



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

Estudio fitoquímico de la parte fija y volátil de la especie medicinal
***Peperomia galioides* Kunth.**

TRABAJO DE TITULACIÓN.

AUTORA: Luzuriaga Gahona, Tatiana Soledad.

DIRECTOR: Ramírez Robles, Jorge Yandry, PhD.

LOJA- ECUADOR

2018



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2018

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

PhD.

Jorge Yandry Ramírez Robles.

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: **Estudio fitoquímico de la parte fija y volátil de la especie medicinal *Peperomia galioides* Kunth**, realizado por **Tatiana Soledad Luzuriaga Gahona**, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, Febrero de 2018.

f).....

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo, **Tatiana Soledad Luzuriaga Gahona** declaro ser autora del presente trabajo de titulación: Estudio fitoquímico de la parte fija y volátil de la especie medicinal ***Peperomia galioides Kunth***, de la Titulación de Bioquímica y Farmacia, siendo PhD. Jorge Yandry Ramírez Robles director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

f.....
Autora: Luzuriaga Gahona Tatiana Soledad
Cédula: 1104412646

DEDICATORIA

Dedicado con todo mi corazón primeramente a Dios, por haberme guardado y guiado en el trayecto de mi carrera, siendo mi escudo y fortaleza en los momentos más difíciles y por hacer de este sueño una hermosa realidad.

A mi amado esposo Galito, por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y aunque hemos pasado momentos difíciles siempre ha estado a mi lado dándome todo su amor, confianza y comprensión incondicional, para conseguir mis metas.

A mis queridos padres Miguel y Lorena por su sacrificio, consejos y esfuerzo, por su inmenso amor, porque ellos han dado razón a mi vida, todo lo que soy es gracias a ellos. A mis hermanos Cecibel y Luis, por su gran cariño, brindándome su compañía y los mejores ánimos para alcanzar este sueño tan importante. A mis lindos abuelitos Melvita y Miguel por el apoyo dado y aunque ya no los tengo a mi lado, sé que desde el cielo me cuidan y se sienten orgullosos. A mis bellos sobrinos Matteo, Esteban y Joaquín por llenarme de alegría y ternura.

Tatiana Soledad Luzuriaga Gahona

AGRADECIMIENTO

Por siempre te daré las gracias mi Dios, tú has sido mi ayuda, mi consuelo, quien ha bendecido mi vida y por su omnipotencia a culminar con éxito mi carrera universitaria.

A mi esposito Galito, por su inmenso amor, gracias por tu paciencia y comprensión, por estar en los momentos más difíciles, hemos alcanzado un triunfo más porque los dos somos uno y mis logros son tuyos, tu eres el pilar principal en mi vida, me ayudaste hasta donde te era posible, incluso más que eso, muchas gracias amor.

A ustedes mis padres Miguel Enrique y María Lorena, porque con su sola presencia han sido el fundamento de mi vida, por sus consejos y palabras de apoyo, han sembrado los valores que se necesitan para seguir luchando por mis metas y por hacer de mí una mejor persona. Gracias a mi familia porque son lo mejor y más valioso que Dios me ha dado.

Quiero agradecer inmensamente a: Dr. Jorge Ramírez, Dr. José Montesinos, Mgtr. José Andrade y Mgtr. James Calva, que han dado lo mejor de sí, por su excelente colaboración y asesoramiento durante el desarrollo de la presente investigación, de su observación, revisión y de que el presente trabajo saliera de mejor forma posible, tiene mi eterna gratitud y mi aprecio.

A la Universidad Técnica Particular de Loja, en especial al Departamento de Química y Ciencias Exactas por haberme acogido y desarrollar mis destrezas, por el apoyo académico y económico que me manifestaron a lo largo de mi trayectoria universitaria.

Y finalmente a todas aquellas personas quienes sin esperar nada a cambio estuvieron a mi lado apoyándome y colaborándome para que este sueño se haga realidad. Gracias a todos por creer en mí, bendiciones.

Tatiana Soledad Luzuriaga Gahona

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA.....	i
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPITULO 1.....	6
MARCO TEÓRICO.....	6
1.1. Familia PIPERACEAE.....	7
1.2. Distribución geográfica de la familia Piperaceae.....	7
1.3. Uso de la familia Piperaceae.....	8
1.4. Actividades biológicas de la familia Piperaceae.....	9
1.5. Género <i>Peperomia</i>	9
1.6. Distribución geográfica del género <i>Peperomia</i>	9
1.7. Observaciones taxonómicas.....	10
1.8. Usos y aplicaciones del género <i>Peperomia</i>	10
1.9. Estudios fitoquímicos.....	11
1.10. Características botánicas de la especie <i>Peperomia galioides</i> Kunth.....	13
1.11. Aceite esencial.....	13
1.12. Cromatógrafo de Gases.....	15
1.12.1. Descripción de la técnica.....	15
1.12.1.1. Fase Móvil.....	15
1.12.1.2. Sistemas de Inyección.....	16
1.12.1.3. Columnas.....	16

1.12.1.4.	Sistema de detectores.....	16
1.13.	Cromatografía en Capa Fina.....	16
1.14.	Cromatografía en Columna.....	18
CAPÍTULO 2.....		20
MATERIALES Y MÉTODOS.....		20
2.1.	Metodología empleada.....	21
2.2.	Material Vegetal.....	21
2.3.	Extracción del aceite esencial.....	22
2.4.	Análisis Cromatográfico.....	23
2.5.	Análisis Cualitativo y Cuantitativo.....	24
2.6.	Obtención del Extracto en acetato de etilo.....	24
2.7.	Análisis del Extracto.....	24
2.8.	Fraccionamiento en columna.....	25
2.9.	Cromatografía en capa fina.....	26
2.10.	Unión de fracciones.....	26
CAPITULO 3.....		27
RESULTADOS Y CONCLUSIONES.....		27
3.1.	RESULTADOS.....	33
3.2.	CONCLUSIONES.....	35
3.3.	RECOMENDACIONES.....	36
3.4.	BIBLIOGRAFÍA.....	37
3.5.	ANEXOS.....	42

INDICE DE FIGURAS

Figura. 1. Distribución geográfica de la familia Piperaceae.....	8
Figura. 2. <i>Peperomia galioides</i> Kunth.....	13
Figura. 3. Cromatografía en Capa Fina.....	17
Figura. 4. Método para corrida de Cromatografía en Capa Fina.....	18
Figura. 5. Cromatografía en Columna.....	19
Figura. 6. Esquema de la metodología.....	21
Figura. 7. Selección de las partes aéreas de <i>Peperomia galioides</i> Kunth.....	22
Figura. 8. Destilación por arrastre de vapor.....	22
Figura. 9. Cromatógrafo de Gases Agilent 6890N.....	23
Figura. 10. Obtención del extracto: a) Secado, b) Pesado de hojas, c) Maceración estática, d)Filtración al vacío, e) Rotaevaporación y f) Extracto.....	24
Figura. 11. TLC fase inversa del extracto de acetato de etilo de <i>Peperomia galioides</i> Kunth, Metanol/AcOEt 9:1 (v/v).....	25
Figura. 12. TLC fase inversa del extracto de acetato de etilo de <i>Peperomia galioides</i> Kunth, Metanol/AcOEt 8:2 y 7:3 (v/v).....	25
Figura. 13. Cromatografía en columna.....	26
Figura 14. TLC de las fracciones obtenidas del extracto de acetato de etilo.....	26

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la especie <i>Peperomia galioides</i> Kunth.....	13
Tabla 2. Composición porcentual de los compuestos del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth.....	28
Tabla 3. Composición de la fracción PG16 del extracto de AcOEt de <i>Peperomia galioides</i> Kunth.....	33

ABREVIATURAS

Hex Hexano

AcOEt Acetato de etilo

MeOH Metanol

CDCl₃ Diclorometano

CC Cromatografía en columna

TLC Cromatografía en capa fina

UV Ultravioleta

Pf Punto de fusión

RT Tiempo de retención

RMN Resonancia Magnética Nuclear

CG-EM Cromatografía de gases acoplada a Espectroscopia de masas

CMI Concentración mínima inhibitoria

PGA Extracto de acetato de etilo

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la composición química del aceite esencial de la especie vegetal *Peperomia galioides* Kunth. El aceite esencial se obtuvo a partir de hojas frescas por destilación por arrastre de vapor. Además se obtuvo un extracto en acetato de etilo, a partir de las hojas secas. La identificación de los compuestos se realizó por cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de masas (CG-EM) y detector de ionización en llama FID, mediante comparación de índices de retención y espectros de masas, según datos de la literatura de Adams y Base de datos (Wiley 7.0). En la prueba cualitativa del aceite esencial se identificaron 62 compuestos que representan el 96,12% de la composición total del aceite. Siendo los sesquiterpenos hidrocarbonados los de mayor porcentaje con 72,96%, seguido de los sesquiterpenos oxigenados con 11,77%, los monoterpenos hidrocarbonados tuvieron 9,36%, los monoterpenos oxigenados 1,03%, otros compuestos el 1,00% y finalmente los no determinados el 3,88%. El Compuesto predominante (17,64%) es el Germacrene D. No se aisló ningún compuesto del extracto de acetato de etilo.

Palabras clave: *peperomia galioides*, aceite esencial, cromatografía de gases, destilación.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the chemical composition of the essential oil of the plant species called *Peperomia galioides* Kunth. The essential oil was obtained from fresh leaves by steam distillation. In addition, an extract in ethyl acetate. It was obtained from dried leaves. The identification of the compounds was conducted out by gas chromatography together with mass spectrometry (GC-MS) and flame ionization detector FID, by comparing of retention indexes and mass spectra, according to data from the Adams and database (Wylei 7.0). In the qualitative test of the essential oil, 62 compounds were identified that represent 96.12% of the total composition of the oil. The hydrocarbon sesquiterpenes being the highest percentage with 72.96%, follow by the oxygenated sesquiterpenes with 11.77%, the hydrocarbon monoterpenes had 9.36%, the oxygenated monoterpenes 1.03%, other compounds 1.00% and finally the undetermined 3.88%. The predominant Compound (17.64%) is Germacrene D. No compound was isolated from the ethyl acetate extract.

Key words: *peperomia galioides*, essential oil, gas chromatography, distillation.

INTRODUCCIÓN

Los productos naturales son una fuente importante de compuestos biológicamente activos contra diferentes microorganismos infecciosos, que se convierten en una alternativa para la introducción de nuevos compuestos con uso terapéutico (Cardona et al., 2013).

Los sistemas de medicina tradicional basados en plantas, han sido usados en todo el mundo durante miles de años. Estos sistemas continúan jugando un papel esencial en los cuidados de la salud de las personas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que aproximadamente el 80% de los 5200 millones de habitantes del mundo confía principalmente en la medicina tradicional para sus atenciones primarias, lo que implica que unos 3300 millones de personas usan plantas medicinales de forma regular. Por lo tanto, es necesario realizar un estudio de estas plantas para buscar la máxima seguridad y eficacia (Flores, 2006).

