

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Fundada en 1551

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



Tesis

Digitales UNMSM

“COMPROBACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE *Peperomia scutellaefolia* R. et P., ASPECTOS ETNOFARMACOLÓGICOS, BOTÁNICOS Y ESTUDIO QUÍMICO”

TESIS

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA

RUTH FABIOLA GUILLERMO NAVARRO

**LIMA – PERÚ
2002**

RESUMEN

En la presente investigación fue evaluado el efecto cicatrizante de la especie vegetal *Peperomia scutellaefolia R. et P.*; en forma de geles, mediante el método tensiométrico y corroborado con cortes histológicos, para observar la evolución histológica en cada caso. Se utilizaron ratones albinos cepa Balb C 53 de ± 25 g. de peso; y como tratamientos geles de Carbopol 940 al 5%, 10%, 20%, y 30% P/P de extracto vegetal; comparando los resultados con el grupo control (sin tratamiento) y con el grupo tratado con un medicamento comercial. Se obtuvo mayor efecto cicatrizante con el gel al 5%.

Se determinó la presencia de flavonoides derivados del núcleo de los dihidroflavonoles e isoflavonas; identificados por espectrofotometría ultravioleta-visible, espectrofotometría infrarroja; y por reacciones de coloración.

Se realizó una descripción de los caracteres morfológicos externos de la especie, y la descripción de ciertos caracteres microscópicos en los diversos órganos de la planta, como la epidermis pluriestratificada e idioblastos en la lamina foliar; la presencia de pigmentos en el pecíolo y pedúnculo; la existencia de peridermis y abundantes cristales de oxalato de Calcio en el tallo subterráneo (cormo) Esta información podría facilitar su identificación, y diferenciación de otras especies del género *Peperomia*.

Se realizaron encuestas etnofarmacológicas para documentar los usos, indicaciones y aplicaciones terapéuticas de la especie en la medicina tradicional del departamento de Cajamarca, la especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.* es empleada fresca y algunas veces seca, para aliviar enfermedades cardíacas, inflamaciones internas, y como cicatrizante externo.

Palabras Claves: *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, etnofarmacología., cicatrizante, método tensiométrico, histología animal, flavonoides, espectrofotometría ultravioleta e infrarroja.

SUMMARY

The wound healing effect of vegetal specie *Peperomia scutellaefolia R. et P.* was evaluated in this research using tensiometric methods and the results were corroborated with histological studies in order to observe and analyze the histological evolution in each case. Batch Balb C 53 albine mice with 25g of average weight were used and treated with Carbopol 940 gels with 5%, 10%, 20% and 30% W/W concentrations of this vegetal extract. The results obtained were compared with two groups: the control group (without treatment) and another group treated with a commercial medicament. A better wound healing effect with *Peperomia's* 5% W/W concentration gel was obtained.

Flavonoids derivates of dihidroflavonols and isoflavones nuclei were founded and identified by ultraviolet and infrared spectrophotometry and coloration reactions. Description of the morphological external characteristics of *Peperomia scutellaefolia R. et P.* such as peltates leafs, spiciform influorescent, subterranean stem was done. Also some microscope details such as pluristratificate epiderm and idioblastes in the leaf's lamine were described. Petioles and peduncles with pigments, periderm and crystals of Calcium oxalate in the subterranean stem (corm) were founded. This information could simplify the identification and differentiation of another species from genus *Peperomia*.

In order to document the usage and therapeutic applications of this plant in the traditional medicine of Cajamarca ethnopharmacology inquires were carried out. This plant is used fresh or dry to treat cardiac diseases, internal inflamations and to heal external wounds.

Key words: *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, ethnopharmacology, wound healing, tensiometric method, animal histology, flavonoids, spectrophotometry ultraviolet and infrared.

I. INTRODUCCIÓN

En muchos sistemas de salud de América, Asia y Europa; es frecuente el uso de drogas vegetales y fitomedicinas, como parte integral de la medicina convencional. En estos casos, basándose en la información médica tradicional, ha sido posible para la medicina científica validar la acción terapéutica y establecer los correctos usos de los recursos vegetales.

La medicina tradicional, es utilizada ampliamente y desde tiempos ancestrales en nuestro país. El conocimiento sobre salud, enfermedad, prevención y tratamiento; ha sido transmitido de una generación a otra; a través del tiempo. Este saber se basa exclusivamente en la experiencia y las observaciones. Las plantas del género *Peperomia*, son de uso frecuente como medicamentos en la sierra, en casi toda la costa del Perú, y en algunas zonas de la selva; en este sentido es necesario estudiar científicamente sus efectos, con el fin de permitir su uso racional.

El presente trabajo se estudia la especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, cuyo nombre vernáculo es Munyu - Munyu (en quechua presenta dos significados: (i) ombligo-ombligo y (ii) bien redondo), esto en alusión a la forma de su tallo subterráneo generalmente esférico, que asemeja un ombligo, la especie crece en la sierra norte del Perú, en suelos secos y rocosos, es utilizada tradicionalmente para curar males cardiacos, úlceras estomacales, heridas externas de la piel, y para las 'penas'. En todos estos casos se usa el tallo subterráneo (cormo), molido y con agua, por aplicación tópica o por ingestión. La literatura menciona el efecto antiinflamatorio, cicatrizante, antiparasitario, y tranquilizante de otras especies del género *Peperomia*. (1), (2), (3), (4). Estos efectos se deben a la presencia de compuestos como: proctoriones (2 - acilciclohexano-1,3-diona), quinonas preniladas, esteroides, triterpenos y compuestos fenólicos, principalmente flavonoides; reportados en especies como: *Peperomia proctorii*, *Peperomia flavamenta Trel.*; *Peperomia galioides H.B.K.*, entre otras. (5), (3), (6), (7).

La investigación comprende: estudio etnofarmacológico, estudio farmacológico, estudio químico, y caracterización botánica preliminar.

Hipótesis:

-La especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, posee influencia sobre la reparación tisular como cicatrizante externo.

-La especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.* como otras especies del género *Peperomia* contiene flavonoides en su composición química.

Los **Objetivos** trazados fueron: Documentar los usos tradicionales de la especie en la provincia de Cajamarca; comprobar la acción cicatrizante externa atribuida a la especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, mediante ensayo farmacológico experimental; identificar las características botánicas de la planta que facilitarían la diferenciación de otras especies parecidas, en caso sea comercializada, entera o fragmentada; y comprobar que la especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, como otras especies del genero *Peperomia* contiene flavonoides en su composición química.

Los **Objetivos específicos** de la presente investigación fueron: Evaluar el efecto de *Peperomia scutellaefolia R. et P.* sobre la reparación tisular de las heridas experimentales incisas en ratones; e identificar los núcleos estructurales de los flavonoides que estarían presentes en la composición química de *Peperomia scutellaefolia R. et P.*

II. GENERALIDADES:

II.1 ASPECTOS BOTÁNICOS

II.1.1 Características botánicas de la familia Piperaceae y del género *Peperomia*:

Las Piperaceas, crecen en climas tropicales, sub-tropicales y templados; son hierbas ó arbustos. Esta familia comprende 10 géneros, siendo los principales: *Piper* y *Peperomia*. Estas plantas pueden ser erectas o postradas, tienen hojas alternadas, opuestas o verticiladas pueden o no tener glándulas aromáticas; de hojas enteras con nervadura pinnada o palmatinada, venulada en cruz, no presentan meristemo basal persistente; con hidatodes comúnmente presentes y estomas anisocíticos o ciclocíticos. Los tallos tienen nodos, pueden ser articulados aéreos y subterráneos, presentan el tejido vascular primario en 2 o más anillos, o anillos pequeños esparcidos; el xilema sin fibras traqueidas pero con fibras libriformes. El tipo de reproducción es por polinización (son plantas hermafroditas); y por esquejes de los tallos, las flores se encuentran agrupadas en inflorescencias tipo espada o espadices, son flores diminutas con brácteas suculentas, sin perianto. El fruto es una drupa o baya, y consta de una semilla. (8), (9), (10).

El género *Peperomia* comprende unas 1000 especies, este género es nativo de América tropical y sub – tropical, gran parte de las especies son nativas de la región amazónica. Son plantas herbáceas erectas o postradas, generalmente de cultivo ornamental. Tienen hojas alternas o verticiladas, carnosas y coloreadas variadamente, frecuentemente de pecíolo largo, elípticas, aovadas o hasta en forma de corazón. Estas hojas son de lámina dorsiventral, presentan hipodermis adaxial, las células de la epidermis pluriestratificada permanecen en filas radiales.

Las flores son bisexuales, con 2 estambres, 1 estigma, sin pétalos, ni sépalos, con o sin brácteas. El fruto puede o no ser carnoso; el carpelo del fruto es dehiscente, en forma de drupa o baya. Los gineceos de las flores colindantes pueden o no formar un fruto múltiple; los frutos tienen una semilla; con escaso tejido endospermico, y abundante perispermo. El embrión es rudimentario al tiempo de liberar la semilla.

Todas las *Peperomias* se multiplican por esquejes, división de matas, y por medio de hojas con un pequeño trozo de pecíolo. En su cultivo, la utilización de calor de fondo, es adecuada, las perjudican los riegos con aguas salinas, soportan condiciones de luz algo bajas, estas plantas pueden ser cultivadas en maceteros, en interiores. Etimológicamente *Peperomia* deriva del griego *peperi*, que significa pimienta, y de *homoios*, que significa parecido a, por su semejanza al género *pepper*. (8), (11), (12), (13).

II.2 ASPECTOS QUÍMICOS

II.2.1 Compuestos químicos contenidos en la familia Piperaceae y en el genero *Peperomia*.

En el genero *Piper* ha sido reportada la presencia de: metabolitos del ácido mevalónico (monoterpenos y sesquiterpenos), metabolitos del ácido acético y shikímico (flavonoides) y relacionados al ácido shikímico (lignoides, arilopropanoides, amidas, etc.). Los metabolitos más frecuentemente aislados son: amidas (cinnamoilamidas y alquilamidas); aristolactamas y otros alcaloides, flavonoides (flavona, dihidroflavonas, dihidrochalconas, y o-metilflavonoides) notándose que la o-glicosilación es rara. (15)

La literatura reporta que muchos metabolitos del genero *Peperomia* provienen de la ruta biogénica del acetato y mevalonato. En el extracto etéreo de *Peperomia galioides* H.B.K. han sido hallados 3 prenilfenoles: grifolin, ácido grifólico, y piperogalin. Posteriormente reportan 3 constituyentes menores: dos nuevas quinonas preniladas, piperigalone y galopiperone, y una nueva dihidroquinona prenilada: hydropiperone. (3), (16)

En *Peperomia proctorii*, han sido reportados tres componentes llamados proctoriones A-C; cuyas estructuras han sido establecidas como: 2,3-dihidro-5,8-dihydroxy-2-pentadecyl-4H-benzopyran-4-one (A) y las formas enólicas de 4-hydroxy-2-octadecanoylcyclohexane-1,3-dione (B) y 4-hydroxy-2-octadec-(11Z)-enoylcyclohexane-1,3-dione (C). (5)

En *Peperomia sp.* ha sido reportada la presencia de compuestos fenólicos, tipo flavonoides; saponinas, alcaloides en menor cantidad y diversas terpenlactonas (4).

En *Peperomia galioides* H.B.K., *Peperomia nivalis* Mig. , y *Peperomia flavamenta* Trel. ha sido reportada la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides y/o triterpenos; y grupos indólicos (6).

II.2.2 Flavonoides: reacciones y técnicas para su identificación.

Los flavonoides poseen diversas actividades farmacológicas: contra la fragilidad capilar, como dilatadores arteriales, espasmolítica, antihepatotóxica, colerética, estrógena, diurética, antimicrobiana, antiinflamatoria, fungitóxica, antioxidantes, insecticidas, edulcorantes, entre otras.

Los flavonoides se generan por la ruta biogénica del shikimato y del acetato-malonato, la ruta del shikimato origina a los fenilpropanoides los que a través de la ruta del acetato malonato se transforman en flavonoides. Figura N° 1.

Actualmente se conocen mas de 10 núcleos básicos para los flavonoides, estos tienen un sistema C₆-C₃-C₆. (17). Figura N°2.

Existen muchas técnicas para identificar a los flavonoides, entre ellas se encuentran las reacciones de coloración y precipitación, espectrofotometría ultravioleta, espectrofotometría infrarroja, espectrometría de masas, difracción de rayos X, y resonancia magnética nuclear, entre otros. Las reacciones de coloración también pueden usarse para evidenciar la presencia de flavonoides una de las más específicas es la reacción de Shinoda, de la que resultan coloraciones características según el tipo de núcleo de los flavonoides. Tabla N°1

Tabla N°1: COLORACIONES DE LOS FLAVONOIDES FRENTE A LA REACCIÓN DE SHINODA (17).

Tipo de Flavonoide	Color de la Reacción de Shinoda
Chalconas	No hay coloración
Auronas	No hay coloración
Isoflavanonas	No hay coloración
Isoflavonas	Amarillo rojizo
Flavanonas	Azul, magenta, violeta, rojo.
Flavanoles	Rojo a magenta
Flavonas y Flavonoles	Amarillo a rojo.

Como características generales se observan: la solubilidad en solventes polares su carácter fenólico y la intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro, debido a la presencia de sistemas aromáticos conjugados.

Los flavonoides poseen espectros con intensas absorciones en el espectro ultravioleta, se pueden distinguir 2 bandas principales: banda II (240 nm – 285 nm), y la banda I (300 nm – 550 nm) (18). Tabla N°2.

El espectro infrarrojo aporta datos adicionales de la mayoría de los compuestos orgánicos y puede dividirse en dos partes: las bandas de vibración de sustituyentes específicos entre 1300 y 4000 cm^{-1} y las bandas de vibración del esqueleto hidrocarbonado (C–C y C–H) entre 650 y 1400 cm^{-1} .

En el análisis estructural, la zona entre 1400 y 4000 cm^{-1} es de gran utilidad. Las bandas entre 1650 y 1800 cm^{-1} indican C=O y según el valor exacto, puede interpretarse la situación del carbonilo; la presencia de dobles enlaces (aislados o conjugados) y de sistemas aromáticos; los distintos tipos de sustitución sobre anillos bencénicos.

Tabla N°2: BANDAS CARACTERÍSTICAS DE ABSORCIÓN PARA LOS FLAVONOIDES EN EL ESPECTRO ULTRAVIOLETA-VISIBLE.(18)

Banda II	Banda I	Tipo de Flavonoide
250 – 280 nm	310 – 350 nm	Flavonas
250 – 280 nm	330 – 360 nm	Flavonoles (3-OH sustituido)
245 – 275 nm	310 – 330h nm	Isoflavonas (5–deoxi-6,7-dioxi)
275 – 295 nm	300 – 330h nm	Isoflavonas, dihidroflavonoles
230 – 270 nm (baja intensidad)	340 – 390 nm	Chalconas
230 – 270 nm (baja intensidad)	380 – 430 nm	Auronas
270 – 280 nm	465 – 560 nm	Antocianidinas, antocianinas
250 – 280 nm	310 – 350 nm	Flavonas

II.3 TÓPICOS FARMACOLÓGICOS

II.3.1 Etnofarmacología e información etnofarmacológica de otras especies del género *Peperomia*.

