muestras; su desventaja es la baja probabilidad que las especies presenten actividad biológica o farmacológica. Generalmente es usado cuando la investigación cuenta con altos presupuestos y facilidades para evaluar un gran número de muestras. Este método ha demostrado que no sólo las plantas de uso tradicional contienen compuestos químicos con actividad fisiológica (Gary, 1995).

Otra manera es la recolección de especies restringidas a familias botánicas reconocidas por su riqueza en compuestos activos, para ésto se usan los conocimientos quimiotaxonómicos (Estella, 1995; Gary, 1995).

La metodología etnofarmacológica (Gary, 1995) o etnobotánica (Brantner & Grein, 1994; Cáceres, 1996; Lock, 1994; Villegas et al. 1997), selecciona las plantas que son usadas en medicina tradicional. Esta técnica es la más eficiente, segura y comprueba la efectividad de la planta medicina (Gary,

1995). Adicionalmente, se ha encontrado que hay una significativa concordancia entre el método de selección etnofarmacológico y químico (Gary, 1995).

Preparación de extractos

La elección del tipo de extracto a preparar dependerá de los objetivos de la investigación (Cáceres, 1996). Entre los diversos solventes, podemos citar los extractos acuoso (imitan el uso popular) e hidroalcohólico 50% (para estudios preliminares y porque las sustancias con actividad antimicrobiana pueden ser extraídas con más eficiencia). Así mismo se puede emplear una secuencia de varios solventes de diferentes polaridades (Cáceres, 1996; Lock, 1998).

La preparación de la tintura se puede hacer por maceración o percolación (lixiviación) (Cáceres, 1996; Martin et al. 1965), esta última es la más usada en los trabajos de investigación y la más ventajosa porque ahorra tiempo, trabajo y permite obtener una tintura de mayor concentración (Martin et al., 1965). Sin embargo, es necesario el control de varios parámetros: tamaño de partícula, empacado, velocidad de flujo del solvente, ya que sin estas consideraciones, se puede obtener una tintura poco representativa y deficiente[48]. En contraparte, la maceración es una extracción segura, a pesar de ser laboriosa y larga, provee una tintura de concentración uniforme y representativa (Lock, 1998; Martin et al. 1965).

La maceración se debe hacer con 10 - 20% del material vegetal, en un frasco hermético y oscuro (Cáceres, 1996), por 2 - 14 días, a 15 - 20°C (Martin et al. 1965) y con agitación diaria (Cáceres, 1996; Martin et al. 1965). Es

necesario precisar, que en los últimos años se ha enfatizado hacer la extracción a temperatura ambiental para evitar descomposición de metabolitos termolábiles (Lock, 1998).

Pruebas biológicas y fitoquímicas

La investigación fitoquímica en nuestros días es muy cara, por lo que se recomienda una evaluación inicial de pequeñas cantidades de material vegetal para averiguar si poseen actividad biológica o valor económico (Gary, 1995). El estudio preliminar junto con el aislamiento biodirigido y los ensayos farmacológicos, permiten al investigador aislar e identificar sólo los principios activos.

Pruebas fitoquímicas

El "screening" fitoquímico, llamado también marcha fitoquímica preliminar o tamizado fitoquímico (Lock, 1998), es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica (Gary, 1995; Lock, 1998) y permite orientar las extracciones y/o fraccionamientos de los extractos eligiendo los grupos de metabolitos encontrados de mayor interés (Lock, 1998).

Para el análisis fitoquímico preliminar se usan técnicas macro o micrométricas, en tubo o en capa fina (Ríos et al. Cit. Por Cáceres, 1996). Debe considerarse que hasta las técnicas más modernas tienen posibilidades de resultados erróneos, debido a la presencia de sustancias interferentes que pueden dar lugar a falsas interpretaciones (Lock, 1998).

Lock, 1 994, propone varios esquemas (sencillos y complejos) para éste fin, basados en la extracción y fraccionamiento de los metabolitos secundarios

mediante solventes apropiados y la aplicación apropiada de las pruebas de coloración (técnica en tubo).

Para el "screening" fitoquímico por cromatografía en capa fina (CCD), se puede usar metanol o diclorometano para extracciones estándar; y otros solventes para extracciones específicas. Así mismo hay una serie de sistemas de eluyentes cromatográficos para cada grupo de compuestos que se desee evaluar (Lock, 1998).

Finalmente, la presencia o ausencia de compuestos químicos no nos permite concluir que la planta sea activa, para ello es necesario establecer una serie de bioensayos, evaluaciones en animales y ensayos clínicos (Gary, 1995).

Pruebas biológicas

Las técnicas de comprobación tienen por finalidad verificar la actividad biológica de una planta de interés, para continuar con los estudios fitoquímicos y farmacológicos. Se pueden considerar varios tipos y grados: pretamizaje, tamizaje, ensayos de toxicidad y ensayos clínicos (Cáceres, 1996).

El **pretamizaje,** corresponde a bioensayos generalmente *in vitro,* de bajo costo, sencillos (no involucra animales), rápidos, reproducibles y permiten evaluar numerosas muestras. Es aplicado a extractos, fracciones y sustancias puras. Proporciona una idea de la bioactividad de las muestras y permite el aislamiento biodirigido de los principios activos. Entre estos bioensayos tenemos: pruebas antibacterianas, antifúngicas, amebicidas, antimaláricas, tripanocidas, antivirales, inhibición de tumorogénesis, citostáticas, citotóxicas, etc (Cáceres, 1996).

Pruebas antibacterianas

Durante los últimos años las infecciones locales se han incrementado, debido a que los microorganismos se han vuelto resistentes a los antibióticos (Brantner & Grein, 1994). Dado que las plantas poseen mecanismos de defensa (principios activos) contra hongos y bacterias (Tschesche, 1971), actualmente se ha dado más énfasis a su estudio como fuentes de nuevos agentes antibacterianos.

La actividad antimicrobiana se usa para evaluar la actividad inhibitoria de una planta o sus derivados, el potencial de un compuesto, la susceptibilidad de un microorganismo a concentraciones conocidas de una droga vegetal, el espectro de microorganismos inhibidos y la concentración de la droga en el organismo humano (Cáceres, 1996).

La medición de esta actividad puede hacerse por los métodos de difusión y/o de dilución (Cáceres, 1996; Thornsberry, 1991). **La metodología de difusión** ha sido y es la de mayor uso, se encuentra registrada en la mayoría de las farmacopeas, la "Food and Drug Administration" (FDA) y el "National Committee for Clinical Laboratory Standars" (NCCLS). Los resultados que se obtienen son cualitativos, siendo ésta su principal desventaja. Está altamente influenciada por el grado de crecimiento del microorganismo (es inaplicable para algunos de crecimiento lento y anaeróbicos), la profundidad y la concentración del agar (Thornsberry, 1991). Así es inexacto en predecir la actividad de algunos agentes antimicrobianos de difusión pobre (Cáceres, 1998; Thornsberry, 1991).