Por otra parte, debido a la limitada disponibilidad de productos farmacéuticos, la mayoría de la población donde las enfermedades parasitarias son endémicas depende en gran medida de la medicina tradicional para aliviar sus síntomas, haciendo uso de plantas nativas con las que se preparan extractos crudos, que se administran de forma oral y tópica para su tratamiento. Con este conocimiento y como parte de la búsqueda de nuevos medicamentos de fácil disponibilidad y baja toxicidad, la OMS dentro del Programa de Enfermedades Tropicales ha considerado la investigación de plantas utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de las enfermedades parasitarias como esencial y de alta prioridad (Flores, 2006).

Ecuador es un país mega-diverso, con más de 500 plantas medicinales, muchas de las cuales pueden ser usadas para fines de fabricación de productos beneficiosos de consumo. Actualmente se ha visto la necesidad de implementar en productos de utilización humana los productos naturales. Los aceites esenciales naturales son sustancias líquidas presentes en las plantas que poseen un sin número de propiedades benéficas y que los hacen atractivos para el desarrollo de diversos mercados (Bernal, 2012).

Una de las familias con mayor número de reportes de casos comprobados de actividad biológica de extractos y sustancias de origen vegetal para el control de arvenses, plagas y enfermedades en el sector agrícola es la Piperaceae, esto la convierte en una de las más promisorias para la búsqueda de extractos o compuestos que tengan aplicaciones en la solución de problemas fitosanitarios (Celis et al., 2010)

A través del tiempo, especies de la familia Piperaceae, han sido consideradas de importancia económica por su uso condimentario. Además, porque han demostrado significativas propiedades medicinales, etnofarmacológicas y como fuente de insecticidas naturales, lo cual justifica la bioprospección de estas especies (Jaramillo et al., 2015).

En varios países se utilizan los aceites esenciales de diferentes plantas, empleándolos como saborizantes de alimentos, carminativos, en perfumería y en la medicina. Además poseen propiedades antisépticas, antibacterianas, antimicrobianas y antifúngicas, éstas últimas han sido todas unas series de investigaciones. Indudablemente, la presencia de aceites esenciales en las especies previene el crecimiento excesivo de bacterias evitando así su descomposición (Rivera, 2008).

La investigación científica está orientada a la búsqueda de compuestos activos más efectivos contra los patógenos y a la vez más amigables con el medio ambiente, el ser humano y la entomofauna útil. Los aceites esenciales son considerados una alternativa prometedora para controlar el efecto de los agentes patógenos, incluyendo a los hongos (Scalvenzi et al., 2016).

El obtención de metabolitos secundarios bioactivos de las plantas es un tema de interés en la actualidad, el fin es buscar y conocer de donde provienen los diferentes mecanismos de su producción (biosíntesis) y la utilización de estos en las plantas para los diversos procesos que permiten su crecimiento (alimentación, mecanismos de defensa, interacción con el medio, entre otros) (Virinder et al., 1997)

Las técnicas utilizadas para el aislamiento y purificación de los metabolitos son las cromatográficas. La separación de los compuestos de las plantas en cromatografía en columna permite visualizar la purificación por diferentes bandas coloreadas.

Las plantas se caracterizan por su capacidad para producir diversos metabolitos secundarios, que han servido de guía para el perfeccionamiento de muchos fármacos de gran interés. Pero todavía existe la necesidad de agentes específicos para sanar ciertas enfermedades como: el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, lepra, las enfermedades infecciosas resistentes o la resistencia a antibióticos que aún no tienen un tratamiento adecuado.

La presente investigación se ha orientado al estudio plantas medicinales aromáticas de *Peperomia galioides* Kunth. El objetivo es aportar al estudio de aceites esenciales, sus propiedades y que su utilidad sea prometedora para diferentes aplicaciones con dicha especie vegetal. Debido a las referencias de esta familia dicha investigación permitirá comprobar las

propiedades que posee esta especie y de esta forma contribuir en el campo de la medicina utilizando nuestros propios recursos naturales y de esta manera ayudar al campo de la medicina desde una fuente natural.

Otro motivo es el estudio fitoquímico del extracto de la especie vegetal, ya que ha sido muy poco estudiado, pero tiene relevancia por pertenecer a la familia de las Piperaceae, que por diversos estudios se ha comprobado las muchísimas propiedades y aplicaciones que esta familia posee.

CAPITULO 1.

MARCO TEÓRICO

1.1. FAMILIA PIPERACEAE

La familia Piperaceae es conocida desde la antigüedad como una de las familias más grandes e importantes de Angiospermas del Orden Piperales; el género más representativo es el género *Piper*, el cual presenta gran diversidad de compuestos. Dada esta riqueza química y sus aplicaciones en la medicina tradicional, a muchos de los extractos y compuestos aislados en esta familia se les han realizado diversos ensayos de actividad biológica, obteniéndose resultados promisorios y que han permitido incluso confirmar sus usos etnobotánicos. (Celis, et al, 2010).

Las Piperáceas crecen en climas tropicales, subtropicales y templados; son hierbas o arbustos. Esta familia comprende 10 a 12 géneros, siendo los principales: *Piper* y *Peperomia*. (Navarro, 2004). También se incluyen: *Trianaepiper*, *Ottonia*, *Arctotonia*, *Macropiper*, *Manekia*, *Pothomorphea*, *Sarcorhachis*, *Verhuellia* y *Zippeli* (Jara, 2013).

Las principales características de la familia Piperaceae son las de ser arbustos y trepadoras leñosas de hojas alternas, a menudo con glándulas de aceites aromáticos, en ocasiones algo carnosas. Flores pequeñas, bisexuales o unisexuales. Tienen de 1 a 10 estambres y carecen de pétalos y sépalos. Su fruto es carnoso, con una sola semilla.(Flores, 2001).

También los aceites esenciales obtenidos de diferentes órganos de las plantas han presentado diferentes actividades biológicas principalmente contra insectos, microorganismos, etc. (Parra, 2011).

1.2. Distribución geográfica de la familia Piperaceae

La familia Piperaceae comprende unas 1.300 especies de los trópicos húmedos y cálidos de todo el mundo, pero con centros de radiación en Sudamérica y Malasia, como se muestra en la Figura 1.

En América del sur se encuentra Ecuador en el cual se distribuyen aproximadamente 4 géneros y 400 especies, Argentina cuenta con 2 géneros y 30 especies aproximadamente, en Perú se encuentran 3 géneros y alrededor de 830 especies, en Brasil hay 5 géneros y cerca de 500 especies y en Colombia existen cerca de cuatro géneros y 2500 especies



Figura. 1. Distribución geográfica de la familia Piperaceae.

Fuente: Los puntos verdes hacen referencia a la distribución de la familia Piperaceae (Trópicos, 2014).

Elaboración: (Trópicos, 2014) .

1.3. Uso de la familia Piperaceae

La familia Piperaceae es una fuente importante en el descubrimiento y desarrollo de nuevos agentes antitumorales, antibacterianos y compuestos bioactivos novedosos, donde estos tienen gran importancia económica, ecológica y medicinal, podemos encontrar que esta gran variedad de plantas son utilizadas para enfermedades asociadas con: las vías respiratorias (asma, bronquitis, y tos), el tracto digestivo (diarrea y dolor abdominal), también se han diagnosticado que la composición de estas plantas cuenta con ciertas actividades como: antiinflamatoria (reumatismo), antimicrobiana (antibacteriana, antifúngica y la cicatrización de heridas) y antileucémica (Aricapa, 2011).

Una de las especies más representativas de la familia Piperaceae es la *Piper nigrum* más conocida comúnmente como la Pimienta Negra donde es utilizada como condimento por sus frutos aromáticos y picantes gracias a la presencia de *piperina* (Ciccio, 1996). Otras especies de esta familia han sido motivo de estudio fitoquímico tanto en Colombia como en otras partes del mundo por contener gran variedad de usos, entre estos estudios podemos hablar de la raíz de *Piper methysticum* la cual es usada como bebida ya que esta posee una acción sedante, pero hay que tener en cuenta que en altas cantidades es anestésica e hipnótica esta bebida es utilizada en Asia (Novara, 1998).

En las islas del Pacífico a las raíces de *Piper methysticum* se les conoce comúnmente como kava, allí preparan una bebida refrescante, que es consumida habitualmente como tranquilizante para combatir la ansiedad.

Otra de las especies más conocidas es la *Piper auritum* kunth de esta especie vegetal sus hojas son de gran utilidad por ejemplo para las afecciones de la piel; también se emplea para padecimientos como inflamación vaginal, infección de la matriz y para acelerar el parto, para este último lo preparan utilizando las hojas remojadas en alcohol. Así mismo se usa para enfermedades asociadas con el aparato digestivo, como dolor de estómago falta de apetito, diarrea e inflamación de estómago, se dice además que es un buen agente para la bronquitis, tos y para bajar fiebre (Plantas Colombianas, 2010)

1.4. Actividades biológicas de la familia Piperaceae

Algunos usos explorados y reportados en la literatura para especies de la familia Piperaceae son: antioxidante, antibacteriano, antifúngico, antiparasitario, anti cancerígeno, analgésico, antiinflamatorio, antiasma, hipotensor, insecticida. Adicionalmente, varias especies de la esta familia han presentado actividad contra protozoos del género *Leishmania* (Cardona et al., 2013).

1.5. GÉNERO PEPEROMIA

Peperomia comprende un número indeterminado de especies que se distribuyen en las regiones tropicales y subtropicales de ambos hemisferios. Uno de los motivos que atrae el interés hacia este género es la dificultad para determinar sus especies, lo cual se explica por el conocimiento parcial de los estudios realizados para este género, además de un muestreo de especies limitado y algunas veces redundante. Este género presenta flores diminutas, apétalas, zigomorfas, hipogíneas, perfectas, subtendidas por una bráctea y agrupadas en espigas. (Martínez et al., 2006).

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, la 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 pimiento, y de *homoi*os, que significa parecido a, por su semejanza al género *pepper* (GUILLERMO, 2002).

1.6. Distribución geográfica del género *Peperomia*

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. (Guillermo, 2002). Uno de los motivos que atrae el interés hacia este género es la dificultad para determinar sus especies, lo cual se explica por el conocimiento parcial de los estudios

realizados para este género, además de un muestreo de especies limitado y algunas veces redundante (Martínez et al., 2006).

1.7. Observaciones Taxonómicas

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 la lámina dorsiventral, presentan hipodermis adaxial, las células de la epidermis pluriestratificada permaneces 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.

1.8. Usos y aplicaciones del género *Peperomia*

Peperomia es uno de los géneros gigantes entre las Angiospermas con aproximadamente 1600 especies diseminadas en los trópicos. Sus especies son valiosas como ornamentales y se describieron varios usos medicinales, pero su fitoquímica está poco investigada en comparación con *Piper* (2000 especies). Las bioactividades de varios compuestos indicaron su potencial como agentes antiparasitarios, antimicrobianos, antivirales y citotóxicos contra varias cepas tumorales y también como herbicidas. (Gutierrez et al., 2016).

