

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE ZOOTECNIA



EFFECTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO DE *Piper aduncum linneo*
(cordoncillo blanco) y *Piper peltatum* (santa maría) CONTRA *Trichophyton sp.* IN
VITRO, EN TINGO MARIA

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

REÁTEGUI HIDALGO, IDALIA

Tingo María – Perú

2015

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación va dedicado en especial a mi Dios de lo imposible y mis queridos padres: Washinton Reategui Upiachihua y Elida Hidalgo Perez; quienes con sus esfuerzos y apoyo incondicional, hicieron posible la formación de mi carrera profesional y hacer de mí una persona de bien para el desarrollo de la sociedad emergente.

A mis hermanos: Marbely Reategui Hidalgo Keilly Reategui Hidalgo, Fernando Hidalgo Navarro, Luis E. Silva Hidalgo y a mis sobrinos, Maria, Fabian, Edson, Thiago, todos ellos con mucho cariño y amor.

A mis amigos que siempre estuvieron conmigo en los buenos momentos y en los más difíciles de mi vida académica: Luis Orlando, Maribel, Mery, Jessica, Sr. Michel.

AGRADECIMIENTO

- A nuestro Dios Padre por brindarme la fortaleza física y mental en mi vida cotidiana y guiarme por el buen camino durante mi formación profesional.
- A la UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA, Alma Mater y pionera de la Amazonía Peruana, por brindarme la oportunidad de compartir su albergue durante mi formación profesional.
- A la Facultad de Zootecnia y a los docentes, por brindarme sus sabios conocimientos, experiencia profesional y todas las facilidades necesarias para la culminación de mi carrera profesional.
- A mis asesores Ing. Marcos ROJAS PAREDES, Med. Vet. Lisandro TAFUR ZEVALLOS, quienes con su apoyo intelectual hizo posible la culminación del trabajo de investigación.
- A mis jurados Med.Vet. Msc. Teodolfo VALENCIA CHAMBA, Blga Margarita ALCEDO ROMERO, quienes apoyaron en la ejecución y evaluación al trabajo de investigación.
- A los colaboradores CITBAN por el apoyo incondicional para ejecutar la investigación.
- Al Dr. Cesar LÓPEZ LÓPEZ jefe de microbiología Ambiental por brindar la accesibilidad del laboratorio para la investigación.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Tratamientos en estudio	27
2. Efectividad antifúngica de <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> sobre <i>Trichophyton sp.</i>	31
3. Prueba de contraste en la Inhibición de <i>Trichophyton sp.</i> a la aplicación de <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i>	31
4. Efecto de la concentración <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> en la inhibición de <i>Trichophyton sp.</i>	32
5. Efecto de la concentración <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> en la inhibición de <i>Trichophyton sp.</i>	33
6. Prueba de contraste para la concentración <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> en la inhibición de <i>Trichophyton sp.</i>	33
7. Efecto del tiempo de dosificación de <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper</i> <i>peltatum</i> en la inhibición de <i>Trichophyton sp.</i>	34
8. Prueba de contraste para el efecto del tiempo de dosificación de <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> en la inhibición de <i>Trichophyton sp.</i>	35
9. Diámetros de inhibición por repeticiones	63
10. Medias por mínimos cuadrados para diámetro con intervalos de confianza del 95.0%.....	66
11. Protocolo de Análisis de tamizaje Fitoquímico <i>Piper Peltatum</i>	67

12. Protocolo de Análisis de tamizaje Fitoquímico *Piper Aduncum*

Linneo 68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Inhibición de <i>Trichophyton sp.</i> por la aplicación de <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i>	30
2. Influencia del tiempo de aplicación de <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> en la inhibición de <i>Trichophyton sp</i>	35
3. <i>Trichophyton sp</i>	69
4. Molido de muestras de hojas del genero <i>Piper</i>	69
5. Adición de alcohol para la preparación de mezcla alcohólica	70
6. Remoción de partículas grandes de la mezcla alcohólica.....	70
7. Filtrado de concentrado de mezcla alcohólica.....	71
8. Extracción de aceites esenciales.....	71
9. Esterilización por autoclavado de medio de cultivo	72
10. Rotulado de tratamientos estudiados	72
11. Acondicionamiento de los pozos	73
12 Adición de antifungico a los pozos	73
13 Encubado de placas	74
14 Comparación de muestras con porcentaje de 70%.....	74
15 Comparación de muestras con porcentaje de 40%	75
16 Lectura de los diámetros de inhibición por actividad antifúngica	75