El termino Etnofarmacología etimológicamente proviene del griego ethnos = pueblo, pharmakon = medicamento, y logos = tratado. Es la ciencia que trata de la evaluación científica farmacológica de los medicamentos tradicionales. La etnofarmacología estudia los métodos de diagnóstico, prevención, ritos, posologías, y demás procedimientos mediante los cuales un pueblo (ethnos) utiliza un recurso como medicamento (sea vegetal, animal o mineral), analiza las ideas, ritos, creencias y procedimientos de como estas sustancias son utilizadas frente a las enfermedades. Después de recoger todo este conocimiento tradicional, se evalúan y contrastan las acciones farmacológicas con el fin de validar y optimizar los procedimientos tradicionales. (19)

La etnofarmacología también ha sido definida como la observación, identificación, descripción; y la investigación experimental de los ingredientes y los efectos de las drogas indígenas. Es un campo altamente interdisciplinario no es una ciencia del pasado que utiliza un enfoque fuera de moda; constituye la columna vertebral científica en el desarrollo de terapéuticos activos basados en la medicina tradicional de varios grupos étnicos. (20)

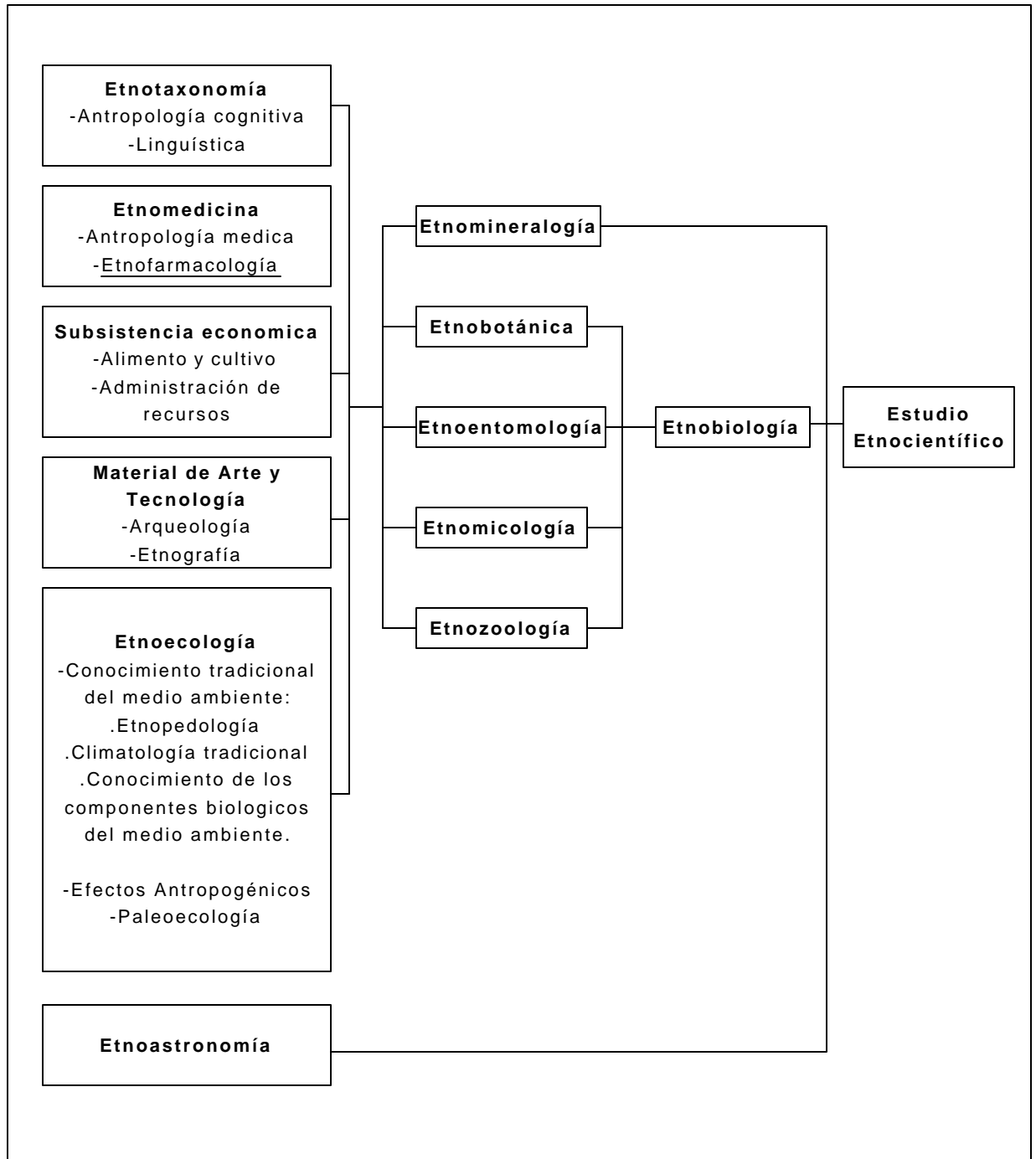
En la Figura N°3 se observa que la etnofarmacología esta incluida en la etnomedicina, que es una de las ciencias que comprende la etnobotánica, esta a su vez esta relacionada con otras ciencias como: la etnotaxonomía, etnoecología, así como la antropología.

Los estudios etnobiológicos incluyen la examinación de las relaciones recíprocas que ocurren entre las sociedades tradicionales y el mundo natural en culturas aun existentes y por

el estudio de registros arqueológicos. Estos incluyen el análisis del conocimiento tradicional biológico y la contribución de la influencia humana en el medio ambiente biológico.

La etnobotánica, etnomicología, etnoentomología y etnozoología conforman la etnobiología, que unida a la etnoastronomía y la etnomineralogía conforman el campo del estudio etnocientífico.

La información etnofarmacológica de otras especies del género *Peperomia* se encuentran detalladas en la Tabla N° 3.



**Figura N°3: UBICACIÓN DE LA ETNOFARMACOLOGÍA EN EL ESTUDIO
ETNOCIENTÍFICO. (21)**

II.3.2 Cicatrización de las heridas cutáneas, aspectos patológicos del proceso de inflamación y reparación; y experimentos realizados en cicatrización.

Una cicatriz es una masa de colágeno que se produce cuando no es posible reparar la necrosis de células parenquimatosas por regeneración. Si se destruyen las células hasta la capa basal, de la dermis o epidermis sucede una reparación con formación de cicatriz.(33)

a) - Proceso de Reparación: El proceso de reparación en una herida se puede resumir así: el acontecimiento inicial en el sitio de la lesión es la hemorragia y la coagulación. el coagulo de fibrina se estabiliza mediante los enlaces cruzados de la fibronectina con la fibrina por medio de una transglutaminasa el factor XIII de la cascada de la coagulación. A su vez, la fibronectina es quimiotáctica para los macrófagos y fibroblastos. Estos últimos atraídos a la región estimulados quizá por factores de los macrófagos, secretan componentes de la matriz celular. Los proteoglucanos y el colágeno tipo III recién secretados se fijan específicamente a la fibronectina y proveen fuerza tensional a la herida mientras se está alisando el coagulo.

Eventualmente la mayoría de los proteoglucanos, la fibronectina y el colágeno tipo III son eliminados y sustituidos por colágeno tipo I para formar una cicatriz permanente. Cada una de estas moléculas tiene distintas interacciones con las células y la matriz, y participa en circuitos de retroalimentación que modulan las funciones celulares. Como consecuencia de esta modulación las células secretan diversos productos que a su vez transmiten nueva información para modular a otras células. Por tanto, solo un intercambio de información continuo entre célula y célula, y entre célula y matriz, y matriz y matriz, permite que tenga lugar la reparación.

b) - Reparación por Primera Intención: En este caso la herida o incisión solo causa la alteración local de la continuidad de la membrana basal epitelial y muerte de relativamente pocas células epiteliales y de tejido conectivo, el espacio de la herida es pequeño.

Día 1. - Se observan neutrófilos en el borde de la incisión que se desplazan hacia el coagulo de fibrina generado en la cicatriz. Las células basales de los bordes cortados, aumentan su actividad mitótica. En 24 a 48 horas, las células epiteliales de ambos bordes se desplazan y proliferan a lo largo de la dermis, y debajo de la costra producen una capa epitelial delgada pero continua.

Días 2 – 3. - Los macrófagos sustituyen a los neutrófilos, el tejido de granulación va llenando el espacio de la incisión, hay fibras de colágeno pero en vertical, se forma una capa epidérmica gruesa que cubre la herida.

Días 4 – 5. - La neovascularización es máxima las fibrillas de colágeno son abundantes y empiezan a unir los bordes de la incisión, la epidermis va normalizándose y las células de su superficie se queratinizan.

Segunda Semana.- Proliferan los fibroblastos hay depósito creciente de colágeno se inicia el blanqueamiento de la cicatriz y la regresión de los conductos vasculares.

Primer Mes.- La cicatriz incluye tejido conectivo celular cubierto por una epidermis normal. Los apéndices y anexos dérmicos destruidos nunca se regeneran.

c) - Reparación por Segunda Intención: La cicatrización por segunda intención sigue el mismo mecanismo pero difiere de la cicatrización por primera intención en varios aspectos: los defectos extensos tienen mayor volumen, la reacción inflamatoria es más intensa. Aparece una cantidad mucho mayor de tejido de granulación para llenar el espacio de la lesión y se produce mayor masa de tejido cicatrizal. Se verifica el fenómeno de contracción de la herida por la presencia de miofibroblastos, que son fibroblastos modificados que muestran muchas de las características ultra estructurales de las células del músculo liso. (34)

Las fases del proceso de curación de una herida en función del tiempo se encuentran detallados en la Figura N°4.

Aspectos patológicos del proceso de inflamación y reparación.

a)- Factores relativos a la nutrición general: Las heridas incisas en animales alimentados con dietas exentas de proteínas durante periodos prolongados lentamente adquieren resistencia. La administración de DL – metionina o cistina impide el retraso de la cicatrización. Se desconoce aun la magnitud del efecto de la depleción de proteínas sobre la cicatrización de las heridas en el hombre. En los ancianos, las complicaciones en la cicatrización al parecer dependen mas de problemas pulmonares y cardiovasculares que de factores inherentes a la herida.

b)- Deficiencias de Vitaminas y Oligoelementos: Estudios experimentales indican que la síntesis de colágeno es muy lenta en animales con deficiencia de ácido ascórbico. La administración de cantidades pequeñas de vitamina C restablece la cicatrización normal.

Se sospecha que la vitamina A es un antagonista específico de ciertas anormalidades creadas por la cortisona, sus derivados, y de los defectos inducidos por la radiación aguda. Los metales cobre y fierro son necesarios para que se lleve a cabo el metabolismo normal del colágeno; el zinc y otros cationes bivalentes actúan como cofactores en muchas reacciones metabólicas y los estados de deficiencia en animales retardan la epitelización y el aumento de resistencia.

c)- Anemia, pérdida de sangre y tensión de Oxígeno: Muchos clínicos creen que la anemia de cierto grado, retrasa la cicatrización, otros investigadores afirman que no, la literatura contiene datos en apoyo de ambas tendencias. Lo que sí está demostrado es la importancia de la tensión de oxígeno, la caída prolongada de dicho parámetro dificulta notablemente la cicatrización. La hemorragia ó la anemia quizá no alteren la tensión de oxígeno en los tejidos, pero la hipovolemia, vasoconstricción y aumento en la viscosidad de la sangre causan efectos profundos en la tensión local de oxígeno.

En el caso de la hipertermia local, cuando la temperatura aumenta, la presión parcial de oxígeno subcutáneo se eleva y el riego total se triplica. Estos datos confirman el valor de la hipertermia local o calor local como profiláctico en el tratamiento de heridas contaminadas además que las heridas adquieren nueva resistencia más rápidamente a elevadas temperaturas.

d)- Estrés, esteroides y agentes antiinflamatorios: ACTH, cortisona y otros glucocorticoides, reducen la velocidad de síntesis de las proteínas, estabilizan las membranas lisosómicas e inhiben la reacción inflamatoria normal, las dosis altas de corticoides limitan la gemación capilar, inhiben la proliferación de fibroblastos y reducen el ritmo de epitelización. Incluso con dosis altas de esteroides, las reacciones de cicatrización de las heridas llegan a término, tan sólo se modifica la escala de tiempo.

Los efectos de ciclosporina A, azatioprina y prednisona retrasan de manera significativa la cicatrización de piel, pero no afectan la de músculo y aponeurosis. Los derivados salicílicos, como fenilbutazona ejercen efectos mínimos sobre la cicatrización. Profusas dosis experimentales de ácido acetilsalicílico retrasan de manera notable la ganancia de resistencia en las heridas.

e)- Factor de crecimiento: Las heridas tratadas con PDGF (Factor de crecimiento derivado de plaquetas) fueron un 50% más fuertes que en los controles. La aplicación tópica sobre úlceras crónicas no cicatrizadas, indicó un efecto positivo, estadísticamente muy significativo.

f)- Citotóxicos y radiación: La radiación aguda y otros agentes citotóxicos, inhiben la división de las células epiteliales y de los fibroblastos locales con esto retrasan la cicatrización. La aplicación local prolongada de antimetabolitos como mostaza nitrogenada, tio TEPA, 5 – fluorouracilo, inhiben por completo la cicatrización. Las dosis altas de radiación en especial durante los tres primeros días del proceso de cicatrización, retrasan notablemente la ganancia de resistencia. (35)

g)- Infección y cuerpos extraños: La infección produce retraso en el proceso de curación, los cuerpos extraños como las suturas y fragmentos metálicos e incluso fragmentos de hueso constituyen impedimentos para la curación.

h)- Factores mecánicos: Como el incremento de la presión intraabdominal que da lugar a la rotura de las heridas abdominales y que se denomina dehiscencia de las heridas.

i)- Queloides: La acumulación de cantidades excesivas de colágeno, puede dar lugar a la formación de un queloide (cicatriz voluminosa y elevada), la formación del queloide parece estar relacionada con la predisposición individual y por razones desconocidas es más frecuente en personas de raza negra.

j)- Tejido de granulación exuberante: Otra alteración en la curación de las heridas es la formación de cantidades excesivas de tejido de granulación, que protruye por encima del nivel de la piel que lo rodea e impide la reepitelización. Esta forma de cicatrización patológica se llama tejido de granulación exuberante.(36)

Experimentos realizados en cicatrización.

Todos los experimentos en cicatrización buscan agentes que aceleren el proceso de cicatrización, el cual puede durar desde 3 meses hasta varios años para alcanzar un valor de resistencia a la tensión que se mantiene durante toda la vida y que suele ser del 70 a 80 %, respecto a la piel intacta. (36). La evaluación de la resistencia de las heridas en proceso de cicatrización, fue reportada por primera vez en 1929 por Howes y col. (37)

En 1965, fue investigada la cicatrización normal en piel de rata; evaluando la resistencia a la tensión como % del valor de la piel no lesionada, frente a los días después de la incisión. En 2 días, la resistencia a la rotura en heridas incisas en piel de rata está entre 50 – 100 g/cm. (38) En este momento la herida apenas contiene bandas de fibrina, algunas asas capilares, leucocitos, y unos cuantos fibroblastos. Pero la superficie epitelial consta de una hoja confluyente de células. Estudios experimentales indican que las fuerzas intercelulares, adhesión de las proteínas globulares y polimerización de la fibrina, son los elementos que originan fuerzas de esta magnitud. (35) y (39). Figura N°5

En el Perú se realizaron estudios para evaluar el efecto cicatrizante de plantas medicinales utilizando el método tensiométrico(40) (2), y corroborando el método tensiométrico con estudios histológicos. (41)

A nivel mundial se evalúa el éxito de la cicatrización experimental por diversos métodos, como: Raimondi y col. (42), que evaluaron la actividad de los flavonoles contenidos en la especie *Sedum telephium* L.; en cultivos celulares de fibroblastos humanos (MCR 5); midiendo la adhesión celular a fibronectina y laminina, por la generación de complejos, cuantificables por espectroscopia ultravioleta. F. Bonté y col. (43), evaluaron la actividad de 2 triterpenos (assiaticoside y madecassoside), como estimulantes de la secreción de colágeno I y III en fibroblastos humanos, utilizando ensayos inmunosorbentes (ELISA). B. Gonul y col. (44), evaluaron la eficacia de las formas de dosaje del factor de crecimiento epidermal (EGF); por método tensiométrico y por el dosaje de Zinc en la herida, que inicialmente es alto pero conforme progresa la reparación disminuye hasta estabilizarse, éstas variaciones en la concentración de zinc expresan la evolución de la cicatriz. El Zinc es dosado por espectrofotometría de absorción atómica.

II.3.3 Información general del Carbopol 940.