Otro estudio analizó un extracto acuoso de la parte aérea de *Peperomia pellucida* (L.) para detectar antiinflamatorios (edema de patas inducido por carragenina y ácido araquidónico) y actividad analgésica (retorcimientos abdominales) en ratas y ratones, respectivamente (Arrigoni-Blank et al., 2004)

Otros estudios con extractos metanólicos de *Peperomia* mostraron un muy buen nivel de actividad antibacteriana de amplio espectro. (Khan et al., 2002)

Relevancia etnofarmacológica: *Peperomia serpens* (Piperaceae) popularmente conocida como "carrapatinho", es una liana herbácea epífita crecida salvaje en diferentes árboles hospederos en la selva amazónica. Sus hojas se usan ampliamente en la medicina popular brasileña para tratar inflamación, dolor y asma (Pinheiro et al., 2011).

Las plantas del género *Peperomia* son hierbas suculentas comunes en los lugares húmedos y pantanosos. Se le asignan propiedades medicinales como antihipertensiva, antialérgica,

antidiabética, febrífuga, antitusígena, así como acción emoliente y digestiva (Piñeros et al., 1992).

Actividad antibacteriana, como el aceite esencial de *P. acuminata* presentó actividad antimicrobiana frente a las bacterias Gram positivas. El aceite inhibió el crecimiento de *S. aureus* (ATCC 25923) con un halo de inhibición de 35 mm equivalente al producido por la Eritromicina (control). Para *E. faecalis* (ATCC 29212) produjo un halo de 30 mm, mayor de lo que produce la Vancomicina (control). La concentración inhibitoria mínima (CIM) fue de 1 µL/mL para ambos microorganismos (Mora-Vivas et al., 2016).

Por otra parte, *Staphylococcus* y *Enterococcus* tienen en común la composición de la pared celular (Gram positivas), la inhibición de su crecimiento por el aceite esencial de *P. acuminata* podría atribuirse a un efecto sinérgico entre sus compuestos que actúan principalmente inhibiendo la síntesis del péptidoglucano, compuesto principal de la pared celular de estos microorganismos (Winn et al., 2006). Resultados similares se han reportado en un estudio realizado para evaluar la actividad antibacteriana del extracto metanólico de las hojas y tallos de *P. acuminata*, recolectada en la ecorregión cafetera de Colombia, a una concentración de 1 mg/mL inhibió el desarrollo sólo de *S. aureus* ATCC 25923, y no mostró actividad frente a las bacterias Gram negativas ensayadas (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*) (Blandón et al., 2014).

1.9. Estudios fitoquímicos

A pesar de esta escasez, las clases típicas de metabolitos secundarios aislados de su especie se caracterizan como policétidos, meroterpenos, cromenos, fenilpropanoides, lignanos y amidas, entre los que se incluyen 2-acilciclohexano-1,3-dionas, meroterpenos y secolignos basados en el ácido celulósico (peperomins) son muy específicos para *peperomia* (Gutierrez et al., 2016).

Los aceites esenciales de *Peperomia pellucida* y *Peperomia circinnata* var. *circinnata* fueron investigados por GC-MS. Los principales componentes identificados en el aceite de *P. pellucida* fueron dillapiole (39.7%) y transcariofileno (10.7%). La mayoría de los constituyentes encontrados en el aceite de *P. circinnata* var. *circinnata* fueron limoneno (13.5%), elemicina (11.5%), cubebol (9.7%) y mirceno (8.3%) (Da Silva et al., 1999)

En la India se realizó un estudio sobre la composición del aceite esencial de *Peperomia pellucida* (L.) Kunth en hidrodestilado, y analizado mediante cromatografía de gases-detección de ionización de llama (GC-FID) y espectrometría de masas GC (GC-MS). Se identificaron un total de cincuenta constituyentes, que representan el 94.3-97.9% de la composición total del

aceite. Los constituyentes principales del aceite de la hierba entera fueron carotol (26.6-32.0%), epi-apiole (25.1-30.2%), pygmaein (5.5-10.5%), (E) -caryophyllene (5.6-8.3%), germacrene D (3.1 -4.7%), β -elemene (3.0-4.2%), alcanfor (<0.05-2.8%), dauceno (0.8-2.7%), apiole (1.5-2.5%), β -bisaboleno (0.2-2.2%) y biciclogermacreno (1.6-2.1%). Sin embargo, el aceite de raíz contenía una mayor cantidad de apioles (epi-apiole 63.9% y apiole 9.2%) en comparación con las partes aéreas (eneldo apiole 20.7% y apiole 1.1%) de *P. pellucida* (Verma et al., 2014).

A partir del extracto de metanol de las partes aéreas de *Peperomia blanda* (Piperaceae), se aislaron dos cromenos y se caracterizaron principalmente mediante la aplicación de espectroscopia 2D-RMN. Las estructuras fueron 2S- (4-metil-3-pentenil) -6-formil-8-hidroxi-2,7-dimetil-2H-cromeno y 2S- (4-metil-3-pentenil) -5-hidroxi-6 -formil-2,7-dimetil-2H-cromeno. Dos cromenos se aislaron e identificaron a partir del extracto de metanol de las partes aéreas de *Peperomia blanda*, además de estigmasterol, sitosterol y campesterol. Sus estructuras se establecieron como 2S- (4-metil-3-pentenil) -6-formil-8-hidroxi-2,7-dimetil-2H-cromeno y 2S- (4-metil-3-pentenil) -5-hidroxi -6-formil-2,7-dimetil-2H-cromeno a través de métodos espectroscópicos. (Veloza et al., 2006).

Por sus características morfológicas, las plantas del género *Peperomia* son ricas en aceites esenciales. La composición química del aceite esencial de diferentes especies de este género ha sido reportada, siendo los componentes mayoritarios los que se mencionan a continuación: para *P. galiodes* HBK el β -cariofileno (13.1 -16.0%), α -humuleno (13.2 -17.3%) y epi- α -bisabolol (15.1 - 21.3); para *P. chaluapquiiana*: sabineno (20.5 - 31.0%), criptona (8.5 - 8.7%) y óxido de cariofileno (8.8 - 10.2%) (Di Leo et al., 2007); para *P. oreophila*: spatulenol, 3-ishwarol y 3-ishwarona (Lago et al. 2007); para *P. circinnata*: mirceno (12.2 - 31.2%) y β -felandreno (17.5 – 25.4%); para *P. rotundifolia*: limoneno (28.7 – 35.0%) y decanal (22.8 – 44.4%) (Zoghbi et al. 2005); para *P. serpens*: acetato de (Z)-nerolidol (36.6– 42.9%) y (E)-nerolidol (29.1 – 31.3%), dependiendo del método (Silva et al. 2006); para *P. macrostachya*: epi- α -bisabolol (15.9%), óxido de cariofileno (12.9%) y miristicina (7.6%); para *P. pellucida*: dillapiol (55.3%), y dihidro-P3-santalol (9.0%), (E)-nerolidol (7.9%) y limoneno (7.7%) (De Lira et al., 2009) para *P. hernandiifolia*: decanal (85,0%), seguido por el ácido decanoico (12,6%) (Mora-Vivas et al., 2016).

1.10. Características botánicas de la especie *Peperomia galioides* Kunth



Figura 2. *Peperomia galioides* Kunth.

Fuente: [http://bibdigital.rjb.csic.es/Imágenes/Ff\(8\)MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_13/MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_13_035.pdf](http://bibdigital.rjb.csic.es/Imágenes/Ff(8)MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_13/MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_13_035.pdf)

Elaboración: [http://bibdigital.rjb.csic.es/Imágenes/Ff\(8\)MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_13/MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_13_035.pdf](http://bibdigital.rjb.csic.es/Imágenes/Ff(8)MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_13/MUT_FI_Exp_Bot_N_Gra_13_035.pdf)

En la Tabla 1. Se muestra la clasificación taxonómica de la especie *Peperomia galioides* Kunth.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Peperomia galioides* Kunth

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Piperales
Familia	Piperaceae
Género	<i>Peperomia</i>
Especie	<i>Galioides</i>
Nombre científico	<i>Peperomia galioides</i> Kunth

Fuente: (Trópicos, 2013).

Elaboración: (Trópicos, 2013).

1.11. ACEITE ESENCIAL

Son llamados así los constituyentes odoríferos o esencias de una planta. El término aceite esencial se origina probablemente del hecho que el aroma de una planta existe en las glándulas o entre las células en forma líquida, el cual al igual que los aceites grasos son inmiscibles con el agua. La palabra esencial fue derivada del latín “quinta essentia” que significaba el quinto elemento, asignado a estos aceites, ya que la tierra, el fuego, el viento y el agua, fueron considerados los cuatro primeros elementos. Los aceites esenciales químicamente están

formados por la mayoría de los monoterpenos y algunos sesquiterpenos y compuestos aromáticos (Rivera, 2008).

Las aplicaciones de los aceites esenciales son muy variadas; son ampliamente utilizados en perfumería, como saborizantes de alimentos y en la medicina. Ejemplo: los aceites esenciales de anís, menta y canela son carminativos (que favorece la expulsión de los gases del tubo digestivo), el de clavo de olor es analgésico dental y se utiliza además en la producción comercial de vainillina; el de pino es desinfectante y desodorante; el de eucalipto es expectorante; los de valeriana y de lavanda tienen efectos sedantes. Cada uno de los componentes aislados puede también tener una aplicación como el citronelal que es el repelente de los mosquitos, el mentol como calmante de dolores de muela y de garganta, como anestésico y antiespasmódico; el citral que tiene acción antihistamínica y es analgésica en oftalmología, el cíneol-1,8, es expectorante u antiséptico, etc. (Rivera, 2008).

La investigación científica está orientada a la búsqueda de compuestos activos más efectivos contra los patógenos y a la vez más amigables con el medio ambiente, el ser humano y la entomofauna útil. Los aceites esenciales son considerados una alternativa prometedora para controlar el efecto de los agentes patógenos, incluyendo a los hongos (Scalvenzi, et al., 2016).

Dentro de los aceites esenciales existe una amplia diversidad de rendimiento y composición química. Los factores que mayormente influyen en la composición y concentración de los constituyentes son: a) las condiciones climáticas como la duración del día, la irradiación solar, la temperatura, y el abastecimiento de agua, b) el lugar de crecimiento de la planta y la época de cosecha, c) los factores intrínsecos de la planta como la edad o el estado de desarrollo. La composición del aceite esencial también varía del acuerdo al órgano o parte de la planta del cual se extraiga. (Scalvenzi, et al., 2016).

Los aceites esenciales son obtenidos del material fresco que los contiene utilizando principalmente el clásico procedimiento de destilación por arrastre de vapor. Otros métodos usuales son el de expresión del material vegetal, extracción con solventes lipofílicos y el enflorado; éste último es bastante usado en perfumería y consiste en que los pétalos de una flor, por ejemplo, se colocan y presionan entre dos placas de vidrio impregnados de grasa, en las cuales se absorbe el aceite, el cual es luego extraído con alcohol. Para efectuar la caracterización química se utiliza la cromatografía de gases. (Rivera, 2008).