La metodología de dilución, es cuantitativa y está descrita en el NCCLS (Thornsberry, 1991). Proporciona un resultado cuantitativo directo, denominado concentración inhibitoria mínima (CIM), y descarta las influencias causadas por el grado de crecimiento del microorganismo y por las propiedades de difusión de los agentes ensayados (Cáceres, 1998; Thornsberry, 1991). Se reporta como CIM a la concentración mínima de la placa que inhibe el crecimiento visible; sin embargo, no es absoluto porque el valor real se encuentra entre la mínima concentración que inhibe y la siguiente en el que hay crecimiento (Sahm & Washinton, 1991). El procedimiento se lleva a cabo sobre agar o caldo. En el primero la cuantificación es por turbidimetria. Los medios de cultivo sólidos pueden ser varios: agar tripticasa-soya, agar isosensitest, agar o caldo Mueller y Hinton. Este último es el más recomendado, por ser útil para microorganismos aeróbicos y anaeróbicos(NNCLS), tener adecuada transparencia y haber sido diseñado especialmente para los análisis de agentes anitibacterianos (Sahm & Washinton, 1991).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. LUGARES DE EJECUCIÓN

La preparación del material y los ensayos experimentales se realizaron en los Laboratorios de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima y el Laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias de Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Huaraz.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Material vegetal

El material biólogico fue comprado en la feria de plantas medicinales en la cuidad de Huaraz entre los meses de mayo-junio del 2008.

La identificación botánica de las especies fue realizada por el Botánico Arturo Granda Paucar de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.2.2 Material microbiológico

Las cepas bacterianas evaluadas fueron: *E..coli* ATCC 25922, Pseudomonas aeuriginosa *faecalis* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* 49444, y *Staphylococcus epidermidis* 12228

3.3. MÉTODOS

3.3.1 Selección y preparación del material vegetal

Se separaron muestras para su identificación botánica, el resto del material (hojas y tallos) fueron secados bajo sombra y molidos para la preparación de los extractos.

Fotografía Nº 1: Plantas de *Peperomia hartwegiana* en proceso de secado

Fotografía Nº 2: Plantas de *Peperomia hartwegiana* en proceso de secado

Fotografía Nº 3: Hojas y tallos de *Peperomia hartwegiana* secos

3.3.2 Pruebas Biológicas y fitoquímicas

A. Preparación de Extractos

A partir de 1500 g material vegetal seco y molido se prepararon cinco extractos; como se muestra en la figura Nº 1 y se describe a continuación.

Extracto Etéreo (ET), se maceró el material por 15 días con éter de petróleo. Cumplido el período de maceración se filtró para descartar el residuo vegetal (marco). El extracto fue concentrado en rotavapor a una temperatura de 40ºC y llevada a sequedad a temperatura ambiental. Con el marco restante se repitió una vez más la misma operación, el extracto etéreo sede.

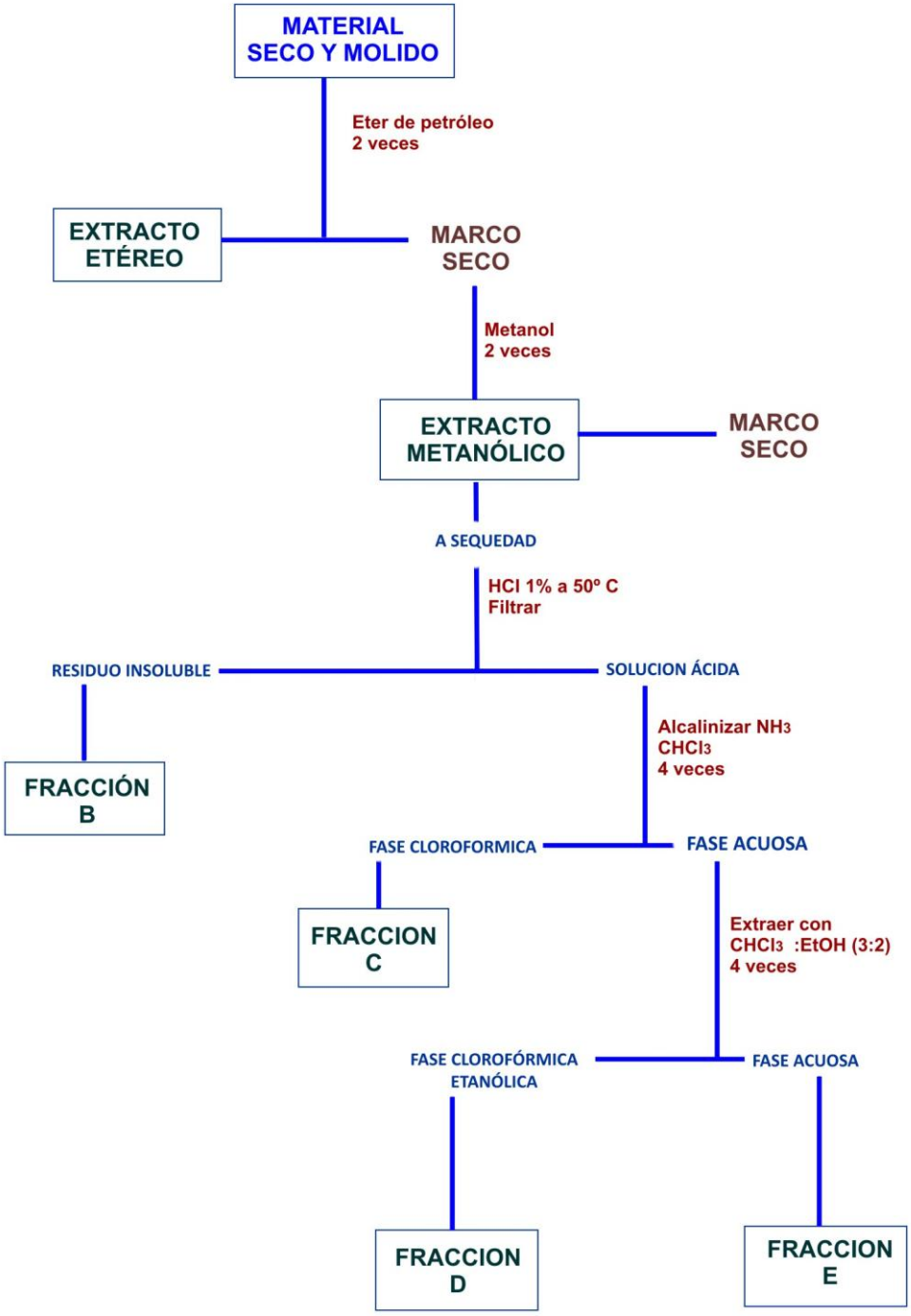
Extracto metanólico, el marco anterior fue macerado por 15 días con metanol, se retiró el extracto y se repitió la operación una segunda vez. El

extracto metanólico fue concentrado en rotavapor a 45 ºC y llevada a sequedad a temperatura ambiental. El extracto seco fue fraccionado siguiendo la metodología de marcha fitoquímica propuesta por Lock (1994) y tomado por Tamariz et al. (2004), de donde se obtuvo el extracto B, C, D y E.

B. Actividad antibacteriana

Se empleó la metodología de dilución-estrías en agar, descrita por Mitcher et al (1972). Las cepas bacterianas fueron mantenidas en agar Tripticasa Soya (TSA), bajo refrigeración a 4° C, de las cuales se prepararon cultivos jóvenes, mediante repiques por asadas en 5 mL de caldo tripticasa soya, incubados a 37°C por 24h

FIGURA N° 1: DIAGRAMA DE FLUJO DE FRACCIONAMIENTO



(Valsaraj et al, 1997). Los inóculos se prepararon diluyendo los cultivos jóvenes al 1% v/v con agua destilada estéril (Bhakuni et al, 1974; Mitcher et al, 1972).