El gel de Carbopol 940, es un hidrogel monofásico constituido por macromoléculas dispersas en una fase líquida de modo que aparentemente no existen límites entre las moléculas y el líquido. El gel de Carbopol se puede considerar como una molécula gigante, es llamado gel de valencia principal o gel químico porque sus fuerzas de ligazón son enlaces covalentes. (45)

a) - Mecanismo de formación: El mecanismo de formación es el siguiente: a bajos valores de pH, se disocia una pequeña proporción de grupos carboxílicos del polímero, formando una espiral flexible, la adición de una base provoca la disociación de grupos carboxílicos ionizándose, creando repulsión electrostática entre las regiones cargadas expandiéndose la molécula a un punto de equilibrio entre las mismas haciendo más rígido el sistema y por ende gelificándolo. (46)

b) - Cualidades. Sus características lubricantes son adecuadas para su aplicación en piel seca y seboreica, ya que al secarse forma una película transparente no oclusiva, elástica y de alta adherencia, que no obtura los poros cutáneos. El gel de Carbopol 940 tiene propiedades de bioadhesión por esto son utilizados como carriers para distribuir y liberar drogas de aplicación tópica. (46)

El gel es soluble en agua fría, agua caliente y aceite, manteniendo su estabilidad química por largos periodos de tiempo a temperatura ambiental y a altas temperaturas, si están protegidas de la luz o con un antioxidante. Presenta un estado semisólido, elevado grado de transparencia, facilidad de aplicación y de remoción además de propiedades emolientes y refrescantes. (45), (46).

c) - Incompatibilidades: La principal desventaja de los hidrogeles es su tendencia a la deshidratación que puede ser minimizada por la adición de un humectante (45). Son sistemas reversibles, pueden pasar del estado de gel al estado de solución coloidal, por cambios en el pH, o en la concentración de la fase dispersa. Los iones Na., Ca., Al., aún en pequeñas concentraciones y los alcoholes en concentraciones mayores del 35%, producen disminución de la consistencia o coagulación. (47)

Los iones metálicos, especialmente Fe. y Cu., así como los rayos UV producen despolimerización de la resina, y por ende pérdida de la viscosidad. El Carbopol 940 es incompatible con los conservadores catiónicos, así como con los principios activos cuya actividad depende del pH ácido del medio.

d) - Experimentos realizados: Los sistemas de liberación controlada conteniendo ácido poliacrílico tienen bajo potencial de irritación o sensibilización de la piel, hasta 100% de concentración (48). Ha sido reportado que la acción del factor de crecimiento epidérmico, se ve favorecida al administrarse en una base de Carbopol 940. (43)

La literatura reporta que la solución acuosa neutralizada de Carbopol 940 no tiene actividad antimicrobiana o efecto inhibitorio del crecimiento celular (49). También ha sido reportado que el gel de Carbopol 940 no tiene efecto en el desarrollo normal del proceso de cicatrización, ni sobre la resistencia a la tensión en heridas experimentales. (50)

II.3.4 Generalidades de histología animal.

Para estudiar la evolución de las cicatrices experimentales, se realizaron cortes histológicos; un corte se prepara cortando una porción delgada de un fragmento pequeño de tejido fijado, que después se tiñe, se monta en un medio con índice de refracción adecuado, sobre un portaobjetos y finalmente se cubre con un cubreobjetos.

La tinción empleada más a menudo en histología es la de hematoxilina eosina, técnica a la que se hace referencia frecuentemente como H y E. La hematoxilina es una base que brinda un tinte azulado preferencialmente a los componentes ácidos de la célula; como la mayor parte de los componentes ácidos son DNA y RNA, el núcleo y ciertas regiones del citoplasma se tiñen de color azul oscuro; estos se denominan componentes basófilos. La eosina es un ácido que imparte una coloración sonrosada a los componentes básicos de la célula; como muchos constituyentes citoplásmicos tienen pH básico, las regiones del citoplasma se tiñen de color rosado; se dice que estos elementos son acidófilos. (51)

Tabla N°4: CARACTERÍSTICAS TINTORIALES DE DIFERENTES ESTRUCTURAS CON
HEMATOXILINA-EOSINA. (52)

Células y componentes celulares	Coloración
Núcleo	
Heterocromatina	Azul
Eucromatina	Negativa
Nucleolo	Azul
Citoplasma	
Ergatoplasma	Azul
Citoplasma en general	Rosada
Filamentos Citoplasmáticos	Rosada
Material extracelular	
Fibras colágenas	Rosada
Fibras elásticas	Rosada (no diferenciables de las fibras colágenas.)
Fibras reticulares	Rosada (no diferenciables de las fibras colágenas)
Sustancia fundamental	Azul (solo sí es abundante como en la matriz cartilaginosa)
Médula ósea (descalcificada)	Rosada
Membrana basal	Rosada

III.- PARTE EXPERIMENTAL

III.1 MATERIALES, EQUIPOS, INSTRUMENTOS Y REACTIVOS

Del estudio botánico:

- Especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, planta completa y fresca.
- Trinocular stereo zoom. Marca: Beltec scientific. Model XLT-500B.
- Advanced grade microscopes. Marca: Beltec scientific. Model L2000A.
- Sistema de video-microscopía con conexión a PC. Beltec scientific. Modelo 480B.
- Colorante verde de malaquita (1% alcohólico)
- Colorante safranina (1% alcohólico)
- Sol. de NaClO (20%)
- Gelatina glicerinada.
- Médula de saúco.
- Láminas portaobjetos y cubreobjetos.
- Placas Petri, cuchillas.

Del estudio químico

- Espectrómetro ultravioleta visible. (UV – VIS) Marca: Perkin Elmer. Modelo: LAMBDA 40P
- Espectrómetro infrarrojo con transformadas de Fourier. (FT - IR) Marca: Nicolet. Modelo: IMPACT 410.
- Lámparas UV 254 nm y 366 nm.
- Balanza analítica Mettler.
- Molino de cuchillas Willey Will St. Model N° 3.
- Equipo para efectuar cromatografías en capa fina.
- Reactivos de identificación: cloruro férrico (1%), magnesio metálico, acetato de zinc, Rvo. ninhidrina, solución de gelatina-sal, Rvo. Liebermann-Burchard, Rvo. Dragendorff.
- Silica gel 60F Merck y Kieselgel (0.05 – 0.2 mm) Merck
- Solventes: metanol, etanol, agua, cloroformo, n-hexano.
- Ácido acético glacial, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico concentrado.
- Material de vidrio de uso general en laboratorio.

Del estudio farmacológico

a) De la investigación etnofarmacológica

- Fotos de la planta fresca completa.
- Tallos subterráneos frescos y secos (forma en que son comercializados en los mercados)
- Formatos de las encuestas y cuaderno de notas.

b) Del test de cicatrización

- Extracto hidroalcohólico total de *Peperomia scutellaefolia R. et P.*
- 96 ratones albinos machos, cepa Balb C 53, de 2 meses de edad, 25 + 2.8 g de peso.
- Dinamómetro (equipo de tensión con arena).
- Neomicina, bacitracina, glicina, L - cisteína, DL - treonina, (Cicatrín).
- Gel Carbopol 940, trietanolamina, propilenglicol, y H₂O desionizada.
- Crema depilatoria Opilca.
- Pentobarbital sódico (Halatal, medicamento veterinario)
- Estiletes N° 11, jeringa y agujas para inyección intraperitoneal, material de vidrio diverso.

c) De la evaluación Histológica.

- Tejidos con cicatrizaciones experimentales (muestra obtenida inmediatamente a la muerte de los animales)
- Advanced grade microscopes. Marca: Beltec scientific. Model L2000A.
- Sistema de video-microscopía con conexión a PC. Beltec scientific. Modelo 480B.
- Micrótomos (con cuchillas de acero, produce cortes de 5 - 10 micrómetros de espesor).
- Formaldehído (10%), agua destilada, parafina, xilol; mezcla de colorantes hematoxilina-eosina para histología, albúmina, glicerina, bálsamo de Canadá.
- Láminas portaobjetos y cubreobjetos, pinzas y otros.

III.2- METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS

III.2.1 DEL ESTUDIO BOTÁNICO

III.2.1.1 Clasificación sistemática.

Fue determinada según el sistema de clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchior, en 1964. Dicha clasificación se realizó en el Museo de Historia Natural “Javier Prado” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

III.2.1.2 Descripción macroscópica y microscópica de la especie.

Se escogieron plantas completamente desarrolladas en etapa de floración, el estudio morfológico externo se hizo examinando la planta en directo y utilizando un estéreomicroscopio para observar la inflorescencia.

Para el estudio anatómico se realizaron cortes transversales a mano libre de hoja, pecíolo, y tallo, los cuales fueron observados en microscopio óptico.

Corte transversal de la hoja, las muestras usadas en el seccionamiento transversal de la hoja fueron retiradas de la porción comprendida entre el nivel medio y el tercio inferior de la lámina foliar, en la porción seleccionada, se realizaron los cortes de la nervadura principal y de las secundarias. Estos cortes fueron observados directamente, y también fueron aclarados con NaClO (20%), y coloreados con verde de malaquita. Luego fueron montados en láminas portaobjetos con gelatina glicerizada. Estas láminas fueron observadas a 40x, 100x, y 400x aumentos. Las imágenes fueron microfografiadas con un sistema de video-microscopía con conexión a PC.

Corte transversal del pecíolo, la porción media del pecíolo, fue incluida en médula de saúco, para poder realizar el corte con navaja. Estos cortes fueron observados directamente a 100x aumentos, con el mismo equipo mencionado anteriormente.

Corte transversal del tallo subterráneo, el tallo es cortado en cuatro partes simétricas, debido a su forma esférica, a partir de una de estas secciones se elaboraron los cortes con navaja. Estos cortes fueron aclarados con NaClO (20%) y coloreados con safranina alcohólica (1%), y montados en las láminas de vidrio, para su posterior observación y microfografiado.

III.2.2 DEL ESTUDIO QUÍMICO

III.2.2.1 Recolección, secado, molienda y extracción de los metabolitos secundarios de la especie.

Los tallos subterráneos; crecen de manera silvestre en los distritos de Namora, Encañada, y Llacanora, en la provincia de Cajamarca, a una altitud entre 3000 y 4000 m.s.n.m. la recolección, se realizó en el mes de septiembre cuando la especie se encontraba en etapa de floración. *Peperomia scutellaefolia R. et P.* crece en tierra seca y rocosa; el tallo subterráneo se encuentra entre 1 - 2 cm. bajo tierra.

. Estos ejemplares fueron confrontados con los del Herbario del Museo de Historia Natural “Javier Prado” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se continuó con la limpieza exterior del material recolectado: se lavó cada tallo subterráneo (cormo); con agua corriente y una escobilla retirando todo residuo de tierra y las raíces laterales, luego se escurrió y estabilizó con alcohol etílico. Se desecaron los tallos y fueron molidos en un molino de cuchillas, y tamizado con malla N°3, obteniéndose un polvo seco y homogéneo.

El polvo seco fue macerado en solución hidroalcohólica (EtOH 96° G.L.) por 7 días en oscuridad, luego fue filtrado con una gasa, el líquido filtrado fue concentrado, resultando el **extracto hidroalcohólico total**; a partir de este extracto se separaron cuatro fracciones por flash chromatographic. (cromatografía en columna rápida)

Para realizar la separación por **flash chromatographic** (cromatografía en columna rápida), se pesaron 5 g. del extracto hidroalcohólico bruto, se agregaron 5g de Kieselgel 0.05 – 0.2 mm (para cromatografía en columna), se mezcló hasta homogeneizar. Esta mezcla fue depositada en un embudo Buchner, sobre un papel Wathman, encima se coloca otro papel, el equipo es armado según esquema, y con ayuda de la bomba de vacío, los solventes van extrayendo los metabolitos, en orden de polaridad creciente, empezando por el n-hexano (húmedo), siguió el cloroformo, el metanol y finalmente el agua, se utilizaron 100 mL de cada solvente. Estos extractos fueron concentrados obteniéndose finalmente: fracción n-hexánica (húmeda), fracción clorofórmica, fracción metanólica, y fracción acuosa.

III.2.2.2 Marcha de solubilidad y marcha fitoquímica.

Marcha de solubilidad: En 4 tubos de ensayo se colocó una pequeña porción del extracto hidroalcohólico total de los tallos subterráneos y se le agregó a cada uno 2 mL del solvente respectivo H₂O, MeOH, CHCl₃, y n-hexano, se agita y se observan los resultados.

Marcha fitoquímica: Se realizaron las siguientes reacciones químicas preliminares en el extracto hidroalcohólico total:

Reacción con FeCl₃ (1 % en H₂O) – Es característica para compuestos fenólicos resultan coloraciones verdes a marrón para derivados de catecol, y coloraciones azuladas para derivados de pirogalol.

Reacción con gelatina / NaCl (1g de gelatina + 100 ml H₂O + 10g NaCl) - Un precipitado abundante indica presencia de taninos.

Reacción de Shinoda – En una lamina para reacción a la gota, se deposita una solución poco coloreada del extracto vegetal, se agregan pequeños trozos de Mg. metálico y gotas de HCl concentrado, las coloraciones que se generan indican la presencia y tipo de flavonoide. En la Tabla N°1 se encuentran las coloraciones características de los flavonoides frente a la reacción de Shinoda.

Reacción de Dragendorff (Yoduro de Bismuto y Potasio) – Un precipitado o coloración rojo naranja, indica presencia de alcaloides.

Reacción de Mayer (Yoduro de Mercurio y Potasio) - Un precipitado blanco inmediato, indica presencia de alcaloides.

Índice afrosimétrico o prueba de la espuma - Para detectar la presencia de saponinas; en un tubo de ensayo, se depositan 0.5 g del extracto vegetal, y 10 mL de agua destilada. Agitar por 30 segundos, se considera positiva si la altura de la espuma es mayor a 5 mm después de los 15 minutos de su aparición.

Reacción de Liebermann–Burchard - A 1 mg del extracto se le agregan pocas gotas de ácido acético + 3 ml de Ac₂O/H₂SO₄ (50:1). Una coloración verde ó azul verdoso (vía rojo ó azul), indica presencia de un núcleo esterooidal o triterpenoidal.

III.2.2.3 Análisis cromatográfico.

Los extractos obtenidos a partir de la cromatografía en columna rápida, se controlaron por cromatografía en capa fina analítica, usándose como soporte cromatoplacas de sílica gel F60 de 20 cm x 20 cm, de 2 mm de espesor. Como fases móviles se utilizan mezclas de solventes, detalladas mas adelante. Estas placas fueron reveladas con: Rvo. Dragendorff, Rvo. FeCl_3 , Rvo. Liebermann–Burchard, H_2SO_4 concentrado, luz UV de 254 nm y 366 nm. Se realizaron sucesivas cromatografías a escala preparativa, y se consiguió separar las fracciones en componentes individuales para su posterior evaluación espectrofotométrica.

III.2.2.4 Análisis espectrofotométrico.

Después de ser aisladas fueron analizadas 7 fracciones por espectroscopia ultravioleta y espectroscopia infrarroja provenientes de los extractos metanólico y n-hexánico. El espectro UV de las fracciones fue leído en MeOH, y el espectro infrarrojo en láminas de NaCl.

El método completo de extracción de productos naturales aplicado en esta investigación se encuentra detallado en la Fig. N°6.

III.2.3 ESTUDIO FARMACOLÓGICO.

III.2.3.1 Elaboración y aplicación de la encuesta etnofarmacológica.

El cuestionario utilizado fue la ficha de referencias etnobotánicas según Alban, 1985 (53); al cual se añadieron algunas preguntas de interés, que fueron:

- ¿Usa la planta sola, o con otros recursos?
- ¿Cómo aprendió lo que sabe sobre plantas medicinales?
- ¿Cómo obtiene las plantas medicinales?
- ¿Usa medicamentos de marca, junto con plantas medicinales? ; ¿Cuándo?