1.12. CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía de gases permite separar los componentes de una muestra vaporizada en virtud de que éstos se distribuyen entre una fase gaseosa móvil y una fase estacionaria líquida o sólida contenida en una columna. La muestra que se va a analizar se lleva a la fase gaseosa y se inyecta en una de las cabezas de la columna cromatográfica. La elusión de los componentes se realiza mediante el flujo de una fase gaseosa móvil que, a diferencia de la de otros métodos cromatográficos, es inerte y no interactúa con las moléculas de las especies de la muestra; sólo las transporta a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases: la de gas-líquido y la de gas-sólido. La primera, es la que tiene más aplicaciones en todos los campos de la ciencia y se le conoce comúnmente como cromatografía de gases. La cromatografía de gas-sólido tiene menos aplicaciones debido a que muchas moléculas reactivas o polares poseen tiempos de retención muy largos y las colas de los picos de elución no son aceptables (Rivera, 2008).

La cromatografía en fase gaseosa es una técnica de análisis que ofrece resoluciones excelentes con sensibilidad del orden de miligramos a picogramos. Los resultados son cuantitativos y se obtienen en un espacio de tiempo relativamente corto. Los componentes de las muestras deben ser estables a la temperatura de operación, las muestras tienen que ser volátiles. La fase estacionaria es un líquido poco volátil que recubre un soporte sólido o las paredes de la columna. El mecanismo de separación se produce mediante partición de las moléculas de la muestra entre la fase estacionaria y la fase móvil (líquida y gaseosa). Esta modalidad se utiliza en más del 95% de las aplicaciones de la cromatografía líquida debe solubilizar selectivamente las sustancias de la muestra, debe ser termoestable, presentar una baja volatilidad a la temperatura en la cual se realiza el análisis y ser químicamente inerte en relación con los componentes de la muestra. (Rivera, 2008).

1.10.1. Descripción de la técnica:

1.10.1.1. Fase móvil.

La fase móvil gaseosa proporciona un rápido equilibrio entre las fases con mayor eficiencia en la obtención de los análisis. Los gases más utilizados son: nitrógeno, helio, hidrógeno y argón. La fase móvil no debe interactuar con la fase estacionaria ni con la muestra, debe tener bajo costo, ser compatible con el detector y tener alta pureza. Para dar una mayor reproducibilidad al análisis, la saturación del gas debe ser constante y debe ser controlada a través de válvulas de aguja (Rivera, 2008).

1.10.1.2. Sistemas de inyección.

La inyección se realiza generalmente con microjeringas que contienen la muestra. El volumen inyectado no debe superar la capacidad de la columna y entre más pequeño sea el volumen usado de la muestra mayor será la eficiencia y la reproducibilidad del análisis. La temperatura aplicada debe ser suficiente para la volatilización de la muestra (Rivera, 2008).

1.10.1.3. Columnas.

La columna consiste en un tubo largo que contiene la fase estacionaria. Los materiales más usados son el cobre, el acero, el aluminio, el vidrio y el teflón. El material de la columna no debe interactuar con la fase estacionaria ni con la muestra (Rivera, 2008).

1.10.1.4. Sistema de detectores.

Las sustancias presentes en la muestra pasan a través de la columna, en donde son separadas y llegan al sistema de detección. Con relación a la selectividad, los detectores pueden ser clasificados en universales y selectivos o específicos. Los detectores universales miden la variación de una propiedad del gas de arrastre que sale de la columna mientras que los detectores específicos miden una propiedad característica de una determinada clase de sustancias. Con relación a la sensibilidad, los detectores cuya respuesta varía poco por cambios en la velocidad de flujo de la fase móvil, son llamados detectores sensibles de flujo de masa. En estos detectores la sensibilidad se define como la relación del área de pico a la masa inyectada. En los detectores sensibles a la concentración, la respuesta varía en función del flujo de la fase móvil y su sensibilidad se define como el producto del área del pico por el flujo de la fase móvil dividido por la masa inyectada (Rivera, 2008).

La respuesta del detector debe ser lineal dentro de un amplio intervalo de concentraciones. Este intervalo de concentraciones se conoce como intervalo lineal dinámico y corresponde a la diferencia entre la concentración máxima del intervalo lineal dinámico y la mínima concentración del mismo y que debe distinguirse de la señal de fondo o ruido del detector. El análisis cuantitativo se puede llevar a cabo gracias a la relación directa que existe entre la respuesta del detector y la concentración de la muestra, siempre y cuando la respuesta obtenida para la muestra se encuentre dentro de ese intervalo (Rivera, 2008).

1.13. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. Los requisitos esenciales son: adsorbente, placas de vidrio, dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otro

para aplicar la capa de adsorbente, y una cámara en la que se desarrollen las placas cubiertas. Es preciso también poder guardar con facilidad las placas preparadas y una estufa para activarlas (Unam, 2007).

La fase estacionaria consiste en un sólido y la fase móvil es líquida. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares (Unam, 2007).

La cromatografía en capa fina presenta una serie de ventajas frente a otros métodos cromatográficos (en columna, en papel, en fase gaseosa) por ser más simple. El tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor y la separación es generalmente mejor. El método es simple y los resultados son fácilmente reproducibles, lo que hace que sea un método adecuado para fines analíticos (Unam, 2007).

Al realizar la elección del adsorbente se debe tener en cuenta el tamaño de las partículas del adsorbente, cuanto más finamente dividido esté mayor será su adhesión al soporte, aunque también se le puede añadir un adherente. La elección del eluyente se realiza de forma empírica. Hay que estudiar la polaridad del componente y probar con eluyentes cada vez menos polares (Unam, 2007).

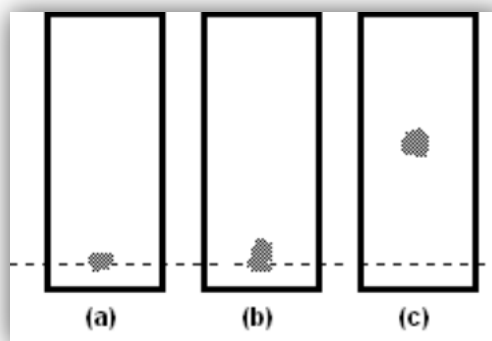


Figura 3: Cromatografía en Capa Fina.
Fuente: (Unam, 2007).
Elaboración: (Unam, 2007).

Generalmente se utiliza como reactivo revelador yodo, el cual forma complejos coloreados con los componentes orgánicos (con tonos amarillo-marrón), pero las manchas desaparecen con el tiempo con lo que es conveniente señalar las manchas aparecidas. Otro reactivo revelador bastante utilizado es el ácido sulfúrico 5%, que reacciona con los componentes orgánicos

produciendo manchas. Sin embargo debe tenerse en cuenta que el tamaño de las manchas no está relacionado con la cantidad de componentes.



Figura 4: Método para corrida de Cromatografía en Capa Fina.
Fuente: (Unam, 2007).
Elaboración: (Unam, 2007).

1.14. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

La cromatografía en columna es el método más habitual, utilizado para la separación y purificación, de diferentes compuestos orgánicos que se hallen en estado sólido o líquido.

En este tipo de cromatografía, la fase (absorbente), se instala en el interior de una columna de vidrio, la cual finaliza con una llave para controlar el paso de sustancias al exterior de la columna. La fase estacionaria se impregna con el eluyente o fase móvil. Seguidamente la mezcla orgánica que nos interesa separar la depositamos por la parte superior de la fase estacionaria, y así la fase móvil podrá ir atravesando el sistema (Méndez, 2011).

Los compuestos que se localizan disueltos en la fase móvil, poco a poco saldrán de la columna cromatográfica, y se recogen en fracciones. Las fracciones menos polares (se retienen poco o nada en el absorbente), serán las primeras en salir de la columna. En cambio, las sustancias más polares, quedan retenidas por más tiempo en el absorbente, y a menudo es necesario el uso de diferentes disolventes con la finalidad de incrementar su polaridad para que sean arrastradas por estos (Méndez, 2011).

El tiempo que se necesita para hacer fluir un compuesto por la columna, se conoce con el nombre de tiempo de retención. Este tiempo varía, siendo característico de cada compuesto en una condiciones cromatográficas determinadas, que varían según el absorbente usado, el disolvente, la presión, el diámetro que tenga la columna utilizada, etc. (Méndez, 2011).

El gel de sílice es el absorbente mayormente utilizado para las cromatografías en columna. Esta técnica puede efectuarse por gravedad o a media presión (se conecta la cabeza de la columna a un compresor o a una línea de aire comprimido). Generalmente la cromatografía a media presión, produce mejores resultados que la cromatografía por gravedad, y además, al ser más rápida, es la más utilizada.

Para realizar una cromatografía en columna, lo primero que debemos hacer es elegir un disolvente adaptado para nuestro caso, para así optimizar la separación de los componentes de la mezcla. Dicha operación se produce a través de cromatografía analítica en capa fina. Para elegir el disolvente, primero se lleva a cabo una cromatografía en capa fina de la muestra a analizar. El disolvente debe producir una buena separación de los componentes de la mezcla en la placa, colocando el componente menos polar a un R_f cercano a 0.3. (Méndez, 2011).

A veces se utilizan mezclas de disolventes y se hace una elución en gradiente. Para esto, la cromatografía se inicia con una mezcla de disolventes de polaridad adecuada para poder separar el componente que posea mayor R_f , y así, una vez recogido, se aumentará poco a poco la polaridad para poder ir separando los componentes más polares. Una de las mezclas de disolventes más utilizadas es hexano/acetato de etilo (Méndez, 2011).



Figura 5: Cromatografía en columna.
Fuente: Méndez, Ángeles.
Elaboración: Méndez, Ángeles.

CAPITULO 2.
MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. METODOLOGÍA EMPLEADA

El presente estudio de la especie vegetal *Peperomia galioides* Kunth se desarrolló en la Universidad Técnica Particular de Loja en los laboratorios de Química y Ciencias Exactas. A continuación un esquema de la metodología usada ver Figura 6.

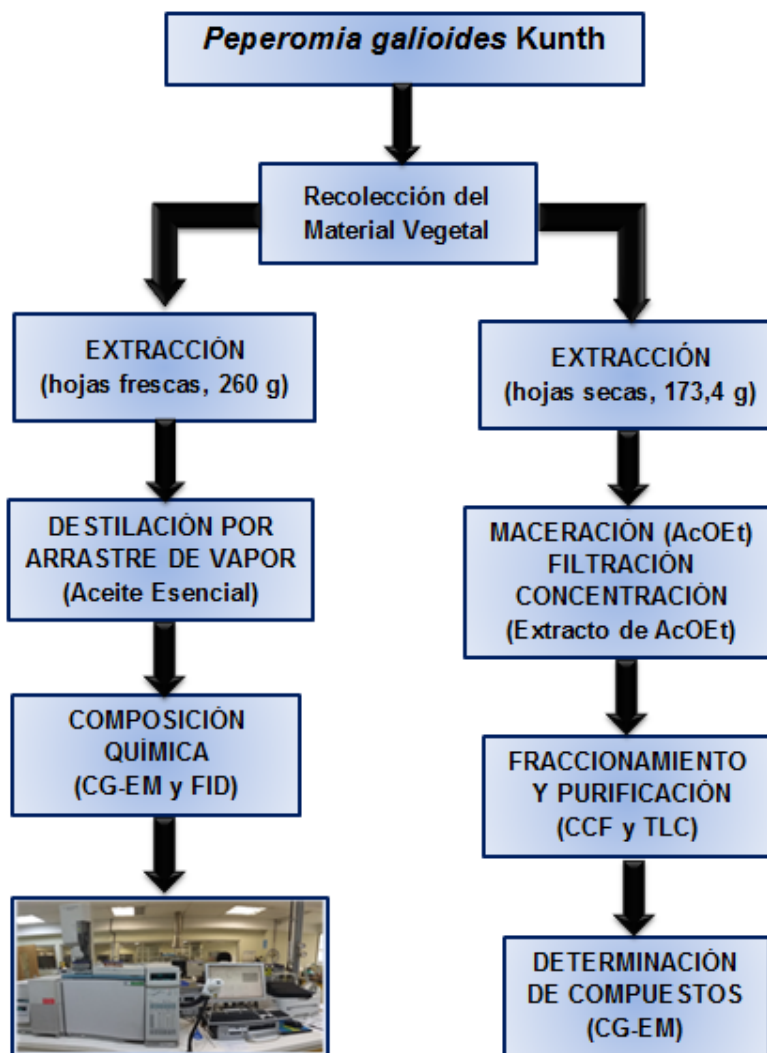


Figura 6: Esquema de la metodología.
Fuente: La autora.
Elaboración: La autora.