Los extractos secos empleadas para las evaluaciones antibacterinas fueron redisueltos en una solución de Dimetil Sulfóxido (DMSO) al 10% para obtener una concentración de 50 mg/mL (Tamariz, 1999).

La evaluación sobre Agar Muller y Hinton estéril a 50 ºC, el cual se mezcló con los extractos e inmediantamente se plaqueó en placas petri estériles. Las concentraciones empleadas fueron 1000 µg/mL y 500 µg/mL de cada extracto.

La inoculación se realizó mediante estrías radiales. De la misma manera se inocularon al inicio y termino de la siembra de cada cepa dos blancos negativos para la inhibición (blanco de agua y de DMSO al 1% en placa). Se incubó a 37° C por 24h (Brantner & Grein, 1994; Mitcher et al, 1972; Sahm & Washinton, 1991; Valsaraj et al, 1997). La evaluación se realizó con cuatro repeticiones utilizando como referencia los blancos. Los calificativos fueron de: inhibición total de crecimiento (-), escaso crecimiento (+), regular crecimiento (++) e inhibición nula o buen crecimiento(+++).

C. Pruebas Fitoquímicas

Se aplicaron pruebas fitoquímicas de reconocimiento cualitativo de compuestos bioactivos de plantas usando las medologías propuestas por Lock (1994), Domínguez (1973) y Gibaja (1977) como se muestran en el Cuadro N°1.

CUADRO No. 1: REACCIONES DE COLOR

Metabolito secundario	**Prueba**	**Coloración positiva**
Compuestos fenólicos	$FeCl_3$ al 1% acuoso	Verde oscuro, azul, violeta, marrón.
Flavonoides	R. de Shinoda	Amarillo intenso, anaranjado, rojo, magenta, violeta, verde.
Quinonas	R. de Borntrager	Rojizo en la fase acuosa
Esteroides/triterpenos	R. de Liberman -Burchard	Anaranjado, rojo, verde, azul, violeta.
Cardenólidos	R. de Kedde (CCD)	Manchas rosadas y violetas.

IV. RESULTADOS

4.1 DEL MATERIAL VEGETAL

Fotografía N° 4: *Peperomia hartwegiana* Miquel

Pepomia hartwegiana Miquel es plantas epífita o saxícola de 13-25 cm de alto, de tallo decumbente, hojas verticiladas 3-5, comúnmente 4, pecíolo pubescente, láminas orbiculares u ovadas, de 0.9-1.1 (-1.6) cm de largo y 0.8-0.9 (-1.1) cm de ancho, ápice subagudo a obtuso, base redondeada, borde entero ciliolado. La

inflorescencia es en espiga terminal simple de 9-12 cm de largo, rojo vinoso. Se la encuentra en el monte ribereño sombreado como epífita o saxícola sobre farallones en lugares húmedos sombreados y fríos, de 3000 a 3800 m. Descrita en los Andes de Colombia, en el Perú ha sido colectada en Cajamarca, Amazonas y en Ancash, en la Cordillera Blanca en el Parque Nacional Huascarán (Pino, 2006)

Peperomia hartwegiana Miq. tiene los siguientes sinónimos: *P. cerastioides* Sodiro, *P. cinerea* Sodiro, *P. dolichostachya* Sodiro, *Peperomia hartwegiana* Miq. var. *minutifolia* G. Pino & Klopfenstein, *P. kunthiana* C. DC., *P. kunthiana* var. *puberula* Sodiro, *P. psilostachya* var. s*ubobovatilimba* C. DC. y P. subconcava Trel. (Brako & Zarucchi. 1993). Ha sido colectada en Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú (Briceño y Morillo, 2002). Es una planta medicinal conocida como hierba de la plata o hierba del tesoro en el Norte peruano (Bussmann & Sharon, 2006), en Huaraz la venden como "congona redonda" para curar heridas como cataplasma y el sumo como bebida para despues de las operaciones (Observación personal de los autores).

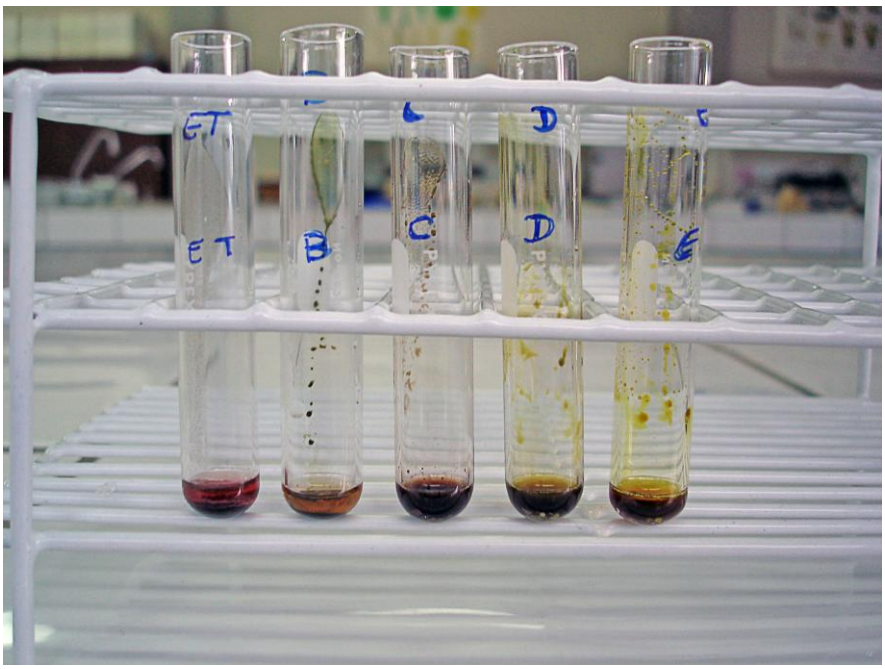
4.2 PRUEBAS FITOQUÍMICAS

El resumen de las evaluaciones fitoquímicas de los cinco extractos de *Peperomia hartwegiana* se encuentra en el siguiente cuadro:

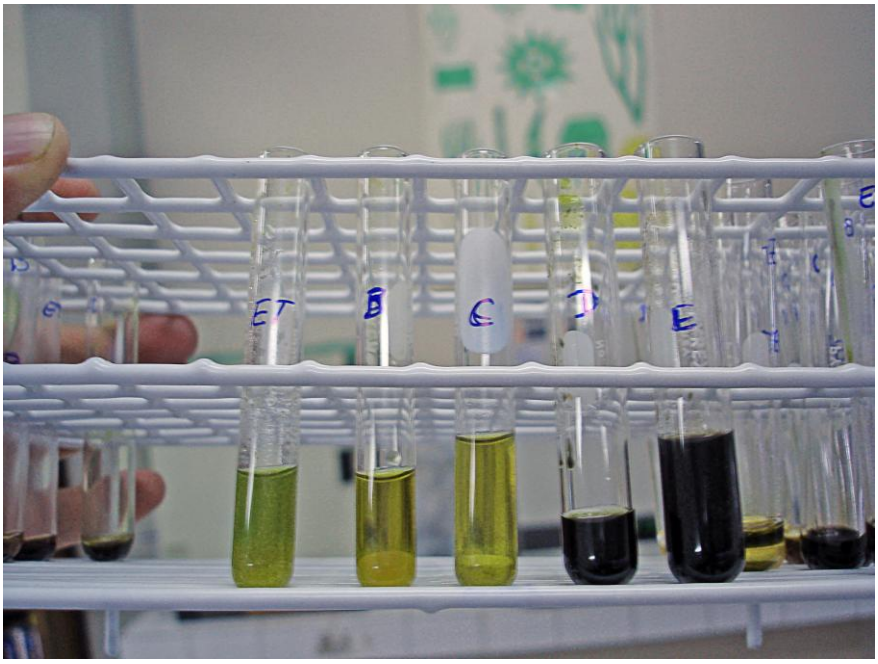
Cuadro N° 2. Resumen de la Marcha Fitoquímica.