Resultando 13 preguntas sobre la planta medicinal y su importancia en la medicina tradicional de Cajamarca. (Anexo N°1)

La zona específica de trabajo fue la provincia de Cajamarca que se encuentra en la parte sur del departamento de Cajamarca, abarcando una extensión de 4 898 Km², limita con el departamento de La Libertad y las provincias de Contumazá, San Pablo, Hualgayoc, Celendín, San Marcos y Cajabamba. La capital es la ciudad de Cajamarca situada a 2700 m.s.n.m. de altitud. El clima es seco templado, soleado durante el día y frío en las noches, la temperatura media anual es de 13.2 °C (máxima media: 21.4°C y mínima media: 5°C), la estación de lluvias de diciembre a marzo. (14). Figura N°7.

Para realizar las entrevistas, se utilizaron estímulos visuales como el material vegetal fresco, y también fotos de la planta completa.

Los participantes fueron tomados al azar considerando como únicos requisitos, que fueran personas adultas y habitantes de la zona en estudio. De esta forma se logro entrevistar a las personas que practican la medicina tradicional en Cajamarca (curanderos, curiosos, yerberos, herbolarios) y a la población en general.

Con este cuestionario, se ha recopilado información sobre los nombres vernáculos, usos, preparación, vías de administración, formas de aplicación, parte empleada de la planta, y también la clasificación popular de las plantas medicinales en: Cálido, Cordial, y Fresco:

Cálido.- ‘Se utiliza cuando se tiene una dolencia que genera frío en el cuerpo (sensación); estas plantas son cálidas porque compensan esta sensación y dan calor cuando se las usa.’

Cordial.- ‘Una planta Cordial, no genera frío ni calor, pero repone el equilibrio del cuerpo, son usadas en muchas enfermedades.’

Fresco.-‘Son plantas que refrescan, cuando se tiene una dolencia que hace sentir quemazón, dan sensación de frescura.’

Aunque los datos obtenidos, no son representativos con respecto al número de habitantes, se intentó incrementar la credibilidad considerando las aplicaciones medicinales de la planta Munyu Munyu, en los siguientes casos:

– El colector experimentó directamente su uso.

- El informante usó u observó su uso.

- El informante escuchó o conoce de sus ancestros el uso de la planta.

III.2.3.2 Preparación de los extractos y geles.

(1) **Preparación del extracto hidroalcohólico total:** Se trabajo con el extracto hidroalcohólico total, obtenido por los procedimientos ya detallados en III.2.2.1.

(2) **Preparación de los geles:**

(i) Se preparo una suspensión coloidal de Carbopol 940 al 1% en agua desionizada. Con 24 horas de anticipación para lograr una buena hidratación, esta solución coloidal tiene un pH=3,0.

(ii) Para la incorporación del principio activo se efectúa la disolución de este en una fracción de la solución coloidal, se agregaron unas gotas de propilenglicol, con esto se consiguió solubilizar el extracto y proteger de la deshidratación al gel.

(iii) Finalmente se neutraliza con gotas de trietanolamina (99%); homogeneizando hasta que adquiera características de gel o pH = 6.5 (46).

(iv) Con este procedimiento se prepararon los siguientes tratamientos gel al 5% P/P, gel al 10% P/P, gel al 20% P/P, gel al 30% P/P, y gel solo.

III.2.3.3 Test de cicatrización

Fundamento: Se fundamenta en la adición de la fuerza de tensión (medida en gramos), necesaria para abrir una herida de 1 cm. de longitud producidas en el lomo de ratón. Modelo de referencia de Howes et al. (37).

Forma de Dosaje: Con el extracto hidroalcohólico total seco, se prepararon geles al 5%, 10%, 20%, 30%, P/P en una base bioadhesiva de ácido poliacrílico (Carbopol 940) al 1%.

Técnica Operatoria: Se utilizó el método de Vaisberg y col (2). 96 ratones albinos machos, cepa Balb C 53, de 2 meses de edad, 25 + 2.8 g de peso ratones albinos, provenientes del bioterio del Centro nacional de producción de biológicos, fueron distribuidos al azar en 8 grupos de 12 cada uno. Se mantuvieron en observación por 48 horas, verificándose la condición optima de los ratones para el estudio, luego se les depiló la mitad inferior del lomo, después de 24 horas, al no observarse irritaciones en la piel, se realizaron incisiones de 1 cm. de longitud en el tercio inferior del lomo, paralelo a la columna lumbar.

Posteriormente se administraron los tratamientos cada 12 horas por 72 horas, reservando al grupo control que no recibió tratamiento. Se mantuvo la misma alimentación, ventilación, y T° en todos los grupos. Después de las 72 horas se sacrificaron los animales con una sobredosis de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal; luego se realizó la medición de los gramos (g), necesarios para abrir cada herida cicatrizada con un

Elaboración y formato en Pdf, por la Oficina General de Sistema de Bibliotecas y Biblioteca Central.

dinamómetro (utilizándose arena en el dinamómetro, para generar la fuerza de tensión sobre la herida).

III.2.3.4 Histología de los tejidos (preparación tisular)

Las muestras de tejido con cicatrices experimentales fueron obtenidas inmediatamente a la muerte de los animales, seccionando un área de 2 cm ancho x 2.5 cm largo, estos tejidos fueron sujetados cuidadosamente en trozos de tecnopor, para evitar el enrollamiento natural del tejido separado, y depositados en una solución de formaldehído amortiguado neutro al 10% para lograr la **Fijación** que conserva una imagen del tejido, como si estuviera vivo, luego vienen la **Deshidratación** con soluciones de concentraciones crecientes de etanol y el **Aclaramiento** del tejido (se vuelve transparente) con xilol, después, para poder hacer los cortes se realiza la **Infiltración** o inclusión en parafina, formándose un bloque sólido, la etapa siguiente es el **Corte** que se realiza en un micrótopo, a continuación se hace el **Montaje** en una lamina portaobjetos cubierta con un material adherente (albúmina de huevo), luego se retira la parafina restante con xileno, después se realiza la **Tinción** en este caso con hematoxilina-eosina, después se **Rehidrata** con soluciones de concentraciones decrecientes de etanol, de modo que pueda fijarse con un medio de montaje como el bálsamo de Canadá, que tiene un índice de refracción similar al del vidrio, se cubre con un cubreobjetos y se sella con esmalte transparente. (54)

En la Fig. N°8 se encuentra el diagrama de flujo completo de la presente investigación, donde se puede observar el orden secuencial de los procedimientos anteriormente expuestos.

IV.- RESULTADOS

IV.1 DEL ESTUDIO BOTÁNICO DE LA PLANTA

IV.1.1 Clasificación sistemática. La clasificación sistemática de esta especie no pudo ser ubicada en la literatura disponible a partir de los nombres vernáculos recolectados, por este hecho tuvo que ser clasificada en el Museo de Historia Natural “Javier Prado”, según el sistema de clasificación de Engler & Prantl, modificado por Melchior en 1964, como sigue:

DIVISIÓN:	ANGIOSPERMAE
CLASE:	DICOTILEDÓNEAS
SUBCLASE:	ARQUICLAMIDEAS
ORDEN:	PIPERALES
FAMILIA:	PIPERACEAE
GENERO:	<i>PEPEROMIA</i>
ESPECIE:	<i>Peperomia scutellaefolia R. et P.</i>
Nombre Vulgar:	Munshu-Munshu.
Anexo N°2	

Según esta clasificación la especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, pertenece al genero *Peperomia*. Según otros taxonomistas, existe la Familia Peperomiaceae. Esta familia agruparía unas 1000 especies en 4 géneros: *Peperomia*, *Manekia*, *Piperanthera*, y *Verhuellia*.

El Australian National Botanical Garden (13) de Australia, considera la taxonomía de las especies del género *Peperomia* de la siguiente forma:

Subclass Dicotyledonae; Crassinucelli.
Dahlgren's Superorder Nymphaeiflorae; Piperales.
Cronquist's Subclass Magnoliidae; Piperales.
Takhtajan's Subclass Magnoliidae; Magnolianae; Piperales.
Genera; *Manekia*, *Peperomia*, *Piperanthera*, *Verhuellia*

Se observó que el género *Peperomia*, puede ser ubicado en la literatura como perteneciente a la familia Piperaceae ó también como familia Peperomiaceae.

IV.1.2 Descripción macroscópica y microscópica de *Peperomia scutellaefolia R. et P.*

Es una planta herbácea, el tallo es subterráneo, de forma generalmente esferoide, achatado en la parte superior e inferior. Aunque también puede ser algo cilíndrico o alargado en algunos ejemplares, especialmente en las plantas más viejas. En general es bastante semejante a una papa pequeña pero sin yemas laterales, puede medir hasta 4 cm. de diámetro y 3 cm. de altura, posee pequeñas raíces que suelen desarrollarse a partir de la mitad inferior del tallo. En la parte superior tiene una yema, como una hendidura, a partir de ahí se desarrolla el escape. Anexo N°3: Foto N°1 (planta completa)

Con hojas peltadas de color verde brillante en el haz y color rojizo el envés, totalmente glabras, de forma elíptica a redonda, de hasta 2 cm. de diámetro, margen liso, con una ligera emarginación al final de la nervadura principal, la nervadura principal parte del punto de inserción del pecíolo, que puede insertarse desde el centro de la lamina foliar, hasta los 2/3 de la hoja, las ramificaciones de la nervadura son todas tenues y se observan solo en el envés.

Los pecíolos son largos, y delgados, midiendo entre 3 hasta 7 cm. de largo y aproximadamente 1.0 mm. de diámetro, son glabros, de color rojizo, excepto en la porción inferior donde se unen al tallo que son amarillo muy claro. Anexo N°3: Foto N°2 (hoja peltada)

Las inflorescencias son espadiciformes, miden hasta 6 cm. de largo, de flores diminutas, color verde claro, el pedúnculo es apenas diferente del pecíolo y mide entre 3 – 8 cm., también es de color rojizo y cambia a amarillo justo antes de empezar la espádice, cuando las flores son inmaduras se observan 2 brácteas opuestas de color rojizo oscuro, conforme van madurando las flores, las brácteas cambian su color a crema, y las flores adultas se ubican en la parte inferior de la espádice.

En la inflorescencia se observan tres zonas: inferior de flores maduras, que adquiere color amarillo; intermedia, de flores con brácteas redondas a ovaladas pegadas a la flor, de color rojizo oscuro; y superior, de flores inmaduras, que aún no desarrollan brácteas coloreadas, son muy pequeñas y apiñadas unas a otras. Anexo N°3: Foto N°3 y N°4. (inflorescencia)

Distribución, identificación botánica y herborización: Se ha verificado que la especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.* es una especie silvestre de la sierra norte del Perú, de las provincias de Cajamarca y Celendín.

Con relación a la fenología se observó que florece entre los meses de julio a octubre; cuando el invierno es muy frío los cormos no desarrollan partes aéreas y quedan latentes hasta el próximo año.

Descripción histológica de la hoja:

a)- Del pecíolo: Presenta epidermis simple constituida por células cutinizadas, algunas de ellas más grandes e intercaladas sobresaliendo del contorno del pecíolo, no presenta tricomas. Debajo de la epidermis existen 2-3 capas de tejido colenquimático; donde ~~se observó la presencia de células especializadas que contienen un pigmento violeta~~

Elaboración y formato en Pdf, por la Oficina General de Sistema de Bibliotecas y Biblioteca Central.

(antocianinas), que proporciona el color rojizo al pecíolo. El tejido colenquimático es continuado por 5-6 capas de células parenquimatosas redondeadas sin uniformidad en sus diámetros. La zona vascular presenta el xilema en forma concéntrica, externamente se sitúa el floema. Anexo N°4: Foto N°5.

b)- De la lamina foliar: Presenta una fina capa cuticular lisa sobre la epidermis superior que es pluriestratificada y esta compuesta por 4 o 5 filas de células con dimensiones irregulares; que ocupan casi $\frac{1}{2}$ del grosor de la lamina foliar seguidamente se encuentra el parénquima en empalizada en 2-3 capas seguido por 4 ó 5 capas del parénquima clorofiliano donde se observan células especializadas conteniendo antocianinas, este pigmento le da el color rojizo al envés de las hojas... En todo el mesófilo se observaron idioblastos (con contenido amarillo e hidrosoluble); y algunos cristales de oxalato de calcio. La epidermis inferior presenta una capa de células. Las laminas foliares son totalmente glabras. Anexo N°4: Foto N°6 y N°7.

c)- Descripción del tallo subterráneo: Presenta peridermis (capa suberosa), seguido por la zona cortical que presenta células conteniendo cristales de oxalato de calcio; otras células presentaron contenido de color amarillo, se observaron también abundantes gránulos de almidón en toda la estructura caulinar. Seguidamente la zona medular contiene células parenquimatosas de forma cilíndrica, más grandes que las de la zona cortical, y con menos espacios intercelulares, además presenta menor cantidad de cristales. Anexo N°4: Foto N°8, N°9, N°10, N°11, N°12 y N°13.

IV.2 ESTUDIO QUÍMICO.

IV.2.1 De la marcha de solubilidad y de la marcha fitoquímica.

Tabla N° 5: RESULTADOS DE LA MARCHA DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO TOTAL.

Solvente	Solubilidad
n – Hexano (húmedo)	+
Cloroformo	+
Metanol	+++
Agua	++

Tabla N° 6: RESULTADOS DE LA MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO TOTAL.

Metabolito Secundario	Resultado
Alcaloides	+++
Flavonoides	++
Saponinas	-
Taninos	++
Esteroides y/o Triterpenos	+
Compuestos Fenólicos	+++

Simbología:

- (-) No detectable.
- (+) Poco o escaso.
- (++) Moderado
- (+++) Abundante

De las reacciones químicas preliminares, realizadas sobre el extracto hidroetanólico total; se observó que la especie contiene:

- (1) Compuestos fenólicos (flavonoides, taninos, etc.)
- (2) Alcaloides.
- (3) Otros compuestos de tipo esteroides y/o triterpenoides, pero en menor cantidad.

IV.2.2 Del análisis cromatográfico.

Se realizaron cromatografías de las fracciones resultantes del flash chromatographic o cromatografía rápida (III.2.2.1).

1)- Fracción metanólica:

Tabla N°7:

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN METANÓLICA TOTAL

(Sistema de solventes: CHCl₃:MeOH (15:1))

Fracción	Rf	Visible	Luz UV ($\lambda = 254 \text{ nm.}$)	FeCl ₃	Dragendorff
F. met. I	0.05	marrón beige	fluorescencia púrpura amarillo	+	+
F. met. II	0.20	beige	fluorescencia verde amarillo	+	+
F. met. III	0.27	beige claro	fluorescencia verde intenso	+	+
F. met. IV	0.41	beige claro	fluorescencia azul blanco	-	+
F. met. V	0.73	no observable	fluorescencia púrpura	+	+
F. met. VI	0.81	no observable	fluorescencia celeste	-	+
F. met. VII	0.92	crema beige	fluorescencia verde blanco	+	-

Anexo N°5. Foto N°13.

a) La fracción metanólica-I (tabla N°7) con $R_f=0.05$, se ha eluído, concentrado y cromatografiado con un sistema de solventes: EtOH : H₂O (3 : 1), obteniéndose el siguiente resultado:

Tabla N°8:
CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN METANÓLICA I.
(Sistema de solventes: EtOH : H₂O (3 : 1))

Fracción	Rf	Luz UV ($\lambda=254$ nm.)
F. metanólica I - 1	0.20	fl. púrpura
F. metanólica I - 2	0.33	fl. púrpura amarilla
F. metanólica I - 3	0.55	fl. azul celeste
F. metanólica I - 4	0.80	fl. verde celeste

La fracción metanólica I – 1 con $R_f=0.20$, se ha eluído, concentrado y cromatografiado con un sistema de solventes EtOH : H₂O (3 : 1), obteniéndose el siguiente resultado:

Tabla N°9:
CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN METANÓLICA I-1.
(Sistema de solventes EtOH : H₂O (3 : 1))

Fracción	Rf	Visible	Luz UV ($\lambda=254$ nm.)	FeCl ₃	Dragendorff
F. met. I – 1.1	0.31	beige claro	fl. púrpura azulina	+	+
F. met. I – 1.2	0.58	no observable	fl. verde	-	-
F. met. I – 1.3	0.89	beige oscuro	fl. naranja	+	+

Anexo N°5.Foto N°14.