2.2. Material vegetal

La especie vegetal *Peperomia galioides* Kunth fue recolectada en la planta de agua potable El Carigán, Loja-Ecuador. Las coordenadas del sitio de recolección son: Sur 3°57'44.6", Oeste

79°14'57.5" a una altura de 2298 m.s.n.m. El espécimen fue identificado por el PhD. Vladimir Morocho.

El material vegetal fue recolectado en su hábitat natural y esta recolección se hizo en fundas plásticas para ser transportadas al laboratorio de Química y Ciencias Exactas, ahí se separó las partes aéreas de los tallos y se eliminaron las partes aéreas en mal estado (Figura 7). No se registra un voucher en el herbario de la UTPL.



Figura 7: Selección de las partes aéreas de *Peperomia galioides* Kunth.
Fuente: La autora.
Elaboración: La autora.

2.3. Extracción del aceite esencial

El aceite esencial se obtuvo de las partes aéreas frescas, mediante destilación por arrastre de vapor (Figura 8). Se usaron 260 g. de hojas frescas. La duración de la destilación fue de 3 horas. Una alícuota del aceite (20 μ l) se diluyó en 990 μ l de diclorometano (pureza 99.9%) para el análisis cromatográfico.



Figura 8: Destilación por arrastre de vapor.
Fuente: Laboratorio de Síntesis Química.
Elaboración: La autora.

2.4. Análisis Cromatográfico

El aceite esencial fue caracterizado químicamente por cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (CG-EM). Para el análisis se utilizó un cromatógrafo de gas de la serie Agilent Technologies 6890N acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent serie 5973 inerte), dichas corridas cromatográficas se realizaron en una columna capilar no polar DB-5MS y se usaron dos detectores: Espectrómetro de Masas (MS) y detector de Ionización de Llama (FID) con el propósito de obtener resultados cualitativos y cuantitativos respectivamente.

Para el análisis de la muestra se preparó en un vial para cromatografía debidamente rotulado en el cual se colocó una alícuota (10 μ l) de aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth y se diluyó en 990 μ l de diclorometano (Fisher, pureza 99.9%).

El análisis CG-EM se realizó en las siguientes condiciones de operación: Energía: 70 eV; método de inyección: Split, temperatura del inyector 220°C, Split: 50:1, gas portador: helio, velocidad de flujo del 1 ml/min, el análisis fue realizado llevando la temperatura desde los 60°C iniciales a los 250°C a una velocidad de 3°C por minuto, manteniendo dicha temperatura durante 10 minutos. La duración del análisis fue de 54.67 minutos.

El análisis CG-FID se realizó en las mismas condiciones que el análisis en CG-EM con la diferencia que la temperatura del detector fue de 250°C.

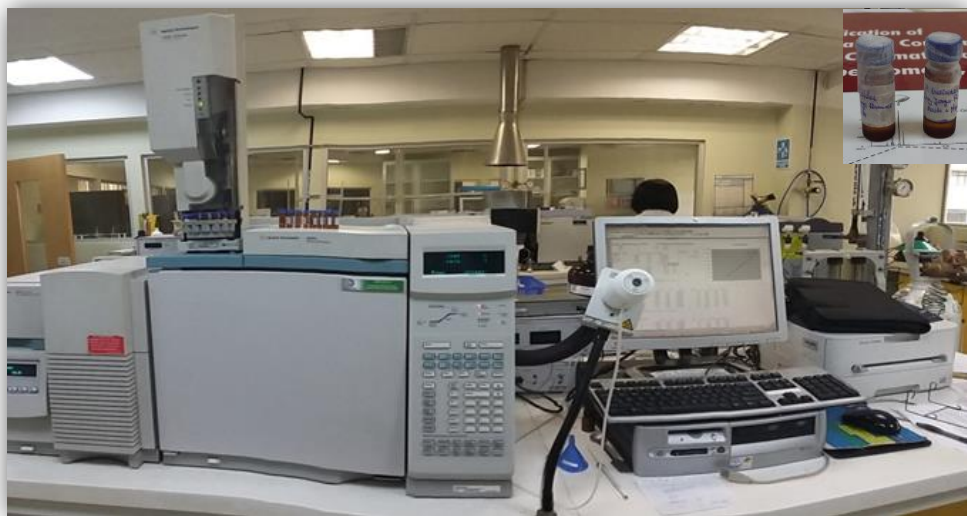


Figura 9: Cromatógrafo de Gases Agilent 6890N.

Fuente: La autora.

Elaboración: La autora.

2.5. Análisis Cualitativo y Cuantitativo

Los datos del aceite esencial obtenidos en el detector de masas se utilizaron para calcular el Índice de Retención lineal. Se comparó el Índice de Retención y espectro de masas calculados se con el índice de retención del libro de datos de Robert P. Adams, PhD. (Adams 2007).

Para el análisis cuantitativo del aceite esencial en porcentaje se desarrolló a través del método de normalización de las áreas de los picos CG-EM. La caracterización química de los compuestos del aceite esencial volátil fue realizada por comparación computarizada mediante la comparación del porcentaje de cada pico manifestado en el detector de ionización de llama FID con el porcentaje de cada pico identificado en masas.

2.6. Obtención del Extracto en acetato de etilo

Las partes aéreas del material vegetal recolectado fueron secadas a 32°C por 14 días, por ser carnosas y pequeñas. Seleccionamos y pesamos 173,46 g de las mismas para luego ser trituradas a mano y puestas en un matraz de 5000 ml. Seguidamente procedimos a macerar en acetato de etilo. Dicha maceración fue combinada, es decir, agitación por 5 minutos y estacionaria por 55 minutos; se utilizó 2500 ml de disolvente. Luego se filtró al vacío y posteriormente se concentró a presión reducida y a temperatura moderada de 30 a 35°C en el equipo rota evaporador (Figura 10).

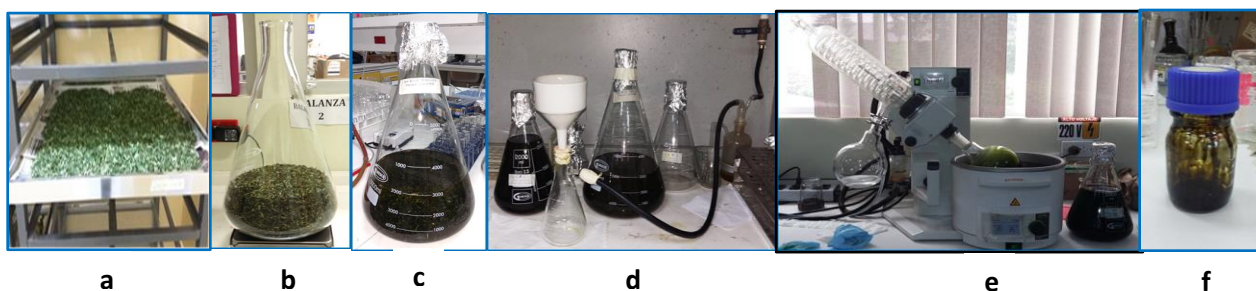


Figura 10: Obtención del extracto: a) Secado, b) Pesado de hojas, c) Maceración estacionaria, d) Filtración al vacío, e) Rotaevaporación y f) Extracto.

Fuente: La autora.

Elaboración: La autora.

2.7. Análisis del Extracto.

Se realizó pruebas del extracto de acetato de etilo a través de cromatografía en capa fina con diferentes solventes. Esto se realizó en fase inversa con diferentes polaridades (9:1, 8:2 y 7:3). Con el fin de observar la riqueza de los compuestos y escoger la mejor opción para la separación de los mismos. La visualización se realizó con luz ultravioleta 254 y 365 nm.



Figura 11: TLC fase inversa del extracto de acetato de etilo de *Peperomia galioides* Kunth, Metanol/AcOEt 9:1 (v/v).

Fuente: La autora.

Elaboración: La autora.

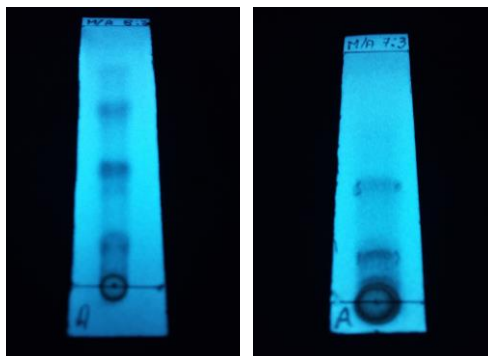


Figura 12: TLC fase inversa del extracto de acetato de etilo de *Peperomia galioides* Kunth, Metanol/AcOEt 8:2 y 7:3 (v/v).

Fuente: La autora.

Elaboración: La autora.

2.8. Fraccionamiento en columna

Este fraccionamiento en columna (CC) se realizó con el fin de separar los compuestos presentes en el extracto. Para ello se sembró 1g de extracto de acetato de etilo, utilizando 100g de sílica en gel 60 F254 en relación 1:100 (extracto/sílica), empezando con Hexano/AcOEt polaridad 9:1 al inicio para luego cambiar a polaridad 8:2 (Figura 13). Se recolectaron 416 fracciones de aproximadamente 100 – 200ml cada una. Posteriormente realizamos pruebas en Cromatografía en capa fina, utilizando placas de sílica gel 60 F254 (Fase directa) como fase estacionaria y como fase móvil Hexano/AcOEt relación 8:2 Luego para su visualización utilizamos una lámpara de luz ultravioleta a 254 y 365nm. Para finalizar unimos las fracciones según los datos obtenidos (TLC) con un total de 15 fracciones.



Figura 13: Cromatografía en columna.

Fuente: La autora.

Elaboración: La autora.