Extracto	Compuestos fenólicos	Flavoniodes	Quinonas	Cardenólidos	Triterpenos esteroides
Etéreo	+	++ Rojo vivo	-	-	+
B	+	+ Tono verde	-	-	++
C	+	++ Rojo ladrillo	+ o -	+	+*
D	+	+ Rojo naranja	-	-	-
E	+	+ Amarillo-naranja	-	-	-

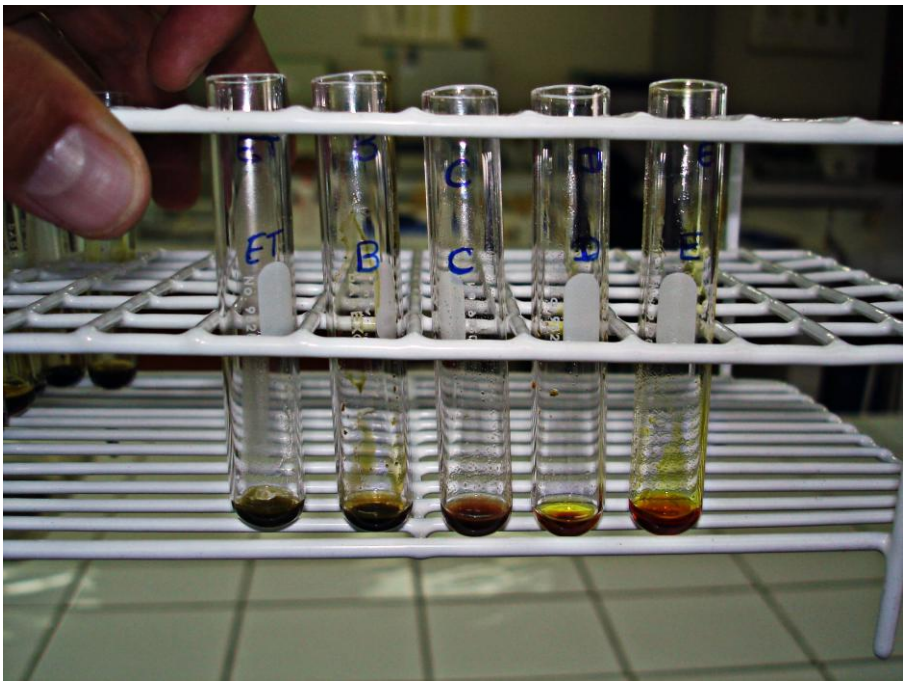
*La reacción dio una coloración rojiza, poco característico para esta prueba.



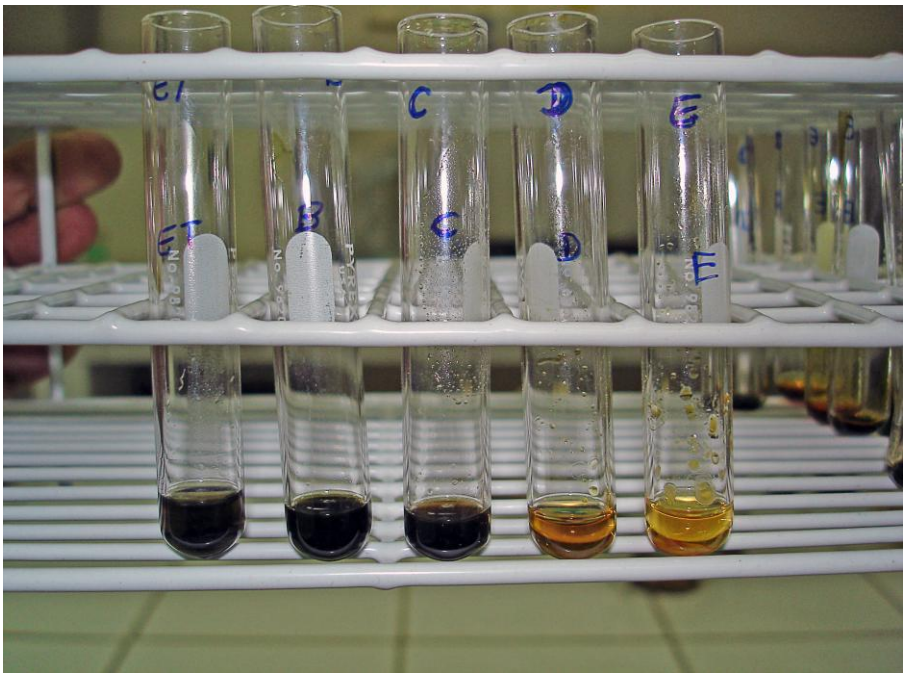
Fotografía N° 5: Resultados de la prueba en tubo con el reactivo de Shinoda (flavonoides), donde se observa las coloraciones entre anaranjado y rojo en todos extractos



Fotografía N° 6: Resultados de la prueba en tubo con el reactivo de $FeCl_3$(compuestos fenólicos), obsérvese las coloraciones de verde a azul, en todos los extractos.



Fotografía N° 7: Resultados de la prueba en tubo con el reactivo de Kedde (Cardenólidos), la coloración púrpura sólo en el extracto C.



Fotografía N° 8: Resultados de la prueba en tubo con el reactivo de Liebermann-Burchard (triterpenos y esteroides), las coloraciones características de azul verdoso en ET y B, y rojizo en C.

Fotografía N° 9: Resultados de la prueba en tubo con el reactivo de Bornträger (Quinonas), obsérvese el tono mas o menos rojizo en B.