La fracción metanólica I-1.1 se ha eluído, concentrado y cromatografiado. Seguidamente se realizaron lecturas en los espectro UV-visible e IR.

b) La fracción metanólica III (ver tabla N°7), con $R_f=0.27$ se ha eluido, concentrado y cromatografiado en sistema de solventes: CHCl_3 : MeOH (10:1) obteniéndose el siguiente resultado:

Tabla N°10:

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN METANÓLICA III.

(Sistema de solventes CHCl_3 : MeOH (10 : 1))

Fracción	Rf	Luz UV ($\lambda = 254 \text{ nm.}$)
F. metanólica III - 1	origen	fl. naranja
F. metanólica III - 2	0.62	fl. azulina
F. metanólica III - 3	0.72	fl. rosada
F. metanólica III - 4	0.80	fl. púrpura celeste
F. metanólica III - 5	0.90	fl. verde naranja

La fracción metanólica III-5 fue eluida y concentrada. Seguidamente se realizaron lecturas en los espectro UV-visible e IR.

c) La fracción metanólica V (tabla N°7), con $R_f=0.73$; se ha eluido, concentrado y cromatografiado en sistema de solventes: B.A.W. (ter-butanol, ácido acético, agua); (4:1:5). Obteniéndose el siguiente resultado:

Tabla N°11:

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN METANÓLICA V

(Sistema de solventes: B.A.W. (ter-butanol, Ác. acético, H_2O); 4:1:5)

Fracción	Rf	Luz UV ($\lambda = 254 \text{ nm.}$)
fracción metanólica V - 1	$R_f = 0.63$	fluorescencia celeste intensa
fracción metanólica V - 2	$R_f = 0.80$	fluorescencia amarilla verde - púrpura

Las fracciones metanólicas V-I y V-2 se eluyeron y concentraron. Seguidamente se realizaron lecturas en los espectros UV-visible e IR.

2.- Fracción n-hexánica: El extracto obtenido con el n-hexano húmedo, se ha cromatografiado con sistema de solventes: CHCl_3 :MeOH (20:1). Obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla N°12:

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN n-HEXÁNICA.

(obtenida con n-hexano húmedo)

(Sistema de solventes: CHCl_3 :MeOH (20:1))

Fracción	Rf	Visible	Luz UV ($\lambda=254$ nm.)	FeCl ₃	Liebermann Burchard	H ₂ SO ₄ +Luz UV ($\lambda=254$ nm)
F. Hex. I	0.79	beige	fl. amarillo	+	-	amarillo
F. Hex. II/III	0.89	beige claro	fl. verde celeste	+	+	azul intenso
F. Hex. IV	0.92	beige	fl. púrpura	+	-	púrpura

Anexo N°5. Foto N°15.

a) La fracción n-hexánica-I, se ha eluido con MeOH y con el liquido concentrado seguidamente se realizaron lecturas en los espectros UV-visible e IR.

b) La fracción n-hexánica-II/III, se ha eluido primero con CHCl_3 , obteniéndose la fracción n-hexánica III (soluble en CHCl_3); seguidamente la fracción n-hexánica II/III se ha eluido con MeOH obteniéndose la fracción n-hexánica-II (soluble en MeOH). Ambas fracciones fueron concentradas por separado y se realizaron lecturas en los espectros UV-visible e IR.

c) La fracción n-hexánica-IV, se ha eluido con MeOH, concentrado y seguidamente se realizaron lecturas en los espectros UV-visible e IR.

3.- Extracto cloroformico

Tabla N°13:

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN CLOROFORMICA.

(Sistema de solventes CHCl_3 :MeOH (15:1))

Fracción	Rf	Visible	Luz UV ($\lambda=254$ nm.)	FeCl ₃	Liebermann Burchard	H ₂ SO ₄ +Luz UV($\lambda=254$ nm)
F. Clorof. I	0.85	beige amarillo	fl. amarillo verde	+	+	amarillo verde
F. Clorof. II	0.95	beige marrón	fl. celeste brillante	+	+	celeste intenso

Anexo N°5. Foto N°16.

4.- Extracto acuoso

Tabla N° 14:

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN ACUOSA

(Sistema de solventes CHCl_3 : MeOH (5:1))

Fracción	Rf	Visible	Luz UV ($\lambda = 254 \text{ nm.}$)	Rvo. FeCl_3	Rvo. Dragendorff
F. Aq. I	0	marrón	fl.púrpura	(+) violeta naranja	(+) marrón
F. Aq. II	0.14	marrón claro	fl.verde - naranja	(+) violeta oscuro	(-)
F. Aq. III	0.25	beige amarillo	fl.púrpura celeste	(-)	(+) rojo cereza
F. Aq. IV	0.36	naranja beige	fl.amarillo brillante	(-)	(-)
F. Aq. V	0.45	no visible	fl.verde claro	(-)	(+) naranja claro
F. Aq. VI	0.55	beige naranja	fl.púrpura oscuro	(+) azul oscuro	(+) naranja rojizo
F. Aq. VII	0.62	beige naranja	fl.rosado	(-)	(+) naranja claro
F. Aq. VIII	0.66	beige muy tenue	fl.amarillo blanco	(+) violeta claro	(-)
F. Aq. IX	0.77	beige claro	fl.púrpura - verde	(+) violeta oscuro	(+) naranja marrón
F. Aq. X	0.82	marrón claro	celeste	(+) azul marrón oscuro	(+) naranja marrón
F. Aq. XI	0.90	amarillo	púrpura	(+) morado tenue	(-)
F. Aq. XII	0.94	crema	fl. rosado	(+) marrón	(+) naranja brillante
F. Aq. XIII	0.99	beige marrón	fl. verde claro	(+) naranja	(+) marrón

Anexo N°5. Foto N°17.

IV.2.3 Elucidación estructural propuesta.

1. Fracción metanólica I-1.1 ; lecturas obtenidas:

Lectura en el espectro UV-visible: máx. I^{MeOH} : 236(h), 282, 314(h) nm.

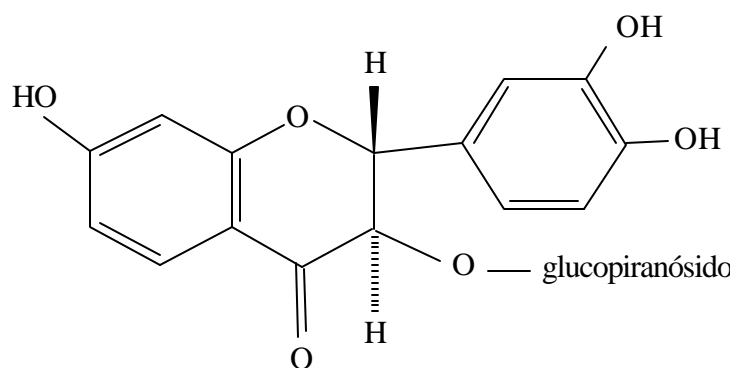
Lectura en el espectro IR: ν cm^{-1}

3409	(-OH, grupo hidroxilo)
1645	(>C=O, grupo carbonilo)
1074	(C-H aromático)
2850-3000	(-CH ₂ y -CH ₃ alifáticos)

Anexo N°6. Espectro N°1.

Comparando los espectros UV- visible del dihidroflavonol (+) fustin 3-o-glucopiranósido (lectura en el espectro UV-Visible: máx. I^{MeOH} : 234(h), 280, 311(h) nm; y la fracción metanólica I.1.1 (lectura en el espectro UV-visible: máx. I^{MeOH} : 236(h), 282, 314(h) nm, se observa similitud en los puntos de máxima absorción y en la forma de los espectros. Anexo N°7, Grafico N°1.

La fracción metanólica I-1.1 correspondería al dihidroflavonol glucosilado (+) fustin 3-O-glucopiranósido.



(+) **Fustin-3-O-glucopiranósido** (18)

2. **Fracción metanólica III-5**; lecturas obtenidas:

Lectura en el espectro UV-visible: máx. I^{MeOH} : 226, 282(h) nm.

Anexo N°6. Espectro N°2.

Lectura en el espectro IR: ν cm^{-1} 3427 (-O-H)

2952, 2926, 2840 (-CH₂ y -CH₃ alifáticos)

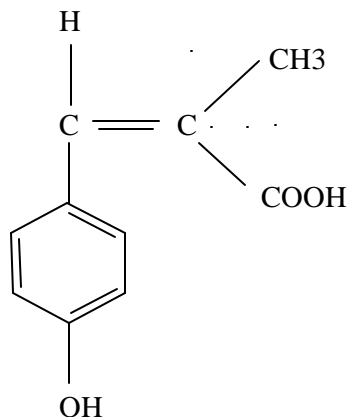
1644, 1729 (>C=O de ácido carboxílico)

1456 (-C=C- aromático)

970-1220 (-C-H aromático)

Anexo N°6. Espectro N°3.

Con los datos anteriores de los espectros UV-visible e IR, la fracción metanólica III – 5 correspondería a un compuesto fenólico monocíclico simple de tipo fenilpropanoide. (ácido-2-en-2-metil-3-p-hidroxifenilpropanoico)



Ácido-2-en-2-metil-3-p-hidroxifenilpropanoico

3. **Fracción metanólica V-1**; lecturas obtenidas:

Lectura en el espectro UV-visible: máx. I^{MeOH} 205(h), 258 nm.

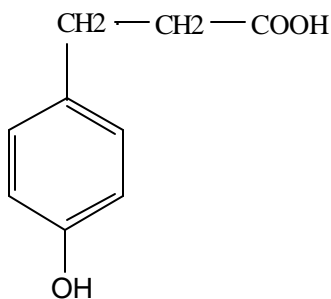
Anexo N°6. Espectro N°4.

Lectura en el espectro IR: $n\text{ cm}^{-1}$ 3416 (-OH)

1638 (>C=O, grupo carbonilo)

Anexo N°6. Espectro N°5.

La fracción metanólica V-1 correspondería un fenilpropanoide (ácido 3-fenilpropanoico)



Ácido 3-fenilpropanoico

4. **Fracción metanólica V-2**; lecturas obtenidas:

Lectura en el espectro UV-visible: máx. I^{MeOH} : 254, 297(h), 330(h) nm.

Anexo N°6. Espectro N°6.

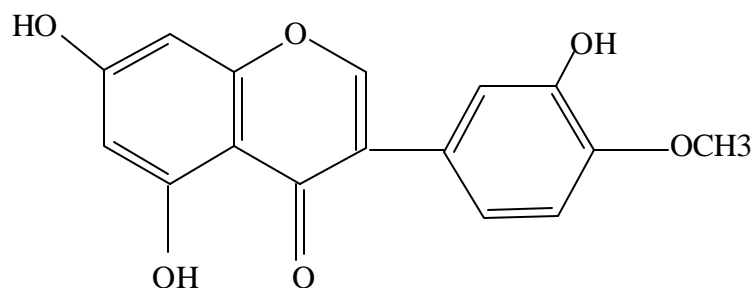
Lectura en el espectro IR: $n\text{ cm}^{-1}$ 3447 (-OH, grupo hidroxilo)

1638 (>C=O, grupo carbonilo)

Anexo N°6. Espectro N°7.

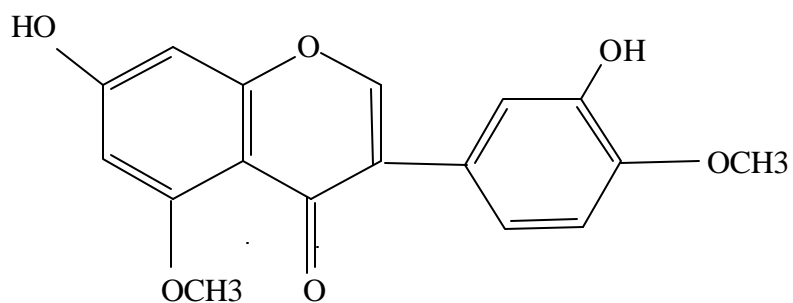
Por la forma del espectro UV-visible se trataría de una isoflavona, y comparando los valores de máxima absorción y la forma del espectro; la fracción metanólica V-2, correspondería a una isoflavona con estructura similar al pratensein (5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavona) cuyas lecturas en el espectro UV-visible son:

máx. \mathbf{I}^{MeOH} : 262, 292(h), 330(h) nm. Anexo N°7, Grafico N°2.



Pratensein (18)

La fracción metanólica V-2, sería la isoflavona 7,3'-dihidroxi-5,4'-di-metoxi-isoflavona la presencia del grupo $-\text{OCH}_3$ en el anillo A (C5) provoca un desplazamiento hipsocrómico en la banda II.



7,3'-dihidroxi-5,4'-di-metoxi-isoflavona

5. **Fracción n-hexánica-I;** lecturas obtenidas:

Lectura en el espectro UV-visible: I^{MeOH} máx. nm.256, 283(h), 330(h).

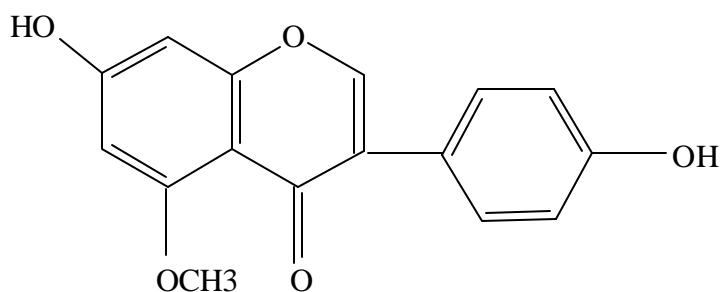
Anexo N°6. Espectro N°8.

Lectura en el espectro IR: $n\text{ cm}^{-1}$

2923	(-OH)
1748	(>C=O)
1463	(deform. C=C, aromático)
1372	(estiramiento C-O, de fenoles)
717, 705	(C-H aromático)

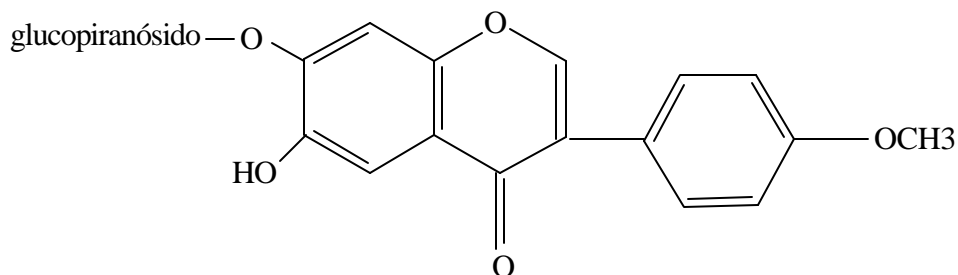
Anexo N°6. Espectro N°9.

Comparando los valores máximos de absorción y la forma del espectro de la fracción n-hexánica-I con los correspondientes al genistein-5-metil-eter, cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} :256, 283(h), 317(h) nm. Anexo N°7, Gráfico N°3.



Genistein-5-metil-eter (18)

La fracción n-hexánica-II correspondería a la isoflavona texasin 7-O-glucopiranosido (6-hidroxi-7-O-glucopiranosil-4'-metoxiisoflavona)



Texasin 7-O-glucopiranosido (18)

7. **Fracción n-hexánica III**; lecturas obtenidas:

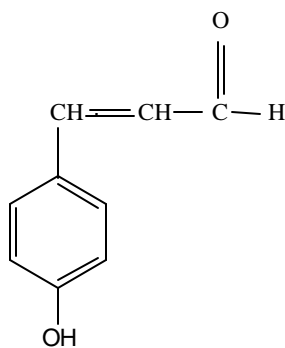
Lectura en el espectro UV-visible: λ ^{MeOH} máx. nm.264, 318(h), 335(h).