2.9. Cromatografía en capa fina

Realizamos pruebas en cromatografía de capa fina (TLC) a las fracciones que obtuvimos de la columna, para esto utilizamos placas de sílica gel 60 F254 (fase directa) de forma alterna (20 en 20) empezando desde la fracción 1 hasta la 416. Para la fase móvil utilizamos los siguientes disolventes: Hexano/ AcOEt 8:2 (v/v), los mismos que permiten la separación e identificación de los compuestos. Posteriormente utilizamos luz ultravioleta 254 y 365nm para su visualización.

2.10. Unión de fracciones

Recolectamos 15 fracciones aproximadamente de 100 ml cada una. Luego realizamos TLC (fase directa) de cada fracción en Hex/AcOEt (8:2) v/v (Figura 14). Para su unión se observó la altura de las manchas que se formaron en cada fracción y su similitud visual que reflejaron mediante luz ultravioleta a una longitud de: 254 y 365 nm. También se utilizó ácido sulfúrico al 5% y vainillina como agentes reveladores para verificar la información. Obtuvimos la fracción (PG16), la misma que se analizará por CG-EM.

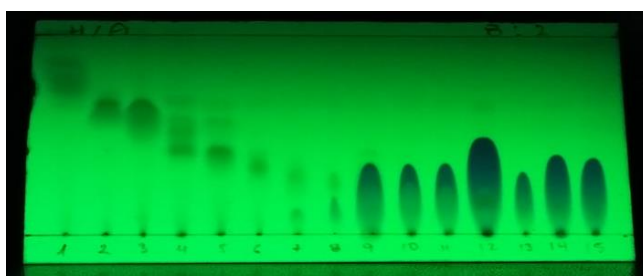


Figura 14: TLC de las fracciones obtenidas del extracto de acetato de etilo.

Fuente: La autora.

Elaboración: La autora.

CAPITULO 3.
RESULTADOS Y CONCLUSIONES

3.1. RESULTADOS

3.1.1. Composición química del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth

La composición química del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth se determinó mediante cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de masas (CG-EM) y detector de ionización en llama FID. Los resultados que se obtuvieron revelan los principales componentes químicos, destacando el Gremacrene D con 17,64%, seguido de Bicyclogermacrene, Caryophyllene<(E)-> Humulene< α ->, Eudesmosl< α ->, con 10,75%, 9,06%, 6,86%, 5,86% respectivamente. En la tabla 2 se muestra todos los compuestos encontrados en el aceite esencial en estudio.

Tabla 2. Composición porcentual de los compuestos del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth.

N°	Atribución	TR (min)	Índice de retención lineal calculado	Índice de retención de Adams	Δ RI	% Área	δ
1	Pinene< α ->	7,43	931	932	1	1,02	0,01
2	Camphene	8,08	947	946	-1	0,08	0,02
3	Pinene< β ->	9,24	975	974	-1	0,30	0,01
4	Myrcene	9,76	988	988	0	1,11	0,01
5	Phellandrene< α ->	10,51	1005	1002	-3	trace	-
6	Terpinene< α ->	11,00	1016	1014	-2	trace	-
7	Cymene< α ->	11,34	1023	1022	-1	trace	-
8	Limonene	11,57	1028	1024	-4	1,10	0,01
9	Ocimene<(Z)- β ->	11,92	1035	1032	-3	0,57	0,00
10	Ocimene<(E)- β ->	12,41	1045	1044	-1	1,87	0,00
11	n.d	12,57	1049	-	-	0,06	0,00
12	Terpinene< γ ->	12,95	1056	1054	-2	trace	-
13	Octanol<n->	13,56	1069	1063	-6	0,14	0,00
14	Terpinolene	14,24	1083	1086	3	3,15	0,03
15	Cymenene< ρ ->	14,45	1088	1089	1	trace	-
16	Methylbenzoate	14,61	1091	1088	-3	trace	-

17	Linalool	14,97	1099	1095	-4	0,66	0,01
18	Nonanal<n->	15,21	1104	1100	-4	0,07	0,00
19	Perillene	15,64	1112	1102	-10	0,15	0,00
20	Camphor	17,14	1144	1141	-3	0,16	0,01
21	Citronellal	17,49	1151	1148	-3	trace	-
22	Decanal <n->	20,11	1205	1201	-4	0,75	0,01
23	Methylmyrtenate	24,15	1292	1293	1	trace	-
24	n.d	25,83	-	-	-	0,09	0,03
25	Sylphinene	25,93	1332	1345	13	0,08	0,00
26	Cubebene< α ->	26,48	1344	1348	4	0,20	0,00
27	Ylangene< α ->	27,43	1366	1373	7	0,43	0,01
28	Copaene< α ->	27,72	1372	1374	2	1,37	0,02
29	Bourbonene< β ->	28,05	1380	1387	7	0,52	0,00
30	n.d	28,17	-	-	-	0,45	0,02
31	Elemene< β ->	28,34	1386	1389	3	0,06	0,00
32	n.d	28,52	-	-	-	trace	-
33	Caryophyllene<Z->	28,94	1400	1408	8	0,21	0,01
34	Gurjunene< α ->	29,06	1403	1409	6	0,09	0,01
35	Longifolene	29,22	1407	1407	0	0,16	0,02
36	Bergamotene< α -cis->	29,38	1410	1411	1	0,08	0,00
37	Caryophyllene<(E)->	29,58	1415	1417	2	9,06	0,09
38	n.d	29,89	-	-	-	0,10	0,01
39	Copaene< β ->	30,01	1426	1430	4	0,64	0,00
40	n.d	30,17	-	-	-	0,15	0,01
41	Aromadendrene	30,35	1434	1439	5	1,30	0,00
42	Guaiadiene<6,9->	30,67	1441	1439	-2	0,31	0,01
43	Muurola-3,5-diene <cis->	30,82	1445	1448	3	0,29	0,01
44	Humulene< α ->	31,06	1451	1452	1	6,86	0,07
45	Aromadendrene<allo->	31,25	1455	1458	3	0,95	0,01

46	Ishwarane	31,59	1463	1465	2	0,37	0,01
47	Muurolene< γ ->	31,93	1471	1478	7	5,14	0,04
48	Germacrene D	32,15	1477	1480	3	17,64	0,22
49	Viridiflorene	32,55	1486	1496	10	0,77	0,01
50	Muurolene< γ ->	32,63	1488	1478	-10	1,01	0,00
51	Bicyclogermacrene	32,74	1491	1500	9	10,75	0,14
52	Muurolene< α ->	32,88	1494	1500	6	0,93	0,00
53	Cadinene< δ ->	33,05	1498	1522	24	0,14	0,00
54	Cadinene< γ ->	33,45	1508	1513	5	2,39	0,02
55	Cadinene< δ ->	33,68	1514	1522	8	4,97	0,05
56	Zonarene	33,85	1518	1528	10	0,32	0,01
57	Cadina-1,4-diene<trans->	34,22	1528	1533	5	0,58	0,01
58	Cadinene< α ->	34,37	1532	1528	-4	0,81	0,00
59	Selina-3,7(11)-diene	34,56	1536	1545	9	0,68	0,01
60	n.d	34,85	-	-	-	0,23	0,01
61	Germacrene B	35,22	1553	1559	6	3,39	0,05
62	Nerolidol<(E)->	35,43	1559	1561	2	1,34	0,01
63	n.d	35,64	-	-	-	0,10	0,01
64	Spathulenol	35,92	1571	1577	6	0,64	0,01
65	Caryophyllene oxide	36,10	1576	1582	6	0,45	0,01
66	n.d	36,27	1580	-	-	0,23	0,02
67	Viridiflorol	36,60	1588	1592	4	0,78	0,03
68	n.d	37,19	1603	-	-	0,31	0,02
69	n.d	37,42	-	-	-	0,11	0,03
70	n.d	37,60	-	-	-	0,42	0,06
71	Eudesmol<10-epi- γ ->	37,71	1617	1622	5	0,14	0,02
72	Eudesmol<10-epi- γ ->	38,05	1626	1622	-4	2,20	0,03
73	Hinesol	38,35	1634	1640	6	0,82	0,11
74	Eudesmosl< α ->	38,92	1649	1652	3	5,86	0,01

75	n.d	39,36	-	-	-	0,95	0,04
76	n.d	45,11	-	-	-	0,09	0,03
77	n.d	47,40	-	-	-	0,15	0,02
78	n.d	48,65	-	-	-	0,18	0,02
79	n.d	49,85	-	-	-	0,17	0,15
80	n.d	51,40	-	-	-	0,07	0,00
	Monoterpenos					9,36	
	Hidrocarbonados						
	Monoterpenos Oxigenados					1,03	
	Sesquiterpenos					72,96	
	Hidrocarbonados						
	Sesquiterpenos Oxigenados					11,77	
	No Determinados					3,88	
	Otros					1,00	
Total Identificados						96,12	

TR: Tiempo de Retención (min). Tr: traza (<0.05%). Métodos de Identificación: IR, CG-EM, por comparación del espectro de masas con los presentes en las bibliotecas del equipo Wiley y Adams. %Área: FID (detector de iones en llama).

Fuente: La autora.

Elaboración: La autora.

Según la Tabla 2, el compuesto que presentó mayor porcentaje en el aceite esencial fue el Germacrene D con el 17,64%, Este compuesto reporta que tiene actividad larvicida contra los mosquitos *Aedes aegypti* y *Anophelesspp* (Ramírez et al., 2011).

La composición química que presenta el aceite esencial de estudio pertenece al sesquiterpeno hidrocarbonado Germacrene D, algo que es común también en otra especie de la familia Piperaceae, encontrándose en la mayoría de especies del género *Piper* principalmente del tipo sesquiterpenos y monoterpenos según (Parmar et a., 1997).

El Germacrene D, se lo identificó como el compuesto mayoritario en el aceite, con un porcentaje de 17,64%, seguido del Bicyclogermacrene con el 10,75%. Este compuesto mayoritario ha sido identificado también como mayoritario en el aceite esencial de hojas de *Siparuna schimpffii* Diels con el 35,338 % y de igual forma seguido del Biclycogermacrene con el 8,730 % (Noriega et al, 2014). Podemos manifestar que la composición química de estos aceites tiene cierta

similitud sobre todo por la presencia de los sesquiterpenos como componentes más abundantes.

Según (Da Silva et al., 1999) se hicieron estudios de aceite esencial a otras *peperomias* (*pellucida* y *circinnata* var *circinnata*) por CG-MS. Los principales componentes identificados en el aceite de *P. pellucida* fueron dillapiole (39.7%) y transcariofileno (10.7%). La mayoría de los constituyentes encontrados en el aceite de *P. circinnata* var. *circinnata* fueron limoneno (13.5%), elemicina (11.5%), cubebol (9.7%) y mirceno (8.3%). A diferencia del aceite de *Peperomia galioides* Kunth, cuyo principal componente fue el Germacrene D (17,64%), Bicyclogermacrene (10,75%), Caryophyllene<(E)-> (9,06%), Humulene< α -> (6,86%), Eudesmosl< α -> (5,86%).

Según otros estudios realizados a otras *peperomias* podemos observar que también utilizaron CM-EM y nos da entender que es una de las mejores técnicas para analizar la composición química de aceites esenciales.