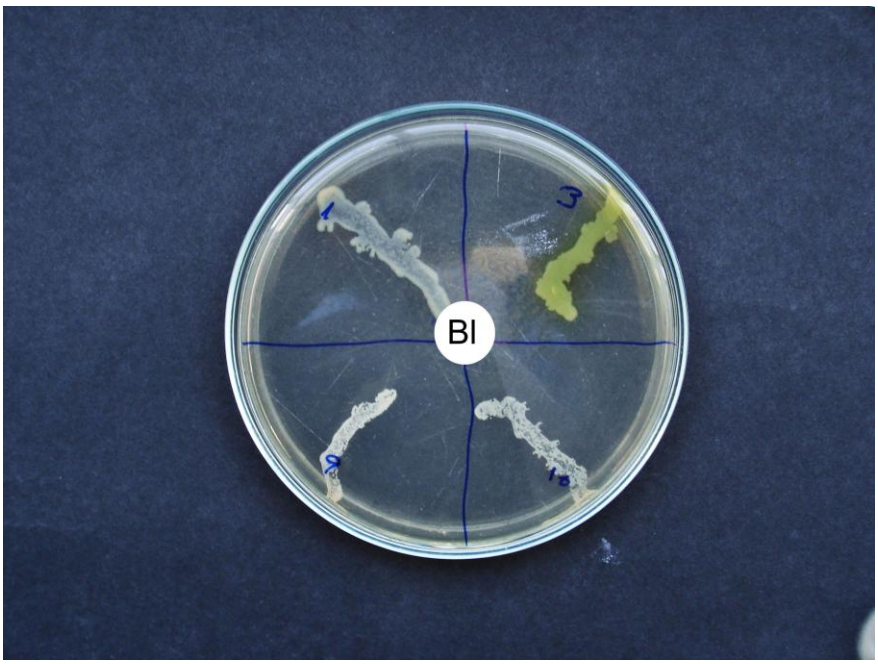
4.3 PRUEBAS BIOLÓGICAS

4.3.1 Actividad antibacteriana

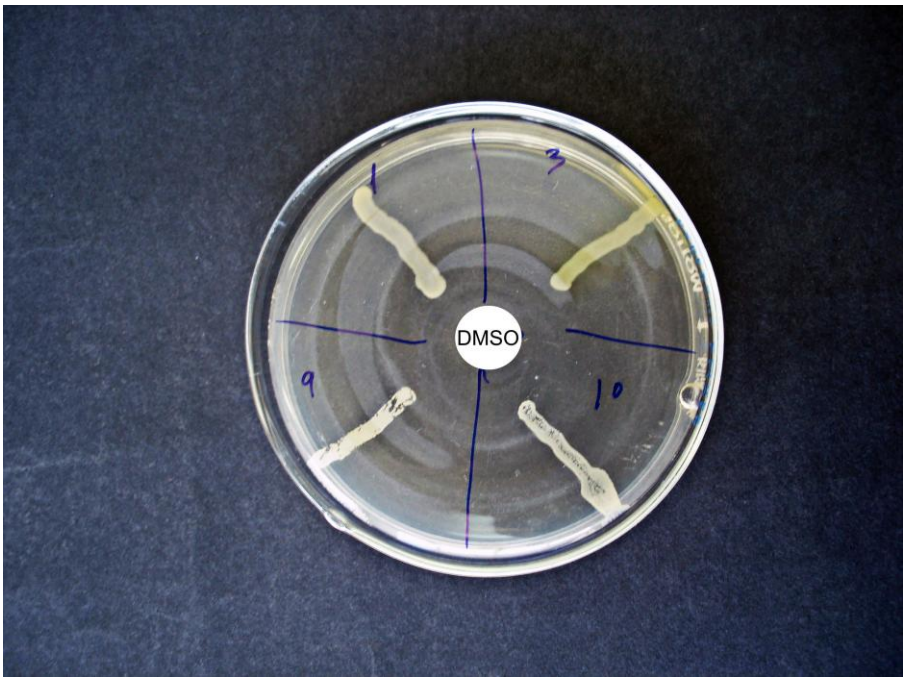
Los siguientes cuadros muestranlos resultados obtenidos a las concentraciones de 1000 y 500 µg/mL de cada extracto con las cepas evaluadas.

Cuadro N° 4: Concentración de 500 µg/mL de los extractos evaluados

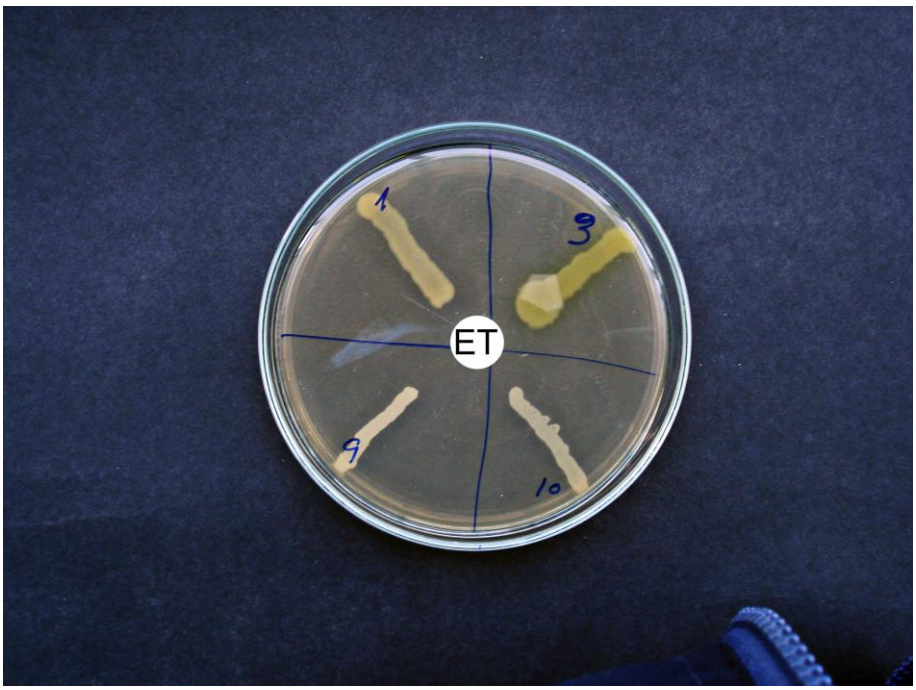
Extractos	Cepas 1	Cepa 3	Cepa 9	Cepa 10
	E. coli ATCC 25922	***Pseudomonas aeruginosa*** ATCC 27853	***Staphylococus epidermidis*** ATCC 12228	***Staphylococcus aureus*** ATCC 49444
Etéreo	-	-	-	-
B	-	-	-	-
C	-	-	-	-
D	-	-	-	-
E	-	-	-	-



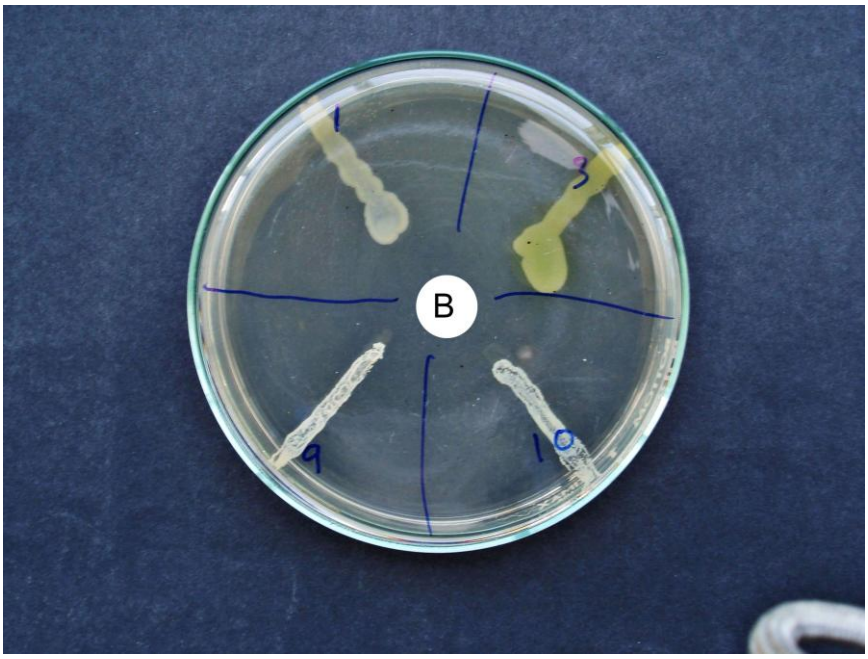
Fotografía N° 10: Blanco de agua con las cepas evaluadas con los extractos.