Lectura en el espectro IR: ν cm⁻¹

2909	(-C-H de aldehído)
1722	(>C=O, grupo carbonilo)
1457	(C=C, aromático)

Anexo N°6. Espectro N°12.

Observando los espectros UV e IR de la fracción n-hexánica III; este compuesto correspondería a un fenilpropionaldehído (2-en-3-fenil-propionaldehído)



2-en-3-fenil-propionaldehído

8. **Fracción n-hexánica IV**; lecturas obtenidas:

Lectura en el espectro UV-visible: máx. I^{MeOH} : 267, 326 nm.

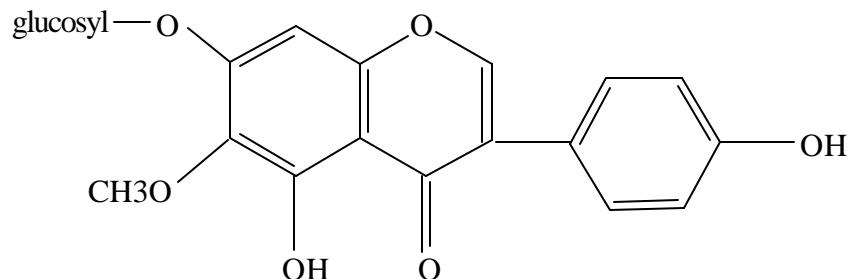
Anexo N°6. Espectro N°13.

Lectura en el espectro IR: ν cm^{-1}

3429	(-OH)
2962-2845	(C-H)
1645	(>C=O)
1457-1372	(C=C, aromático)

Anexo N°6. Espectro N°14.

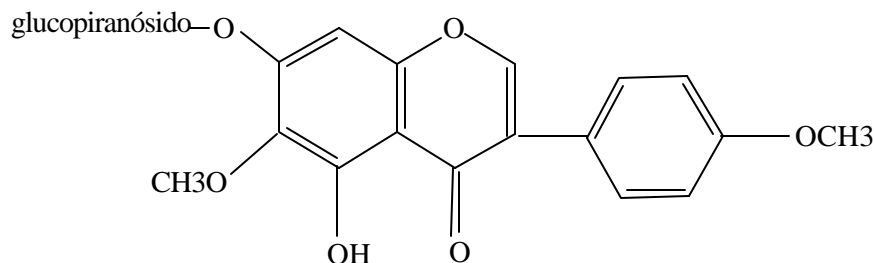
Comparando los valores de absorción y la forma de los espectros de la fracción n-hexánica-IV, con los del tectoridin:



Tectoridin (18)

Cuyas lecturas en el Espectro UV-Visible son: máx. I^{MeOH} : 266, 331 nm. La fracción n-hexánica-IV tendría una estructura de isoflavona muy similar pero podría tener un grupo -metoxi (-OCH₃) en 4', lo que generaría un desplazamiento hipsocrómico en el espectro. Anexo N°7, Grafico N°5.

La fracción n-hexánica-IV, correspondería al 5-hidroxi-7-O-glucopiranosido-6,4'-di-metoxiisoflavona.



5-hidroxi-7-O-glucopiranosido-6,4'-di-metoxiisoflavona.

IV.3 DEL ESTUDIO FARMACOLÓGICO.

IV.3.1 Sinonimia, distribución geográfica e información etnofarmacológica de la especie.

Se verificó el crecimiento de la especie *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en la provincia de Cajamarca; anteriormente fue reportada su existencia en la provincia de Celendín (32), y en Arequipa (8).

La información etnofarmacológica, fue obtenida en los distritos de Cajamarca, Encañada, Namora, Llacanora y Baños del Inca; se encuentra descrita el área de investigación en las Figura N°7.

Los nombres vernáculos para *Peperomia scutellaefolia* R. et P. en el área de estudio son:

- Munshu – Munshu
- Munyu – Munyu
- Papita de San Pedro
- Michuacan
- Munyu hembra (los tallos pequeños)
- Munyu macho (los tallos grandes)

Se realizaron 60 encuestas, Anexo N°1, en la zona y población descritas en III.2.3.1 respectivamente; los resultados obtenidos fueron:

-50% de los entrevistados manifestaron conocer la planta Munyu - Munyu. La especie crece de manera silvestre preferentemente alejada de las carreteras, en terrenos secos y rocosos; ubicándose entre 2600 – 3300 m.s.n.m. La planta Munyu-Munyu, es utilizada exclusivamente con fines medicinales en la sierra norte del Perú, su aplicación es tanto interna como externa, la utilizan algunas veces seca, pero preferentemente fresca; sola o con otras plantas descritas más adelante; preparando papillas o infusiones. La planta es muy conocida entre curanderos, curiosos, y yerberos; que la califican como de calidad: 'Fresca' (ver III.2.3.1); ellos la recolectan del campo, nunca la cultivan; la población la adquiere de los yerberos en los mercados y también es proporcionada por los curanderos.

Las personas que practican la medicina tradicional manifestaron haber aprendido de sus ancestros y por experimentación, también mencionaron que a veces usan medicamentos de marca con plantas medicinales; generalmente en enfermedades que a corto plazo pondrían en riesgo la vida del paciente por ejemplo en: hemorragias, fiebres; bronquios; e infecciones gastrointestinales.

La población entrevistada (dividida en porcentajes) manifestó que el uso de

Peperomia scutellaefolia R. et P. esta dirigido a aliviar las siguientes dolencias:

- 28% “Hipocóndria o Pocóndria”: Presentan dolor en el pecho, latidos desordenados, ‘parece que se va a salir el corazón’.
- 24% “Pena”: ‘Intensos dolores de cabeza, pena, y tristeza; acompañado de dolor en el pecho, y se forma un bulto en el estomago’.
- 20% “Estómago”: ‘El estómago salta, y parece que tuviera un bulto en la barriga’, ardor y espasmos en el estómago, inflamación con dolor.(“quema y duele la boca del estomago”)
- 7% Utiliza la planta en heridas de la piel en forma de preparados tópicos, otras personas manifestaron realizar lavados vaginales en ‘mujeres que tienen hijos’; con preparados a base de Munyu-Munyu, debido a su poder cicatrizante y antimicrobiano.
- 6% “Sangre”. Sirve para ‘limpiar la sangre’, cuando tienen debilidad y malestar general.
- 4% Diarreas. En infecciones gastrointestinales, recomiendan utilizar conjuntamente con medicamentos de marca.
- 2% Hígado e inflamaciones internas, dolor y ardor en las vísceras. Munyu-Munyu es utilizada para cualquier inflamación interna en forma de ensaladas y papillas.
- 2% Es utilizado para el “susto de los niños”: El niño llora mucho, presenta falta de apetito, vómitos, fiebre, y adelgazamiento sin un motivo aparente. Munyu-Munyu es utilizado conjuntamente con otras ‘hierbas y rezos’.
- 2% Vesícula inflamada.
- (Tabla N°15).

Tabla N°15: INFORMACIÓN ETNOFARMACOLOGICA DE
Peperomia scutellaefolia R. et P.

1) **_Indicaciones: Enfermedad cardiaca “Hipocóndria ó Pocóndria”**

Localidad	Parte utilizada	Preparación	Administración
Encañada	Hojas y tallo	‘Picar hojas y 1 o 2 tallos; dar un hervor y mezclar con corazón de huanchaco caliente’.	Comer esta sopita en las mañanas. Una vez por día por 8 días.
Encañada/ Cajamarca.	Tallo subterráneo	‘Chancar 1 tallo con agua tibia’	Comer esta papilla tibia.
Encañada	Hojas y tallo	‘Chancar hojas y 1 o 2 tallos frescos con agua tibia, luego colar’.	Beber este líquido.
Encañada	Tallo subterráneo	‘Chancar con agua caliente y colar’	Tomar este liquido caliente
Encañada	Tallo subterráneo	‘Trozar y dar un hervor’	Ingerir con líquido.
Encañada/ Huajcariza	Tallo subterráneo	‘Chancar 1 tallo mediano con agua caliente, y colar’.	Tomar 1 copita en ayunas.
Huanchupuquio	Hojas y tallo	‘Picar todo y después moler con agua tibia (como una papilla)’	Comer esta papilla en ayunas.
Cajamarca	Tallo subterráneo	‘Moler el tallo y mezclar con agua de claveles caliente, luego colar’.	Tomar caliente, una copita en ayunas por una semana.

2) **_Indicaciones: “Pena”**

Localidad	Parte utilizada	Preparación	Administración
Huanchupuquio/ Namora	Tallo y hojas.	‘Chancar 1 tallo fresco, colar y mezclar con agua bien caliente’.	Tomar bien caliente por 5 a 8 días.
Huanpucancha baja	Tallo subterráneo.	‘El tallo fresco chancar con verbena, agregar agua caliente y colar’.	Tomar este líquido caliente y en ayunas.
Cataz	Tallo subterráneo.	‘Chancar tallo con agua caliente y colar’.	Tomar este líquido caliente y en ayunas.
Encañada	Tallo subterráneo.	‘Chancar dos tallos con agua caliente y colar’.	Tomar aún caliente, por 5 días.

3) _ Indicaciones: Gastritis y/o enfermedad inflamatoria. “Estomago inflamado, quema y duele la boca del estomago, puede formarse un bulto en la barriga”.

Localidad	Parte utilizada	Preparación	Administración
Encañada	Tallo subterráneo	‘Moler un tallo mediano con agua tibia’.	Comer esta papilla tibia.
Cajamarca, Riplajalca Huanchupuquio	Tallo subterráneo.	‘Chancar con agua caliente, luego colar’.	Beber 1 copita caliente en ayunas.
Cajamarca	Tallo subterráneo.	‘Picar 1 o 2 tallos medianos y hervir con cebada y cáscara de papa, luego colar’.	Tomar una taza tibia y en ayunas, por 5 días.
Llacanora	Tallo subterráneo	‘Picar en cuadritos con Salta perico agregar agua bien caliente. Aparte hervir Uña de gato, colar y mezclar todo’.	Tomar 1 taza caliente en ayunas.
Cajamarca	Tallo subterráneo	‘Picar el tallo y darle un hervor con agua, luego colar’.	Tomar este liquido, cuando duele el estomago.

4) _ Indicaciones : Inflamaciones internas (hígado, riñones)

Localidad	Parte utilizada	Preparación	Administración
Llacanora	Tallo subterráneo.	‘Picar en cuadritos con Lengua de ciervo y Flor blanca; mezclar con agua bien caliente, reposar y colar’.	Tomar en ayunas tibio.
Huajcariza/ Cajamarca	Tallo subterráneo	‘Moler 1 tallo fresco, mezclar con agua caliente y luego colar’.	Tomar una copita muy temprano, en ayunas, por 8 días.

5) _ Indicaciones: Heridas y lavados vaginales.

Localidad	Parte utilizada	Preparación	Administración
Cajamarca	Hojas	‘Secar las hojas y moler’	Aplicar como polvo sobre la herida.
Cajamarca	Tallo subterráneo	‘Picar 2 tallos con Llantén y Pie de perro, darle un hervor a todo, y colar’.	Realizar lavados vaginales diarios, en mujeres con partos recientes.
Encañada	Tallo subterráneo	‘Chancar 2 o 3 tallos con Champca y Brinca-brinca, reposar con agua muy caliente y luego colar’.	Mezclar con agua hervida tibia para lavados vaginales y para lavar heridas.
Encañada	Tallo subterráneo	‘Chancar 2 tallos hervir con Romero y Flor blanca, colar todo y mezclar’.	Lavar las heridas con este líquido tibio.

		con agua hervida’.	
--	--	--------------------	--

6) _ Indicaciones: “Para limpiar la sangre”, cuando tienen malestar y debilidad general.

Localidad	Parte utilizada	Preparación	Administración
Encañada	Tallo subterráneo	‘Chancar 2 tallos y dar un hervor, algunos no lo hierven, lo mezclan con agua tibia’.	Comer esta papilla.
Cajamarca	Tallo subterráneo	‘Picar 2 o 3 tallos, hervir, colar, y endulzar con miel de abeja’.	Tomar una tacita caliente, en ayunas y para dormir, por 1 semana.

7) _ Indicaciones: Diarreas.

Localidad	Parte utilizada	Preparación	Administración
Encañada	Tallo subterráneo	‘Picar 2 tallos con Carapacocha y Landacushma, dar un hervor y colar’.	Tomar tibio, como agua de tiempo.
Namora	Tallo subterráneo	‘Chancar 2 o 3 tallos, y dar un rápido hervor’.	Ingerir esta papilla, con líquidos.

8) _ Indicaciones: “Dolor de vesícula inflamada”.

Localidad	Parte utilizada	Preparación	Administración
Llacanora	Tallo subterráneo	‘Picar y dar un hervor. Aparte hervir Uña de gato, colar y mezclar’.	Tomar en ayunas, tibio.

9) _ Indicaciones: “Susto de los niños”.

Localidad	Parte utilizada	Preparación	Administración
Namora	Tallo subterráneo	‘Moler 1 tallo con agua tibia, y colar’.	Hacer beber un vasito, al niño cuando se siente mal.

IV.3.2 Del test de cicatrización.

Los resultados del test de cicatrización, descrito en III.2.3.3, se encuentran expresados en la tabla N°16 y la figura N°9.

Tabla N°16: RESULTADOS DEL TEST DE CICATRIZACIÓN (MÉTODO TENSIOMÉTRICO)

TRATAMIENTO	N	Valor medio (g)	Desviación estándar (g)	Error estándar (%)	Eficacia de cicatrización (%)	Significancia (p)
Lesión no tratada	10	15.9	1.7288	0.5467	7.10	P>0.05
Gel	10	20.5	2.0683	0.6540	9.10	P>0.05
Gel 5%	10	54.6	1.7764	0.5617	24.25*	P<0.0001
Gel 10%	10	40.6	4.5509	1.4391	18.03*	P<0.0001
Gel 20%	10	44.3	4.7621	1.5059	19.70*	P<0.0001
Gel 30%	10	47.6	4.4522	1.4079	21.14*	P<0.0001
Cicatrín	10	43.6	2.6331	0.8327	19.36*	P<0.0001
Piel intacta	10	225.2	12.2547	3.8753	100.00	P<0.0001

donde:

- (i) **N**, es el número de medidas para cada grupo
- (ii) **Valor medio (g)**, es el promedio de gramos necesarios para abrir la piel cicatrizada experimentalmente, es tomado a partir de las diez medidas de cada tratamiento.
- (iii) **Desviación estándar**, indica la dispersión o heterogeneidad entre las diez medidas de la resistencia de las heridas.
- (iv) **Error estándar**, expresa el % de error, para el cálculo del valor medio.
- (v) **Eficacia de cicatrización**, se calcula tomando como referencia ó como 100% al número de gramos necesarios para abrir la piel intacta. Según la siguiente formula:

$$\text{(\% Eficacia de cicatrización)} = \frac{\text{(gramos necesarios para abrir la cicatriz tratada)} \times 100}{\text{(gramos necesarios para abrir la piel intacta)}}$$

IV.3.3 De los cortes histológicos.

1- Corte histológico de piel intacta: Observando de fuera hacia dentro, se encuentra a la epidermis donde la capa más externa es el estrato corneo conformado por células queratinizadas, continua el estrato lucido, debajo se encuentra el estrato granuloso cuyas células contienen gránulos de queratohialina aun sin liberar, continua el estrato espinoso donde las células tienen formas puntiagudas y contienen queratinocitos, luego continua la capa germinativa o estrato basal sus células son lábiles y tienen actividad mitótica durante toda la vida, en esta capa es donde se generan las células epidérmicas. Seguidamente viene la dermis, compuesta por la capa papilar y la capa reticular.

La capa papilar de tejido laxo; se encuentra inmediata a la epidermis presenta fibras elásticas tenues escasas y delgadas, aquí se encuentran las prolongaciones epidérmicas de los folículos pilosos, glándulas sebáceas, vasos sanguíneos, y también los clavos interpapilares o conexiones entre dermis y epidermis.