Según (Verma et al., 2014). En otros países como India también se están realizando estudios sobre la composición química de otra especie de *Peperomia* (*P. pellucida* (L.) Kunth) en hidrodestilado e igualmente como nuestra investigación mediante cromatografía de gases-detección de ionización de llama (GC-FID) y espectrometría de masas GC (GC-MS). Aquí se identificaron un total de 50 constituyentes, que representan el 94.3-97.9%, a diferencia que de *Peperomia galioides* Kunth obtuvimos 62 compuestos con el 96.12% de la composición total del aceite. Los constituyentes principales del aceite de la hierba entera fueron: carotol (26.6-32.0%), epi-apiole (25.1-30.2%), pygmaein (5.5-10.5%), (E) -caryophyllene (5.6-8.3%), germacrene D (3.1 -4.7%), β -elemene (3.0-4.2%), alcanfor (<0.05-2.8%), dauceno (0.8-2.7%), apiole (1.5-2.5%), β -bisaboleno (0.2-2.2%) y bicyclogermacrene (1.6-2.1%). Sin embargo, el aceite de raíz contenía una mayor cantidad de apioles (epi-apiole 63.9% y apiole 9.2%) en comparación con las partes aéreas (eneldo apiole 20.7% y apiole 1.1%) de *P. pellucida*. Podemos observar que tenemos en común dos compuestos: Germacrene D (17,64%) y Bicyclogermacrene (10,75%) pero en diferentes porcentajes. Además se usaron las raíces de la especie *Peperomia Pellucida* (L) Kunth que presentaron mayor cantidad de apioles en comparación a nuestro estudio que se desecharon las raíces, por lo que creo que debemos utilizar toda la planta (*Peperomia galioides* Kunth) y a lo mejor hubiéramos obtenido mejores resultados.

3.1.2. Composición química del Extracto de acetato de etilo

Se identificaron dos compuestos de la fracción PG16 mediante cromatografía de gases. La tabla 3 muestra los principales constituyentes encontrados en la fracción.

Tabla 3. Composición de la fracción PG16 del extracto de AcOEt de *Peperomia galioides* Kunth.

N°	RT	IR cal	IR tab	DIF	Compuesto Base datos	Compuesto Adams	Tipo de Compuesto
1	36,3300	1581	1505	-	n.d	n.d	n.d.
2	36,8800	1595	1590	-5	Isolongifolene	Copaen-4- α -ol < β ->	sesquiterpeno oxigenado
3	37,5600	1613	1618	5	Azulene	Isolongifolan-7- α -ol	sesquiterpeno oxigenado
4	38,9400	1650	1496	-	n.d	n.d	n.d
5	39,2900	1659	1437	-	n.d	n.d	n.d
6	39,8800	1675	1492	-	n.d	n.d	n.d
7	40,3200	1687	1489	-	n.d	n.d	n.d
8	40,4400	1690	1460	-	n.d	n.d	n.d

n.d: no determinado.

Fuente: La autora.

Elaboración: La autora.

La cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de masas (CG-EM) determinó que de la fracción PG16, se encontraron los siguientes compuestos: Copaen-4- α -ol < β ->, Isolongifolan-7- α -ol, según la literatura de Adams R, PhD. (2007).

A pesar de los insuficientes estudios al género *Peperomia*, los metabolitos secundarios aislados de su especie se caracterizan como policétidos, meroterpenos, cromenos, fenilpropanoides, lignanos y amidas, entre los que se incluyen 2-acilciclohexano-1,3-dionas, meroterpenos y secolignos basados en el ácido celulósico (Gutierrez et al., 2016).

Según (Arrigoni-Blank et al., 2004), el extracto acuoso de la parte aérea de *Peperomia pellucida* (L.) en ratas y ratones tuvo actividad antiinflamatoria y analgésica, por lo cual nos muestra lo importante que es seguir investigando los metabolitos de dicha especie.

En otros estudios para extractos *Peperomia pelúcida* para su fraccionamiento utilizaron otros solventes como: diclorometano, acetato de etilo y butanol. Todos los extractos crudos y las fracciones mostraron un muy buen nivel de actividad antibacteriana de amplio espectro. Las fracciones fueron más activas que los extractos crudos. La fracción de butanol de *P. pelúcida* fue particularmente buena (Khan et al., 2002). Según esto podrías probar otros disolventes en el extracto de *Peperomia galioides* Kunth y tal vez aislar algún metabolito secundario de importancia.

Se han realizado pruebas a partir del extracto de metanol de las partes aéreas de *Peperomia blanda* (Piperaceae), se aislaron e identificaron dos cromenos, además de estigmasterol, sitosterol y campesterol. Sus estructuras se establecieron como 2S- (4-metil-3-pentenil) -6-formil-8-hidroxi-2,7-dimetil-2H-cromeno y 2S- (4-metil-3-pentenil) -5-hidroxi -6-formil-2,7-dimetil-2H-cromeno a través de métodos espectroscópicos. Se caracterizaron principalmente mediante la aplicación de espectroscopia 2D-RMN. (Veloza et al., 2006). Mediante estos estudios podemos comprobar que el género *Peperomia* es muy prometedor pudiendo utilizar otros métodos.

Estudios realizados recientemente mostraron actividad antifúngica a *P. acuminata*, a partir del análisis de una muestra recolectada en el Parque Regional Natural Ucumarí (Colombia), los extractos de tallos y hojas con diferentes polaridades (n-hexano, diclorometano y metanol) inhibieron el desarrollo de dos especies de *Solanum* (Correa et.,2015). Sería importante evaluar la actividad antifúngica tanto del aceite esencial como del extracto de acetato de etilo de *Peperomia galioides* Kunth del Sur del Ecuador específicamente en la ciudad de Loja.

CONCLUSIONES

- Fueron identificados 62 compuestos químicos que constituyen el 96,12% total del aceite.. Siendo los sesquiterpenos hidrocarbonados los de mayor porcentaje con un 72,96%, seguido de los sesquiterpenos oxigenados con un 11,77%, los monoterpenos hidrocarbonados tuvieron el 9,36%, los monoterpenos oxigenados 1,03%, otros compuestos el 1,00% y finalmente los no determinados el 3,88.
- Los cuatro componentes más abundantes encontrados en el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth resultaron ser sesquiterpenos hidrocarbonados tales como: Gremacrene D, Bicyclogermacrene, Caryophyllene<(E)->, Humulene< α -> y Eudesmosl< α ->,
- No se logró aislar ningún compuesto por fraccionamiento en columna, sin embargo de la fracción PG16 mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se identificaron los siguientes compuestos: Copaen-4- α -ol < β > e Isolongifolan-7- α -ol, siendo estos sesquiterpenos oxigenados.
- Podemos recalcar que no hay la suficiente literatura científica existente sobre la especie en estudio para poder hacer muchas comparaciones, a pesar de que existen diversas especies en el Ecuador. Sin embargo de acuerdo a algunas publicaciones de este género pudimos verificar la riqueza de este género el cual es muy prometedor pero se necesita de muchos estudios con diferentes técnicas y utilizando toda la planta.

RECOMEDACIONES

- Ampliar la investigación de la especie vegetal en estudio, ya que ha sido poco estudiada y por pertenecer a la familia Piperaceae puede ser prometedora.
- Desarrollar estudios afines con otras especies del género *Peperomia* que sean aromáticas y de esta forma contribuir en las investigaciones de dicha familia a través de recursos naturales propios del Ecuador.
- Efectuar un estudio farmacológico de la especie vegetal investigada y de esta manera conocer los usos medicinales de dicha especie.
- El saber la composición química del aceite esencial de la especie medicinal estudiada, se deja la posibilidad para iniciar estudios de actividad biológica, y de esta forma contribuir con investigaciones posteriores que podrían contribuir con el área biomédica desde una fuente natural.
- Se recomienda utilizar otras técnicas para el extracto de *Peperomia galioides* de acetato de etilo, para poder aislar algún metabolito.
- También utilizar toda la planta y no sólo sus hojas, por lo que pudimos ver en otros estudios las raíces también poseen riqueza de metabolitos.

BIBLIOGRAFÍA

Adams R. (2007). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass spectrometry. 4th Edition.

Aricapa, A. G. (11 de Agosto de 2011). Estudio fitoquímico de *Piper pesaresanum* y *Piper crassinervium* (Piperaceae). Obtenido de: http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/2705/2/5817G516_anexo.pdf.

Arrigoni-Blank, M.F., Dmitrieva E., Franzotti, E.M., Antonioli, A.R., Andrade, M.R., & Marchioro, M. (Abril 2004). Journal of Ethnopharmacology. Volume 91. Pages 215-218. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.12.030>.

Bernal C. (2012). Extracción del aceite esencial de la cáscara de naranja: caracterización y estudio de potencial industria en el Ecuador. Universidad San Francisco de Quito.

Blandón A.M., Santos, L.L., Feitosa A., Goulart, A.E., Mosquera, O.M. (2014). Tamizaje de la actividad antibacteriana de 34 extractos de plantas de la eco región cafetera colombiana. Salud & Sociedad UPTC 1:6-11.

Cardona. C., Robledo C., Rojano C., Alzate C., Muñoz D., Saez C. (2013). Actividad leishmanicida y antioxidante de extractos de *Piper daniel-gonzalezii* Trel. (Piperaceae). Revista Cubana de Plantas Medicinales 18(2):268-277.

Celis A., Mendoza C., Pachón M., Cardona J., Delgado W., Cuca L.E. (2010). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una Revisión. Agronomía Colombiana 26(1) 97-106.

Correa Y.M., L.R. Palomino, O.M. Mosquera. 2015. Actividad antioxidante y antifúngica de piperaceae de la flora colombiana. Revista Cubana de Plantas Medicinales 20(2). <<http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/125>> Acceso 16/05/2016.

Ciccio, J. F. (1996). Constituyente del aceite esencial de las hojas de la *Piper terrabanum* (Piperaceae). Costa Rica.

Ciccio J.F. 2005. Chemical composition of the leaf oil of *Peperomia hernandiifolia* (Piperaceae) from Costa Rica. Lankesteriana 5:69-71.

Da Silva, J. K. R., Maia, J. G. S., Sousa, P. J. C. (2011). Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects in rodents of the essential oil of *Peperomia serpens* (Sw.) Loud. Journal of Ethnopharmacology. Volume 138. Pages: 479-486.

Da Silva, M.H.L., Zoghbi, M.D.G.B., Andrade, E.H.A., Maia, J.G.S. (1999). The essential oils of *Peperomia pellucida* Kunth and *P. circinnata* Link var. *circinnata*. Flavour and Fragrance Journal. Volume 14. Pages: 312-314. doi:10.1002/(SICI)1099-1026(199909/10)14:5<312::AID-FFJ835>3.0.CO;2-B.

De Lira P., J.K. Da Silva, E.H. Andrade, P.J. Sousa, N.N. Silva, J.G. Maia. 2009. Essential oil composition of three *Peperomia* species from the Amazon, Brazil. Natural Product Communications. 4:427-430.

Di Leo P., L. Lira, Y. Farfan, M. Catalina, et al. 2007. Composición del aceite esencial de dos *Peperomias*. Revista Latinoamericana de Química. 35:7-12.