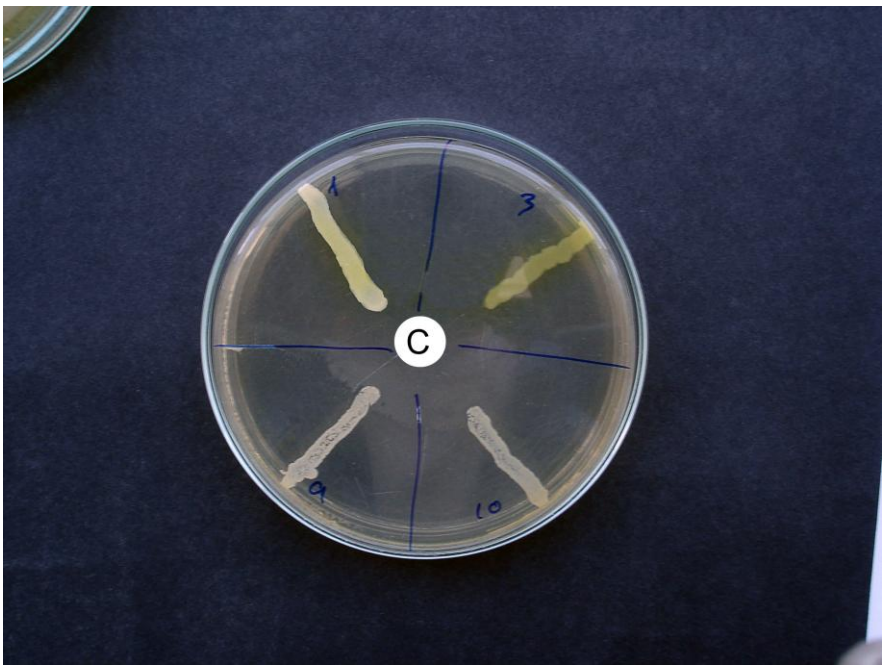
Fotografía N° 11: Blanco de agua mas DMSO al 1% con las cepas evaluadas.



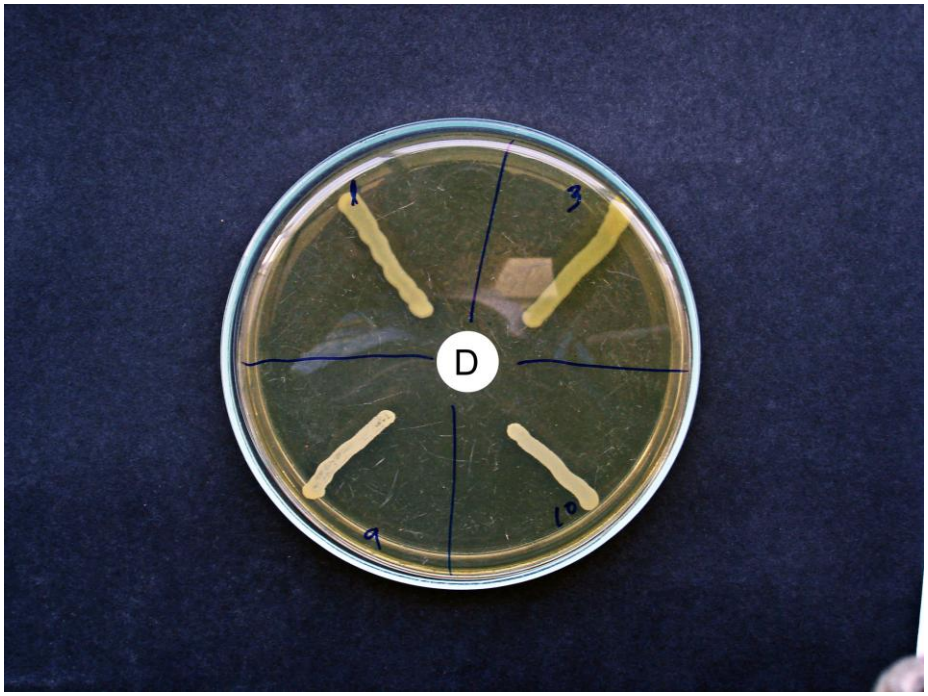
Fotografía N° 12: Obsérvese el crecimiento normal en el extracto etéreo a la concentración de 500 µg/mL.



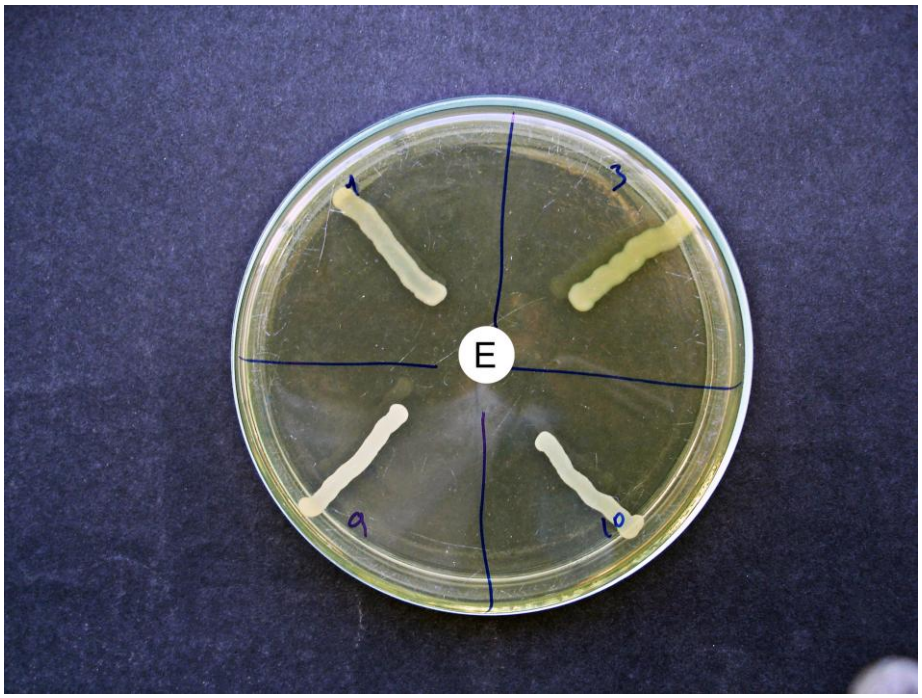
Fotografía N° 13: Obsérvese el crecimiento normal en el extracto B a la concentración de 500 µg/mL.



Fotografía N° 14: Obsérvese el crecimiento normal en el extracto C a la concentración de 500 µg/mL.



Fotografía N° 15: Obsérvese el crecimiento normal en el extracto D a la concentración de 500 µg/mL.



Fotografía N° 16: Obsérvese el crecimiento normal en el extracto E a la concentración de 500 µg/mL.