La capa reticular posee menor densidad celular que la capa papilar; tejido conectivo mas denso, presenta fibras colágenas más gruesas, las células están mas separadas, también presenta vasos sanguíneos. Después de la dermis se encuentra una capa de tejido adiposo llamada hipodermis este tejido tiene vasos sanguíneos, aquí también se observa el origen de los folículos pilosos y glándulas sebáceas. Anexo N°8: FotoN°19

2- Corte histológico de cicatriz experimental sin tratamiento: Se observa abundante presencia de fibrina; existe incipiente proliferación y migración celular. Anexo N°8: Foto N°20.

3- Corte histológico de cicatriz experimental tratada con gel de *Peperomia scutellaefolia R. et P.* al 5%: Se observa presencia de fibrina (costra), que esta por ser expulsada; el tejido epidérmico regenerado va engrosándose bajo la nueva epidermis y a los lados del corte hay abundante tejido de granulación que ha llenado el espacio de la incisión y esta compuesto por capilares en neoformación; fibroblastos y macrófagos, hay fibras de colágeno presentes en los márgenes de la herida. Anexo N°8: Foto N°21.

4- Corte histológico de cicatriz experimental tratada con gel de *Peperomia scutellaefolia R. et P.* al 5%: Los bordes de la epidermis aumentaron de grosor por la actividad mitótica de las células basales. Se observa angiogenesis, presencia de macrófagos, abundantes fibroblastos (células alargadas con núcleos pequeños y oscuros), y fibras de colágeno (sonrosadas) a los lados del defecto. Puede observarse que la zona reparada no tiene clavos interpapilares, ni folículos pilosos o anexos, ya que estas estructuras nunca se regeneran. Anexo N°8: Fotos N°22 y N°23.

5- Corte histológico de cicatriz experimental tratada con gel de

***Peperomia scutellaefolia R. et P.* al 10%:** Las células epidérmicas basales han proporcionado una solución de continuidad con tejido conectivo denso. Hay infiltrado inflamatorio linfomononuclear. La fibrina ya se ha desprendido. Anexo N°8: Fotos N°24 y N°25.

6- Corte histológico de cicatriz experimental tratada con gel de *Peperomia scutellaefolia R. et P.* al 20%: Se observó agrupamiento de células inflamatorias a predominancia linfomononuclear, con proliferación de células fibroblásticas; presencia de fibrina, y colágeno incipiente, también se observa angiogenesis (regeneración de los capilares). Anexo N°7: Fotos N°26 y N°27.

7- Corte histológico de cicatriz experimental tratada con gel de *Peperomia scutellaefolia R. et P.* al 30%: Se observa angiogenesis (neoformación vascular), se observa colágeno en los bordes de la herida, y células inflamatorias. El tejido epidérmico ha formado una solución de continuidad; debajo de la epidermis, se produce la reparación mediante tejido de granulación. Anexo N°7: Fotos N°28 y N°29.

8- Corte histológico de la cicatriz experimental tratada con Cicatrín (medicamento comercial): Se observa que hay continuidad en la piel, gran proliferación celular, reparación por tejido de granulación, angiogenesis y presencia de colágeno en los lados del defecto. Bajo la gruesa epidermis, hay fibroblastos abundantes (como células alargadas), y otras células de la dermis; también se observan pocos leucocitos (macrófagos) cuya función es eliminar el tejido necrótico y fibrina. No hay hematomas ni infección, la costra ya se ha desprendido. Anexo N°7: Fotos N°30 y N°31.

V.- DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

Como se ha indicado en la tabla N°2, la literatura reporta que en Perú las especies: *Peperomia galioides* H.B.K., *Peperomia nivalis* Mig., *Peperomia flavamenta* Trel., *Peperomia sp.*, *Peperomia inaequalifolia*, *Peperomia rubioides*, *Peperomia verticilata* Dietr., *Peperomia microphylla* H.B.K., *Peperomia rotundata* H.B.K., y *Peperomia scutellaefolia R. et P.*; son comúnmente utilizadas como medicamentos en la sierra y selva (1), (3), (4), (7), (22-32). La presencia de flavonoides, alcaloides, quinonas, entre otros metabolitos secundarios contenidos en el género *Peperomia*, explicarían el porqué de sus actividades terapéuticas. (3-6), (16).

En el ámbito mundial numerosas plantas del género *Peperomia* son cultivadas, comercializadas y exportadas como plantas ornamentales, en países como: Cuba, Jamaica, Filipinas, España, Colombia, etc. Las especies del género *Peperomia*, como: *Peperomia variegata*, *Peperomia obtusifolia*, *Peperomia argyreia*, *Peperomia caperata*, entre otras, actualmente se encuentran en venta *on-line*. De la misma forma, debido al uso ornamental de estas especies se encuentra información acerca de: problemas fisiológicos, enfermedades comunes, problemas fungales, problemas virales, problemas con insectos y similares; además de información referente a su cuidado tales como luz y posición, temperatura, riego, abonado, cuidado estacional, tierra, entre otros; para las *Peperomias* más comunes. (9), (10), (12), (55).

En lugares como Puerto Rico, donde existen muchas especies tropicales entre ellas algunas *Peperomias*, se ha observado que debido a las actividades forestales y agrícolas, estas plantas se encuentran en peligro de desaparecer; tal es el caso de *Peperomia wheelerie*, que se encuentra sólo en Isla Culebra, donde la deforestación ha ido eliminando la vegetación, esto ha resultado en un medio ambiente más xérico, y erosión en algunas áreas, las cuales aun están forestadas. Además la presencia de aves domésticas genera un gran impacto en todas las áreas donde se encuentran las especies. Estas aves causan la destrucción del sustrato de humus; esencial para la reproducción y crecimiento de las *Peperomias*. Para solucionar este problema ha sido establecido un programa de propagación artificial (56). En Cajamarca, se ha observado la reducción de áreas con vegetación, por actividades como la minería y la ganadería. Sin embargo, en Perú no hay estudios que evidencien si alguna especie del género *Peperomia* se encuentra en peligro de desaparecer.

La literatura reporta el crecimiento de *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, en Cajamarca (32), Arequipa (8), y además en Ecuador (57). Se verifico que crece en las provincias de Cajamarca y Celendín; de manera silvestre, y que su población aparentemente disminuye por efecto de la agricultura, turismo y minería.

A pesar del gran potencial terapéutico y ornamental de las *Peperomias* en el Perú estas sólo crecen de forma silvestre, no hay reportes sobre estudios de propagación, potencial organogénico o similares en el género *Peperomia*, en cambio en países como Colombia; observando el potencial terapéutico, alimenticio y ornamental del genero se realizan estudios de propagación en *Peperomia sp.* evaluando el desarrollo de las estacas en diferentes sustratos líquidos o sólidos, y con o sin hormonas vegetales. (MAB young scientists awards 1999. UNESCO), (58).

La especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.* es conocida mayormente por el nombre de *Munyu-Munyu*, aparentemente el nombre *Munyu-Munyu* proviene del vocablo quechua *Muyu* que significa redondo y por repetición *Muyu-Muyu* significaría “bien redondo” en alusión a la forma esférica de los tallos subterráneos. Sin embargo otros pobladores quechua hablantes manifestaron, que *Munyu* significa ombligo, de acuerdo a estas afirmaciones el nombre *Munyu*, podría deberse al parecido del tallo subterráneo con el ombligo, ó tal vez porque la especie es usada para curar las heridas del cordón umbilical en recién nacidos, y también las heridas producidas por el parto en las mujeres.

La descripción macroscópica de la planta corresponde a la literatura disponible (8) y (12). Como características propias de la especie que permiten diferenciarlas de otras *Peperomias* similares como *Peperomia peruviana*, puede mencionarse: el pecíolo pigmentado, las hojas peltadas que tienden a adoptar forma de conos, brillantes en el envés. En el cormo (tallo subterráneo) se observa que las raíces se desarrollan a partir de la mitad inferior del tallo. Al ser cortado fresco el cormo despiden un olor característico que hace recordar al del kiñón, y las superficies son pegajosas al tacto.

Los caracteres microscópicos observados corresponden a los reportados para otras especies del género *Peperomia* (56). Las características reportadas de la hoja se observaron en 2 cortes histológicos: del pecíolo y de la lámina foliar. En la lamina foliar se observan características propias de la especie, como la epidermis pluriestratificada. Se observan también idioblastos (con contenido amarillo e hidrosoluble), además de algunos cristales de oxalato de calcio, la epidermis inferior presenta células que contienen pigmentos violetas. La lamina foliar es glabra en el haz y el envés. El corte histológico del pecíolo fue tomado de la parte media, donde se observaron células pigmentadas de violeta en la parte externa.

En caso de que la especie fuera comercializada fragmentada, se podría identificar por la peridermis, los abundantes cristales y las células con contenido amarillo hidrosoluble (probablemente flavonoides), características observables en el tallo subterráneo.

Con respecto al estudio fitoquímico de los extractos: la marcha de solubilidad, muestra que se obtendría una mayor cantidad de extracto vegetal utilizando una mezcla de solventes polares como MeOH + H₂O.

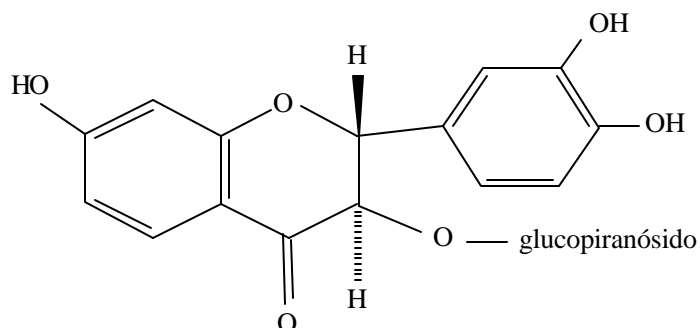
La marcha fitoquímica permite establecer que *Peperomia scutellaefolia R. et P.* contiene principalmente compuestos fenólicos (flavonoides, taninos, etc.). Esto concuerda con los datos reportados para otras especies del género *Peperomia* también presentes en el Perú. (6).

Los cromatogramas en capa fina de los extractos vegetales han mostrado que las fracciones metanólica y acuosa, poseen mayor interés por contener alcaloides y gran cantidad de compuestos fenólicos de tipo flavonoides.

De la evaluación espectrofotométrica de las fracciones aisladas se encontró que estas contenían flavonoides derivados del núcleo de la isoflavona (fracción metanólica V-2, fracción n-hexánica I, fracción n-hexánica II, y la fracción n-hexánica IV) y un derivado del núcleo del dihidroflavonol (fracción metanólica I.-1.1); estos compuestos se generan por la ruta biogenética del shikimato y del acetato-malonato. Además de los flavonoides hallados como tales, se encontraron sus precursores: los fenilpropanoides (fracción metanólica III-5, fracción metanólica V-1 y fracción n-hexánica III), que provienen de la ruta del shikimato. Figura N°10

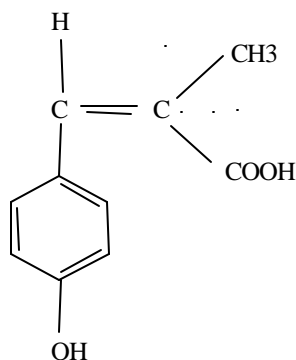
Se han propuesto 8 estructuras para los compuestos fenólicos hallados:

La fracción metanólica I-1.1 correspondería al dihidroflavonol glucosilado (+) Fustin 3-O-glucopiranosido, porque comparando el espectro UV- visible del dihidroflavonol (+) Fustin 3-O-glucopiranosido (disponible en la literatura, (18)); cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 234(h), 280, 311(h) nm; y la fracción metanólica I.1.1; cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 236(h), 282, 314(h) nm, se observa similitud en los puntos de máxima absorción y en la forma de los espectros. (Anexo N°7, Grafico N°1).



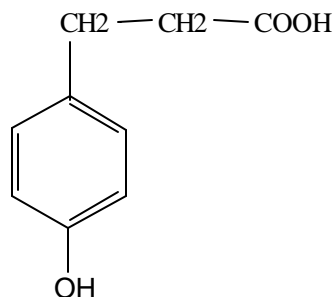
(+) Fustin-3-O-glucopiranosido

La fracción metanólica III – 5 correspondería a un compuesto fenólico monocíclico simple de tipo fenilpropanoide. (ácido-2-en-2-metil-3-p-hidroxifenilpropanoico), de acuerdo con los datos de los espectros UV-visible e IR (Anexo N°6, Espectros N°2 y N°3)



Ácido-2-en-2-metil-3-p-hidroxifenilpropanoico

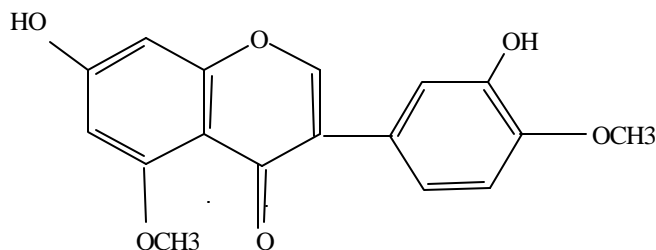
La fracción metanólica V-1 correspondería a un fenilpropanoide (ácido 3-fenilpropanoico), de acuerdo con los datos de los espectros UV e IR. (Anexo N°6, Espectros N°4 y N°5).



Ácido 3-fenilpropanoico

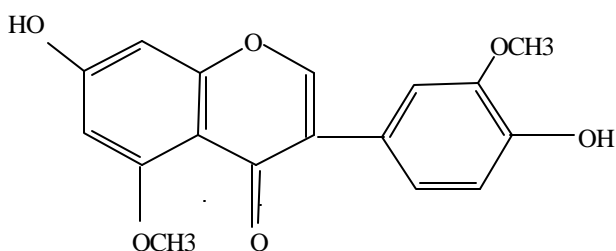
La fracción metanólica V-2, cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 254, 297(h), 330(h) nm, correspondería a una isoflavona (por la forma del espectro UV-visible) con estructura similar al pratensein (5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiisoflavona) cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 262, 292(h), 330(h) nm.