Flores, E. (2006). Metabolitos secundarios bioactivos de especies del género *Piper* de la flora boliviana. (Tesis Doctorales), Ciencias y Tecnologías., Universidad de la Laguna.

Flores, N. (2001). Metabolitos Bioactivos aislados de cinco especies Piper con actividad antiparasitaria y/o leishmanicida. La Paz, Bolivia; Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica.

Guillermo, R. (2002). Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia* R. et P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. Facultad de Farmacia y Bioquímica., Universidad Nacional Mayor de San Marcos., Lima-Perú., TESIS, 13-20.

Gutierrez, Y.V., Yamaguchi, L.F., de Moraes, M.M., Jeffrey, C., Kato, M. (December 2016). Natural products from *Peperomia*: occurrence, biogenesis and bioactivity. Volumen 15. Pp: 1009–1033. <https://doi.org/10.1007/s11101-016-9461-5>.

Jara, A. (2013). Análisis fitoquímico y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de la especie *Piper imperiale* (Piperaceae). Bogotá: Universidad De Ciencias Aplicadas Y Ambientales U.D.C.A

Jaramillo B., Duarte E., Pino N. (2015) Evaluación de la actividad repelente de aceites esenciales de plantas Piperáceas del departamento de Chocó, Colombia. Grupo de Investigaciones Agroquímicas, Programa de Química, Facultad de Ciencias Exactas y

Naturales, Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia. Grupo de Productos Naturales, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Chocó, Colombia. Rev. Toxicol 32: 112-116.

Khan, M.R., Omoloso, A.D. (June 2002). Antibacterial activity of *Hygrophila stricta* and *Peperomia pellucida*. Volume 73. Pages 251-254. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00066-7](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00066-7).

Kiran SR, Bhavani K, Devi PS, Rao BRR, Reddy KJ. Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi* Bioresour Technol. 2006; 97: 2481-2484.

Lago J., A. Oliveira, E. Guimaraes, M. Kato. 2007. 3 Ishwarone y 3 Ishwarol, sesquiterpenos raros en aceite esencial de las hojas de *Peperomia oreophila* Hensch. Journal of the Brazilian Chemical Society. 18:638-642. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532007000300022>.

Martínez Colín, Marco A.; Engleman M., Koch E., Stephen D. (2006). Contribución al conocimiento de *Peperomia* (Piperaceae): fruto y semilla, Boletín de la Sociedad Botánica de México, núm. 78, pp. 83-4-94, Sociedad Botánica de México, Distrito Federal, México.

Méndez., A. (18 de julio del 2011). Cromatografía en Columna. La Guía-Química. Obtenido de: <https://quimica.laguia2000.com/general/cromatografia-en-columna>.

Mora-Vivas F., Velasco, J., 3, Díaz, T., Rojas-Fermín, L., Díaz L., Ríos N., Carmona J. (2016). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Peperomia acuminata* de los Andes venezolanos. Revista Peruana de Biología. Vol.23. No.3. Lima.

Navarro, G. (2004). Comprobación del Efecto Cicatrizante de *Peperomia Scutellaefolia* R. ET. P., Aspecto Etnofarmacológicos, Botánicos y Estudio Químico. Elaboración y formato PDF por la Oficina General de Sistemas de Bibliotecas y Biblioteca Central.

Noriega Rivera, Paco Fernando, Guerrini, Alexandra, & Ankuash Tsamaraint, Edwin. (2014). Composición química del aceite esencial de hojas de *Siparuna schimpffii* Diels (limoncillo). Revista Cubana de Plantas Medicinales, 19(2), 128-137. Recuperado en 11 de enero de 2018, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200002&lng=es&tlng=es.

Novara, L. J. (Febrero de 1998). Aportes Botánicos de Salta. Obtenido de <http://www.unsa.edu.ar/biblio/herbario/flora/vol5/pdf/1.%20PIPERACEAE.pdf>.

Parra, J. (2011). Contribución al Estudio Fitoquímico de la Parte Aéreas de Piper cf. *cumanense* Kunth (Piperaceae). (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Parmar, V., Jain, S., Bisht, K., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., y otros. (1997). Phytochemistry of the genus Piper. *Sciencie Direct*, 77.

Piñeros J., H. Garcia-Barriga, A. Iregui, E. Prias, C. Perdomo, H.F. Puerta. (1992). Plantas Medicinales, Compendio de Farmacología Vegetal, 2da ed., Escuela de Medicina Juan N.Corpas, Fondo Editorial Universitario, Santa Fé de Bogotá, DC, 211 pp.

Plantas Colombianas. (12 de Abril de 2010). Plantas Colombianas. Recuperado el 04 de Noviembre de 2014, de <http://plantascolombianas.blogspot.com/2010/04/cordoncillo-nombre-cientifico-piper.html>.

Ramírez, R. N., Mora F., Ávila, J. L., Rojas, L. B., Usubillaga, A., Segnini, S., Carmona, J. (2012). Composición química y actividad larvicida del aceite esencial de *Annona cherimola* Mill. de Los Andes venezolanos contra el mosquito *Aedes aegypti* (L.) Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes, Mérida, 5101, República Bolivariana de Venezuela. *Rev Fac Farm.* 53 (2): 2-6.

Rivera D. (2008). Caracterización de aceites esenciales por cromatografía de gases de tres especies del género Piper y evaluación de la actividad citotóxica. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Scalvenzi, L., Yaguache-Camacho, B., Cabrera-Martínez, P., & Guerrini, A. (2016). Actividad antifúngica in vitro de aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam.) *Kosterm.* y *Piper aduncum* L. *Bioagro*, 28(1), 39-4.

Sherma. Thin-Layer Chromatography. In R.A. Meyers. 2002. *Encyclopedia of analytical Chemistry*. Wiley, Chichester.

Silva A.C., D. Andrade, E.H.A. Carreira, L.M.M. Guimarães, E.F. Maia, J.S. Guilherme. (2006). Essential Oil Composition of *Peperomia serpens* (Sw.) Loud. *Journal of Essential Oil Research.* 18:269-271. Doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2006.9699084>

Trópicos. (03 de Noviembre de 2014). tropicos.org. Obtenido de <http://www.tropicos.org/SpecimenGeoSearch.aspx>

Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM (2007). Técnicas Cromatográficas. Química Analítica Instrumental II. Capítulo 1.

Velozo, L., Ferreira, M., Santos, M., Moreira, D., Emerenciano, V., Kaplan, M.A. (2006). Unusual chromenes from *Peperomia blanda*. *Phytochemistry*. Volume 67, Issue 5, Pages 492-496. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.12.012>

Verma R., Padalia, R., Goswami P. & Chauhan, A. (03 Mar 2014). La composición del aceite esencial de *Peperomia pelúcida* (L.) Kunth de la India. *Revista de Investigación de aceite esencial*. Volumen 27, 2015 - Número 2. Pages 89-95. <https://doi.org/10.1080/10412905.2014.982878>.

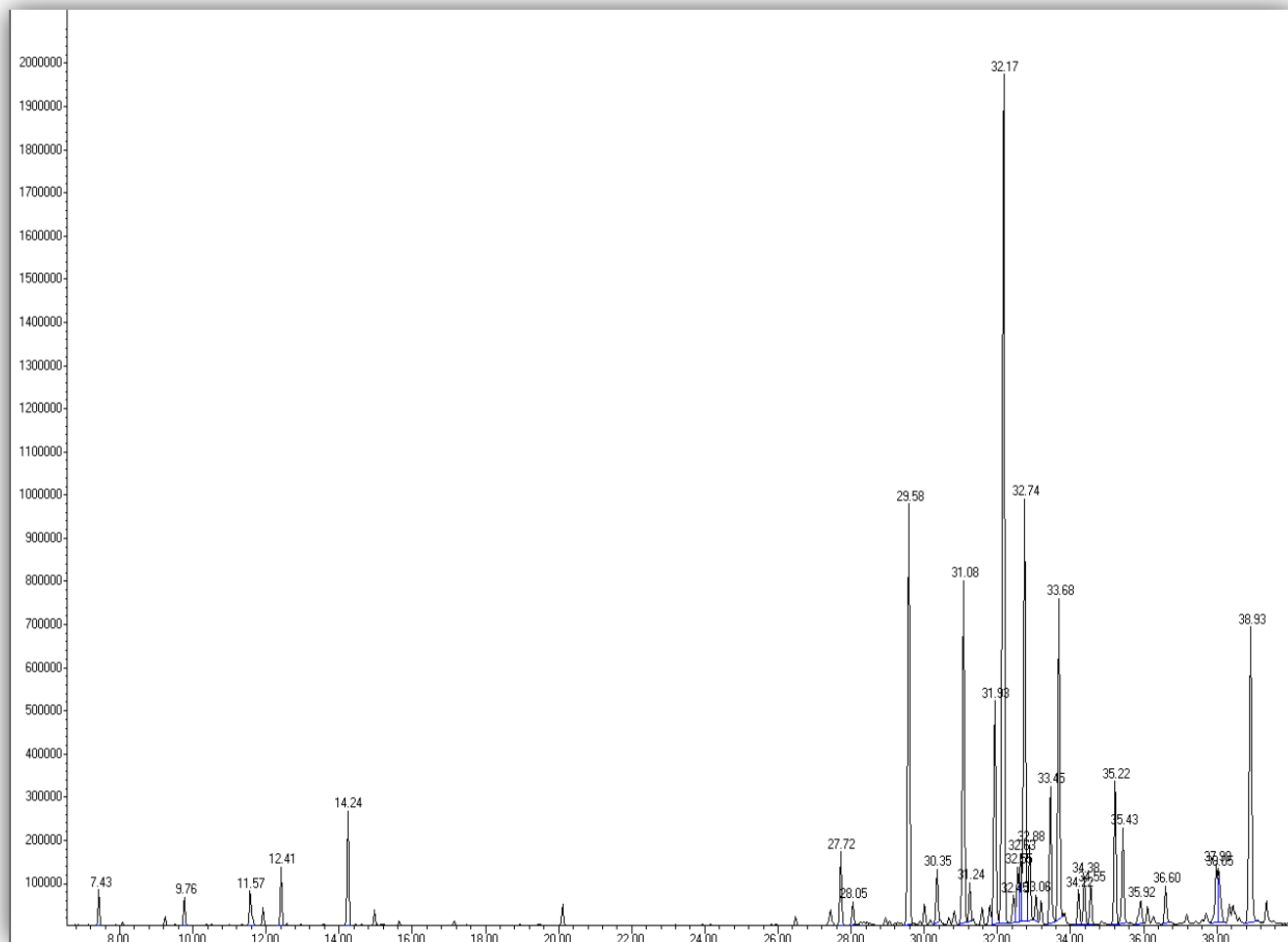
Virinder, S. P., Subhash, C. J., Kirpal, S. B., Rajni, J., Poonam, T., Amitabh, J. (1997). *Phytochemistry*. 46, 597-673.

Winn W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., Woods, G. (2006). *Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas en color*. 6ta ed. México: Editorial Médica Panamericana, reimpresión 2013. Pp. 178-180.

ANEXOS

Anexo 1:

Cromatograma de *Peperomia galioides* Kunth.



Cromatograma de la Fracción PG16 del extracto de acetato de etilo.