Cuadro N° 5: Concentración de 100 µg/mL de los extractos evaluados

Extractos	**Cepas 1**	**Cepa 3**	**Cepa 9**	**Cepa 10**
	E. coli ATCC 25922	***Pseudomonas aeruginosa*** ATCC 27853	***Staphylococus epidermidis*** ATCC 12228	***Staphylococcus aureus*** ATCC 49444
Etéreo	-	-	-	-
B	-	-	-	-
C	-	-	-	-
D	-	-	-	-
E	-	-	-	-

No se observó inhibición total de las cepas evaluadas con ningún extracto.

V. DISCUSIÓN

Muchas especies del género *Peperomia* son llamadas “congona” y/o “tuna congona”. Entre ellas tenemos a *P. galioides* H.B.K., usada para desinfectar, curar y cicatrizar (Cerrate, 1982; Cox, 1992; Milla, 1988) heridas, desinflamar golpes y contusiones (Cox, 1992), en infusión o ensalada como estomacal, sedativa, cardiotónica, para afecciones del hígado (Falcón, 1988), úlceras y tuberculosis (Milla, 1988); *P. flaventa* es usada para curar heridas (Cerrate, 1982; Cox, 1992), el zumo mezclado con agua para afecciones del hígado y del riñón (Cerrate, 1982); *P. inaecuelifolia* es usada en infusión como estomacal, el zumo para el dolor de oído y enfermedades urinaria (Arellano, 1992; Milla, 1988), la decocción para afecciones nerviosas (Sagástegui, 1995). *P. ruboides, P..verticilata* y *P. nivalis* no tienen reportes de uso, pero también son llamadas “congona” (Rossi, 1988).

Fitoquímicamente, los Piperales *sensu* contienen aceites esenciales en idioblastos (Melchior citado por Hegnauer, 1986), coincidiendo la observación de la presencia de olores agradables en las especies evaluadas.

Los compuestos fenólicos son ampliamente reportados para especies del género *Peperomia,* es así que Rodríguez (1987) en *P. galioides* reporta la presencia de compuestos fenólicos libres y Mahiou et al. (1995 – 1996) hace mención del aislamiento de terpenoides difenólicos prenilados y nuevas quinonas. Lozano et al (1998) ha encontrado compuestos fenólicos en *P. flaventa*; Tamariz (1999) reporta la presencia de compuestos fenólicos en el tallo y hoja *P. rotundata*; Guillermo (2002) establece la presencia de compuestos fenólicos en *Peperomia scutellaefolia*; así mismo Tanaka et al. (2003) han aislado e identificado de las partes aéreas de *P. obtusifolia*, cinco compuestos fenólicos. Dichos reportes están en concordancia con los resultados positivos para compuestos fenólicos, obtenidos para la especie evaluada en este trabajo.

La especie evaluada presenta reacciones positivas en todas las fracciones para la prueba de Shinoda, prueba cualitativa para flavonoides. Sin embargo los diferentes tonos y diferentes polaridades de las fracciones nos indican que exinten varios tipos de flavoniodes. Estos resultados están en concordancia con los resultados en diversas de Peperomias estudiadas, tales como *P. galioides* (Rodríguez 1987), *P. flaventa* (Lozano et al, 1998); *P. rotundata* (Tamariz, 1999), *P. scutellaefolia* (Guillermo, 2002); así mismo se confirma los resultados reportados Tamariz et al. (2004).

El resultado para quinonas concuerda con los resultados obtenidos en Tamariz et al (2004), los resultados en ambos trabajos son coloraciones rojizas tenues, lo cual podría indicar que la concentración es menor; sin embargo está en concordania con los reportes de presencia de quinonas en *P. galioides* (Mahiou et al. 1996, Tamariz et al. 2004) y *P. microphylla* (Tamariz et al. 2004).

La presencia de cardenólidos en *P. hartwegiana* es concordante con lo reportado por Tamariz (2004). Los triterpenos y/o esteroides están presentes en las fracciones etérea, B y C, todas de baja polaridad; lo cuales están en concordancia con lo encontrado en *P. galiodes* (Rodríguez,1987, Mahiou et al. 1995), *P. rotundata* (Tamariz, 1999), *P. hartwegiana* (Tamariz et al. 2004).

Los extractos metanólicos de *P. microphylla*, *P. rotundata*, *P. galioides* y *P. hartwegiana* según Tamariz et al. (2004) presentan actividad antibacteriana, siendo los mas promisorios los dos últimos. Sin embargo, los resultados obtenidos en los cinco extractos de *P. hartwegiana* fueron negativos a concentraciones de 1000 y 500 μg/mL, lo cual no concuerda con el trabajo anterior. Las probables causas de las diferencias obtenidas podrían ser las metodologías utilizadas en ambos casos, en el trabajo de Tamariz et al (2004) se trabajó con extracto metanólico obtenida mediante reflujo a 60ºC por 4 horas el último día de maceración, y en el presente trabajo luego del

desengrasado con el éter de petróleo se preparó un extracto metanólico a temperatura ambiental. Otra explicación de la divergencia de los resultados podría estar relacionada con las cepas utilizadas, donde sólo la *E. coli* coincide, los restantes a pesar de ser la misma especie son cepas diferentes. Otra posible explicación es el efecto sinérgico que podría darse entre los principios activos contenidos en el extracto metanólico preparado mediante reflujo; es así que los principios activos al ser separados en las cinco fracciones por diferencia de polaridad reducen su efecto antibacteriano, por lo tanto bajo las concentraciones evaluadas en el presente trabajo no se observó el efecto antibacteriano que se esperaba (Tamariz, 1999). Finalmente otra consideración es que la composión química en las plantas puede depender del método de preparación, cantidad de muestra utilizada, la etapa fisiológica de la planta, geografía y habitad (Hergnauer, 1986).

V. CONCLUSIONES

- *Peperomia hartwegiana* posee flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos y/o esteroides distribuidos en sus diversos extractos.
- El extracto C (clorofórmico), se caracteriza por contener el mayor número de tipo compuestos.
- Los cinco extractos de *Peperomia hartwegiana* evaluadas no mostraron actividad antibacteriana sobre *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeuriginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 49444 y *S. epidermidis* ATCC 12228, a las concentraciones de 500 y 1000 μg/mL.

VI. RECOMENDACIONES

- Continuar los trabajos considerando otras metodologías de extracción.
- Se propone que estudie la exixtencia o no de la relación de la composición fitoquímica con el ambito geográfico, tiempo de colecta y condiciones fisiológicas de *Peperomia hartwegiana*, para incrementar conocimientos y optimizar su efectividad como planta medicinal.
- Se recomienda que las cepas empleadas sean certificadas (ATCC entre otras), considernado las utilizadas en el sector salud.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Arellano J. P. 1 992. El Libro Verde: Guía de Recursos Terapéuticos Vegetales. Editado por IMET (Instituto de Medicina Tradicional).

2. Bhakuni D., Bittner M., Marticorena C., Silva M. & Weldt E. 1 974. Screening of Chilean Plants for Antimicrobial Activity. *Lloydia* **37**: 4, 621-635.

3. Brako, L. & J. Zarucchi. 1993. Catalogue of the flowering plants and Gymnosperms of Perú. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.

4. Brantner A. & Grein E. 1 994. Antibacterial Activity of Plants Used Externally in Tradicional Medicine. *J. of Ethnopharmacology* **44**: 35-40.