La fracción metanólica V-2, correspondería a la isoflavona 7,3'-dihidroxi-5,4'-di-metoxi-isoflavona; la presencia del grupo -OCH₃ en el anillo A (C5) provoca un desplazamiento hipsocrómico en la banda II. (Ver Anexo N°7, Grafico N°2)



7,3'-dihidroxi-5,4'-di-metoxi-isoflavona

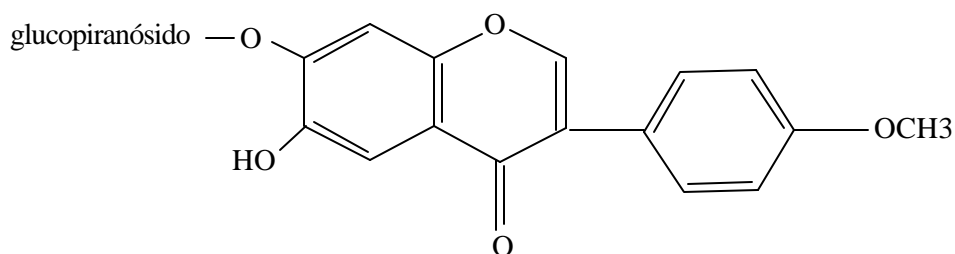
Fracción n-hexánica I; cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 256, 283(h), 330(h) nm, fue comparada con el genistein-5-metil eter (espectro disponible en la literatura (18)), cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 256, 283(h), 317(h) nm (Anexo N°7, Grafico N°3). Probablemente la estructura de la fracción n-hexánica-I, presenta un sustituyente -metoxi en 3'; el grupo -O-Me es donador de electrones lo que contribuye a la resonancia relativa de la molécula generando mayor estabilidad, menor energía libre y un incremento en la λ (desplazamiento batocrómico) correspondiente a la banda I (anillo B), resultando el 7,4'-dihidroxi-5,3'-di-o-metoxi-isoflavona



7,4'-dihidroxi-5,3'-di-metoxi-isoflavona

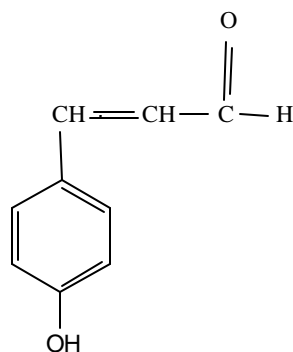
La fracción n-hexánica-II cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 259, 327 nm, fue comparada con la isoflavona texasin 7-O-glucopiranosido (espectros disponibles en la literatura (18)) cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 259, 326 nm. Se observa que son correspondientes. (Anexo N°7, Grafico N°4)

La fracción n-hexánica-II correspondería a la isoflavona texasin 7-O-glucopiranosido (6-hidroxi-7-O-glucopiranosil-4'-metoxiisoflavona)



Texasin 7-O-glucopiranosido

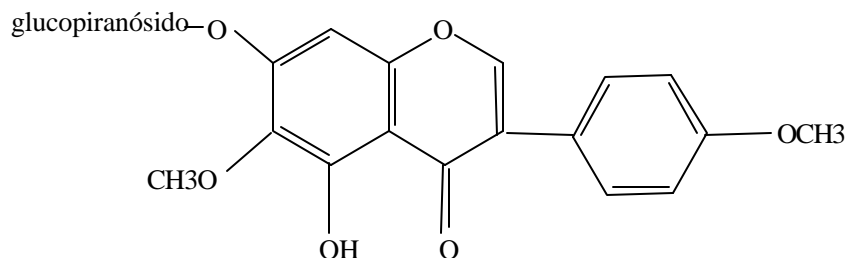
La Fracción n-hexánica III correspondería a un fenilpropanoide (2-en-3-fenil-propionaldehído), debido a los datos observados en los espectros UV e IR (Anexo N°6, Espectro N°12)



2-en-3-fenil-propionaldehído

La fracción n-hexánica-IV, cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 267, 326 nm, fue comparada con el tectoridin (espectro disponible en la literatura (18)) cuyas lecturas en el espectro UV-visible son: máx. I^{MeOH} : 266, 331 nm (Anexo N°7, Grafico N°5). La fracción n-hexánica IV tendría una estructura de isoflavona muy similar al tectoridin, pero podría tener un grupo -metoxi (-OCH₃) en 4', lo que generaría un desplazamiento hipsocrómico en el espectro.

La fracción n-hexánica-IV, correspondería al 5-hidroxi-7-O-glucopiranosido-6,4'-di-metoxiisoflavona.



5-hidroxi-7-O-glucopiranosido-6,4'-di-metoxiisoflavona.

De los ensayos para evaluar actividad cicatrizante se observó que todos los geles formulados a base del extracto de *Peperomia scutellaefolia R. et P.*; presentan actividad terapéutica como cicatrizantes externos, esto se refleja en una mayor velocidad de reparación en los primeros días de curación de la herida, posteriormente las heridas continúan con sus etapas normales de acumulación y remodelación del colágeno, para finalmente alcanzar una resistencia de aproximadamente el 80% de la de la piel intacta.. En orden de mayor a menor actividad se encuentran: gel 5%, gel 30%, gel 20%, y por ultimo el gel 10%.

Este efecto podría deberse a la presencia de flavonoides contenidos en las plantas de la familia Piperaceae, como reporta Villegas et al. (2), que investigó la actividad cicatrizante de *Peperomia galioides H.B.K* y Arroyo et al (41), que investigó la actividad cicatrizante de *Piper angustifolium*. Han sido demostrados los efectos: antiinflamatorio, antimicrobiano y cicatrizante, en otras especies del genero *Peperomia*, pero aun no existen estudios concluyentes que atribuyan estas actividades terapéuticas a algún compuesto químico específico.

El estudio histológico corrobora el estudio macroscópico; en todas las heridas se presenta una reacción natural cicatrizal; observándose una mayor cantidad de fibroblastos y neoformación vascular en las heridas tratadas con el gel al 5%; seguido por el de 30%, el de 20%, y el medicamento comercial, en orden de mayor a menor actividad cicatrizante; que se refleja en una mayor velocidad de cicatrización, frente a los otros tratamientos evaluados.

VI.- CONCLUSIONES.

1.- De la marcha fitoquímica realizada sobre el extracto hidroetanólico total de los tallos subterráneos de *Peperomia scutellaefolia R. et P.*; se observó que la especie contiene: flavonoides y taninos, alcaloides y otros compuestos de tipo esteroides y/o triterpenoides, pero en menor cantidad.

2.- Se han aislado ocho compuestos fenólicos de los cuales uno es derivado del dihidroflavonol, cuatro son derivados de la isoflavona y tres fenilpropanoides, de acuerdo a las bandas de absorción que presentan en el espectro UV y los grupos funcionales en el IR.

3.- La especie *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, si presenta actividad terapéutica como cicatrizante externo en la forma farmacéutica de gel. El tratamiento con mayor eficacia fue el gel al 5%, con un 24.25%, seguido por el gel al 30% con 21.14%, el gel al 20% con 19.20%, y por el gel al 10% con 18.03%. Tomando como valor referencial de 100% a la resistencia a la tensión de la piel intacta. Los cortes histológicos corroboran los resultados del test de cicatrización, al observarse una mayor reacción cicatrizal en las heridas experimentales tratadas con los geles preparados a base de *Peperomia scutellaefolia R. et P.*

Estadísticamente se observó que los niveles de resistencia a la tensión alcanzados con los tratamientos de *Peperomia scutellaefolia R. et P.*, presentan todos una diferencia significativa al ser comparados con el tejido no tratado, con una significancia de: $p < 0.0001$.

VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1)- Valdizan H, Maldonado A. La Medicina Popular Peruana. Tomo II. Lima – Perú: Editorial Torres – Aguirre; 1922.
- 2)- Villegas LF, Fernández ID, Maldonado H, Torres R, Zavaleta A, Vaisberg AJ, et al. Evaluation of the wound. - healing activity of selected traditional medicinal plants from Perú. J of Ethnopharmacol 1997; 55(3): 193 – 200.
- 3)- Mahiou V, Roblot F, Hocquemiller R, Cavé A. New Prenylated Quinones from *Peperomia galioides*. J. Nat. Prod. 1996, 59: 694 – 697.
- 4)- Estrella CC, Mesía PH. Estudio Fitoquímico y Comprobación del efecto tranquilizante de *Peperomia sp.*, Congona negra del departamento de Amazonas. (Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico). Lima – Perú: U.N.M.S.M.; 1999.
- 5)- Navindra P, Lewis A, Jacobs H, Nair M, McLean S, Reynolds W. Proctoriones A – C: 2-Acylcyclohexane – 1,3 – dione Derivatives from *Peperomia proctorii*. J. Nat. Prod. 2000, 63: 399 – 402.
- 6)- Lozano, N. y col. Estudio de las especies Peperomias de la familia Piperaceae. Scienta Omni. 1997, 1(3):71-81.
- 7)- Benavides PE. Contribución al estudio de los principios activos de la *Peperomia galioides* (tuna congona). (Tesis de Bachiller en Farmacia y Bioquímica).Lima – Perú: U.N.M.S.M; 1964.
- 8)- MacBride JF. Flora of Perú. Publication of Field Museum of Natural History. Botanical Series Vol. XIII, part II N°1.(Chicago – U.S.A.); 1937.
- 9)- www.guiaverde.com
- 10)- University of Hawaii. Description of Family Piperaceae. URL:<http://www.botany.hawaii.edu>
- 11)- Pons Rossell J. Anatomía Vegetal. Edic. Omega S.A., (Barcelona – España); 1959.
- 12)- www.peperomiapage.com
- 13)- Australian national botanical garden. Peperomia's description and Peperomia's taxonomy URL:<http://www.anbg.gov.au/angio/peperomi>
- 14)- Gran Enciclopedia del Perú : 280-281. Lexus editores. (España); 1998.
- 15)- Sengupta S, Ray AB. The chemistry of Genus Piper: a review. Fitoterapia. 1987, 58(3).

- 16)- Mahiou V, Roblot F, Hocquemiller R, Cavé A, Rojas de Arias A, Inchausti A et al. Prenylphenols from *Peperomia galioides*. J Nat Prod. 1995, 58:324-8.
- 17)- Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales.. (Lima-Perú) Fondo Editorial P.U.C.P.;1994
- 18)- Mabry T, Markham K and Thomas M. The Systematic Identification of Flavonoids. (New York). Springer Verlag; 1970.
- 19)- Angulo HP. La Medicina Tradicional en el desarrollo de Fitomedicamentos, el Enfoque Etnofarmacológico. (Lima – Perú). Editorial De Mar; 1997.
- 20)- Bruhn JC, Holmstedt B. Ethnopharmacology: objectives, principles and perspectives in Natural Products as Medical Agents. Eds. E. Reinhard & J.L. Beal. Hippocratic, Stuttgart; 1982
- 21)- Cotton C. Ethnobotany. Principles and applications. School of Life Sciences. Roehampton Institute London, UK. New York. U.S.A: JOHN WILEY & SONS; 1997.
- 22)- Cerrate VE. Plantas que curan las heridas del hombre y los animales. Boletín de Lima N° 3: Editorial Los Pinos E.I.R.L; 1979.
- 23)- Cuadros JM. Folklore Botánico Medicinal Arequipeño. 1ª Serie. (Arequipa – Perú). Tipografía Cuadros: 1940.
- 24)- Rossi CC. Determinación de la actividad antimicrobiana de 8 especies medicinales del Callejón de Huaylas. (Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico). Lima – Perú: U.N.M.S.M.; 1993.
- 25)- De Feo V. Medicinal and Magical Plants in the Northern Peruvian Andes. Fitoterapia. 1991; 62: 426 – 7.
- 26)- Falcon LB. Usos y comercialización de plantas medicinales en la ciudad de Huaraz. (Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico). Lima – Perú: U.N.M.S.M.; 1988.
- 27)- Rodríguez HL. Plantas Medicinales de Huacho, su screening Fitoquímico y su aplicación en la Medicina Popular. Peruana. (Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico). Lima – Perú: U.N.M.S.M.; 1987
- 28)- Salas ZE. Las plantas medicinales y sus usos tradicionales en la comunidad de Mallas, provincia de Huari, Ancash – Perú. (Tesis para optar al Título de Biólogo). Lima – Perú: U.N.M.S.M.; 2000.
- 29)- León J, Villanueva C. Estudio de la Actividad Antimicrobiana de tres especies de Peperomias y Determinación del efecto Antiinflamatorio de la *Peperomia galioides* H.B.K. (Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico). Lima – Perú: U.N.M.S.M.; 1995.

- 30)- Guzmán PE. Estudio Botánico y Farmacográfico de la *Peperomia nivalis* (Llame Cóndor). (Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico). Lima – Perú: U.N.M.S.M; 1941.
- 31)- Pallardel PT. Recursos Medicamentosos de la Medicina Tradicional Peruana. Medicina Rural y atención Primaria de la Salud. Anales del III Congreso Iberoamericano de Medicina Rural – Perú; 1982.
- 32)- Victoria TN, Solís PE. Comercialización y uso de plantas medicinales de Cajamarca y Celendín. (Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico). Lima – Perú: U.N.M.S.M.; 1990.
- 33)- Parakrama Chandrasoma, Taylor CR. Patología General. 2ª Edición. (México D.F.): Ed. Manual Moderno; 1998
- 34)- Kumar, Cotran RS, Collins. Patología Estructural y Funcional – Robbins. 6.ª ed. (México D.F.): Ed. Mc Graw – Hill Interamericana; 2000.
- 35)- Sabiston D. Tratado de Patología Quirúrgica. 14 edición. Vol. I. (U.S.A.): Editorial Interamericana. Mc Graw – Hill.; 1995.
- 36)- Robbins, Cotran RS, Kumar. Inflamación, Patología estructural y funcional. 4ª edición. Volumen I. (México D.F.): Editorial Interamericana; 1990.
- 37)- Howes E, Sooy J, Harvey S. The healing of wound as determined by their tensile strength. J.A.M.A. 1929; 42(5).
- 38)- Levenson SM, Geever EF, Crowley LV, Oates JF, Berard CW, Rosen H. The healing of rat skin wounds. Ann Surg. 1965; 161:293.
- 39)- Rovee DT, Miller CA. Epidermal role in the healing strength of wounds. Arch Surg. 1968; 96:43.
- 40)- Planas MC. Caracterización de la actividad biológica del alcaloide taspina del látex de Croton lechleri (Tesis de Bachiller en Ciencias). Lima-Perú: U.P.C.H.; 1984.
- 41)- Arroyo J, Pareja B, Raez J. Efecto cicatrizante del *Piper angustifolium* R. & P. sobre lesiones de piel inducidas en animales de Experimentación. Folia Dermatológica Peruana 1999; 10(1).
- 42)- Raimondi L, Banchelli G, Dalmazzi D, Mulinacci N, Romani A, Vincierri F et al. Sedum telephium L. Polysaccharide Content Affects MRC5 Cell Adhesion to Laminin and Fibronectin. J. Pharm. Pharmacol. 2000, 52; 585 – 591.
- 43)- Bonté F, Dumas M, Chaudagne C, Meybeck A. Activité comparée de l'asiaticoside et du madecassoside sur la synthese des collagènes I et III par des fibroblastes humains en culture. Ann pharmaceutiques francaises. 1995;53(1):38–42.

- 44)- Gonul B, Soylemezoglu T, Babul A, Celebi N. Effects of Epidermal Growth Factor Dosage Forms on Mice Full – thickness Skin Wound Zinc Levels and Relation to Wound Strength. J. Pharm. Pharmacol. 1998; 50: 641 – 4.
- 45)- Almeida I, Bahia MF. Geles – Aspectos Fundamentais. Revista portuguesa de farmácia. Ordem dos Farmaceuticos. 2000; L(3).
- 46)- Fauli I Trillo et al. Tratado de Farmacia Galénica. (Madrid – España): Luzan S.S.A. de Ediciones; 1993.
- 47)- Voigt R. Tratado de Tecnología Farmacéutica. (Zaragoza – España): Editorial Acribia; 1982.
- 48)- Industrial Biotest Laboratories. B. F. Goodrich Co., Human repeated insult patch test with two Carbopol samples. Report N° 636 – 03946; 1973.
- 49)- Scalzo M, Orlandi C, Simonetti N, Cerreto F. Study of Interaction Effects of Polyacrylic Acid Polymers (Carbopol 940) on Antimicrobial Activity of Methyl Parahidroxybenzoate Against Some Gram – negative, Gram – positive Bacteria and Yeast. J. Pharm. Pharmacol. 1996, 48: 1201 – 1205.
- 50)- Celebi N, Erden N, Gonul B, Koz M. Effects of epidermal growth factor Dosaje forms on dermal wound strenght in mice. J Pharm Pharmacol. 1994, 46:386-7.
- 51)- Gartner LP. Histología Texto y Atlas. (México D.F.): McGraw-Hill-Interamericana; 1997.
- 52)- Ross MH, Reith EJ, Rommell LJ. Histología Texto y Atlas Color. 2° ed. (México D.F.): Editorial Médica Panamericana S.A. de C.V.
- 53)- Alban CJ. Un registro de datos etnobotánicos. Boletín de Lima 1985; 7 (39): 93 – 6.
- 54)- Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. Texto/Atlas de Histología. 1° ed. (México D.F.): McGraw-Hill-Interamericana; 1990.
- 55)- Peperomia society. Peperomia's description. URL:<http://www.peperomia.net>
- 56)- Virginia Tech-Virginia State University. Endangered species: *Peperomia wheeleri*. URL: <http://fwie.fw.vt.edu>
- 57)- University of Texas. Características histológicas de la lamina foliar de Peperomia 2001. URL:<http://www.esb.utexas.edu>
- 58)- Cáceres A del P, Basto MS. Estudio ETNOBOTÁNICO preliminar respecto al uso y manejo de las plantas medicinales en la localidad de Suba-Humedal de la conejera. MAB Young scientist awards 1999. URL:<http://www.unesco.MAB>