5. Briceño, B. & G. Morillo. 2002. Catálogo abreviado de las plantas con flores de los páramos de Venezuela. Parte I. Dicotiledóneas (Magnoliopsida). *Acta Bot. Venez.* 25 (1): 1 – 46.

6. Bussmann, Rainer & Douglas. Sharon. 2006. Traditional medicinal plant use in Northern Peru: tracking two thousand years of healing culture. *Journal of Ethnobiology and ethnomedicine* **2 (**47): 1 – 18.

7. Cáceres, A. 1996. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. 1ra. Edición. Ed. Universitaria, U. San Carlos. Guatemala.

8. Cáceres, A. 1998. Referencias personales. Coordinador de la Red Latinoamericana de Productos Fitofarmaceúticos (RIPROFITO).

9. Cerrate E. 1 982. Plantas Medicinales Altoandinas. Editorial Los Pinos. Lima.

10. Cox E. 1 992. Estudio Preliminar de las Plantas Promisorias de la Prov. de Huaylas. *Biointegración 1, #2.* UNMSM, Facultad de Ciencias.

11. Domínguez X. 1 973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Agencia para el desarrolla Internacional (AID). México/Buenos Aires.

12. Estella, E. 1995. Plantas medicinales amazónicas: Realidad y perspectivas. Editado por el Tratyado de Cooperación Amazónica. Pp 42 – 44, 64 – 68.

13. Falcón B. 1 988. Usos y Comercialización de Plantas Medicinales de Huaraz. Trab. de Aptitud Académica para optar título de Químico Farmacéutico. UNMSM.

14. Gary J. M. 1 995. Etnhobotany: A Methods Manual. Ed. Chapman e Hall. U.K. Cambrige.

15. Gibaja O. S. 1 977. Guía Para el Análisis de los Compuestos de Carbono. Ed. UNMSM. Dirección Universitaria de Biblioteca y Publicaciones.

16. Guillermo R. 2002. Comrpobación del efceto cicatrizante de Peperomia scutellaefolia R.et P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. Trabajo de Aptitud Profesional para optar título de Q. Farmacéutico. UNMSM.

17. Hegnauer, R. 1986. Phytochemistry and plant taxonomy – An Essay on the chemotaxonomy of higher plants. Phytochemistry 25 (7): 1519 – 1535.

18. Lock U. O. 1 994. Investigación Fitoquímica: Métodos para el Estudio de Productos Naturales. 2da. Edición. Fondo Editorial PUC. Lima.

19. Lock U. O. 1 998. Resúmenes y Apuntes del Primer Curso: Metodologías Analíticas de los Recursos Botánicos con Potencial Biocida. RAAA, PUCP, UNFV

20. Lozano N., Solís L. & Bonilla, P. 1998. Sustancias Químicas Bioactivas de *Peperomia flaventa*. Ciencia e Investigación 1(1) junio: 32-34

21. Mahiou V., Roblot F., Hocquemiller R. & Caré A. 1 995. Piperogalin, a New Prenylated Diphenol from *Peperomia galioides*. *J. Natural Product* **58**(2):324-*328.*

22. Mahiou V., Roblot F., Hocquemiller R. & Caré A. 1 996. New Prenylated Quinones from *Peperomia galioides*. *J. Natural Product* **59**(7):694-697.

23. Martin E. W., Fullerton C. E., Levallen E. E., Osol A., Tice L. F. & Van M. C. 1965. Farmacia Práctica de Remington. 2da. Ed. en español. Ed. UTEHA. pp. 319, 398.

24. Milla C. A. 1 988. Comercialización de plantas medicinales en el Callejón de Huaylas. Trab. de Aptitud Académica para optar título de Químico Farmacéutico. UNMSM.

25. Mitcher L. A., Leu R. L., Bathala M. S., Wu W. W. & Beal J. L. 1972. Antimicrobial Agents from Higher Plants. I. Introduction, rationales, and Methodology. *Lloydia.* **35**(2): 157-166.

26. Mostacero J., C. Mejía C. & O. Gamarra, 2002. Taxonomía de Fanerógamas Utiles del Perú. Vol. I. CONCYTEC. Edit. Normas Legales, SAC. Trujillo - Perú.

27. Pino, G. 2006. Estado Actual de las suculentas en el Perú. Rev. Zonas Aridas (10): 155 – 173.

28. Rodríguez H. L. 1 987. Plantas Medicinales de Huacho, su Screening Fitoquímico y su Aplicación en la Medicina Popular. Trab. de Aptitud Académica para optar título de Químico Farmacéutico. UNMSM.

29. Rossi C. 1 988. Determinación de actividad antimicrobiana de 8 especies del Callejón de Huaylas. Trabajo de Aptitud Profesional para optar título de Q. Farmacéutico. UNMSM.

30. Sagástegui A. A. 1 995. Diversidad Florística de Contumazá. Fondo Ed. Un. Antenor Orrego. Trujillo-Perú. 203p.

31. Sahm D. F. & Washinton II J. A. 1 991. Antimicrobial Susceptibility Testing: Dilution Methods. En: Balows A., Hausles W. J., Herrmann J., Isenberg H. D., Shadomy H. J. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5ta. Ed. American Society for Microbiology. Washintong D. C.

32. Tamariz, C. 1999. Estudio de algunas plantas medicinales del Parque Nacional Huascarán, Ancash: Pruebas Biológicas y fitoquímicas. Trabajo de Aptitud Profesional para optar título de Bióloga. UNALM.

33. Tamariz, C., P. Olivera, D. Infantas & J. Mostacero. 2004. Estudio antibacteriano, citotóxico y fitoquímico de especiees del género *Peperomia* (Piperaceae) del Parque Nacional Huascarán, Ancash – Perú. Revista de Investigación de la UNASAM 07 (10): 15 – 19.

34. Tanaka, T., Asai F., & Linuma M. 2003. Phenolic Compounds from *Peperomia obtusifolia*. *Phytochemistry* 64(2):555-559

35. Thornsberry C. 1991. Antimicrobial Susceptibility Testing: General Considerations. En: Balows A., Hausles W. J., Herrmann J., Isenberg H. D., Shadomy H. J. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 5ta. Ed. American Society for Microbiology. Washintong D. C. 1059 - 1064 pp.

36. Tschesche, R. 1 971. Advances in the Chemistry of Antibiotic Substances from Higher Plants. En: H. Wagner and Horhammer (eds.). Pharmacognosy and Phytochemistry. Germany. pp. 275-289.

37. Valsaraj R., Pushpangadan P., Smitt U. W., Adsersen A. & Nyman U.1997. Antimicrobial Screening of Selected Medicinal Plants from India. *J. of Ethnopharmacology* **58** : 75-83.

38. Villegas L. F., Fernández Y. D., Maldonado H., Torres R., Zavaleta A., Vaisberg A. J. & Hammond G. B. 1 997. Evaluation of the Wound-Healing Activity of Selected Tradicional Medicinal Plants from Peru. *J. of Ethnopharmacology* **55**: 193-200.

39. Villegas L., Marcalo A., Martin J., Fernández I., Maldonado H., Vaisberg A., & Hammond B. 2001. (+)-epi-Alpha-bisobolol (correction of bisbolol) is the woud-healing principle of *Peperomia galioides*. *J. Natural Products* Oct. 2001.