RESUMEN

Los efectos de algunas de las drogas antifúngicas utilizadas en la medicina convencional inducen a la resistencia del especie *Trichophyton sp.* Que son hongos adaptados al tejido cutáneo produciendo micosis en cuyes. Los estudios han revelado compuestos con actividad antifúngicas. Lo que se plantea el problema: ¿Cuál de las especies más conocidas del género Piperácea oriundas del Perú poseen mayor actividad antifúngica?

La investigación se realizó de enero a marzo de 2011 en el laboratorio de Sanidad Animal, Facultad de Zootecnia en la Universidad Nacional Agraria de la Selva, distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, Perú; tuvo por objetivo determinar la efectividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas del matico; de las variedades, cordoncillo blanco (*Piper aduncum linneo*) y santa maría (*Piper peltatum*) mediante la técnica de posos de filtración in vitro aplicadas ajustado a un DCA.

Se estudió al *Trichophyton sp* que afecta a cuyes (*Cavia cobayo*), en la zona; probándose concentración de aceites esenciales de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* diluidos al 40% y 70% al cual se evaluó crecimiento, inhibición y resistencia.

El análisis fitoquímico realizado determinó que ambas especies presentan altos niveles de taninos; lo que explica su efectividad antifúngica en el control del *Trichophyton sp.*; La dosis de mayor efectividad se obtuvo al 70% en la segunda semana.

Palabras Claves: *Trichophyton*, Dermatomicosis, *Piper aduncum linneo*, *Piper peltatum*

I. INTRODUCCIÓN

Los hongos patógenos están bien adaptados para invadir el tejido cutáneo produciendo enfermedades micóticas para lo cual utilizan una gran variedad de sustratos como fuente de carbono, nitrógeno y energía, de ahí la dificultad que presenta su control. La principal enfermedad micóticas en los animales domésticos, se relaciona a la especie *Trichophyton sp.*

Los efectos adversos y poco efectivos de algunas de las drogas antifúngicas utilizadas actualmente en la medicina convencional que además inducen frecuentemente a la resistencia, propone un estudio de la actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular, sobre todo en el control de enfermedades antifúngicas como resultado numerosos investigadores han encaminado sus trabajos hacia la búsqueda y aplicación de nuevos compuestos biológicamente activos que exhiban efectos secundarios mínimos.

Los estudios químicos realizados sobre las especies piperácea han revelado la aparición de pironas, lignoides y chromenes además de varias amidas, que mostraron actividad potente insecticida y propiedades antifúngicas (MOREIRA, 1998) (ALÉCIO, 1998) (BENAVIDES, 1999). La zona tropical y

subtropical del Perú tiene más de 700 especies de la planta conocida como mático (FLORES *et al.*, 2000); lo que genera el siguiente problema: ¿Cuál de las especies más conocidas del género Piperácea oriundas del Perú poseen mayor efectividad antifúngica? Por lo que, se plantea la siguiente Hipótesis: El extracto etanólico de las especies oriundas del Perú más conocidas del genero piperácea como el cordoncillo blanco (*Piper aduncum linneo*) y la santa maría (*Piper peltatum*) presentan efectividad antifúngica in vitro.

1.1. Objetivo general

Determinar la efectividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas del matico; de las variedades, cordoncillo blanco (*Piper aduncum linneo*), y santa maría (*Piper peltatum*) in vitro sobre el *Trichophyton sp.*

1.1.1. Objetivo específico

- Determinar la efectividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas del cordoncillo blanco (*Piper aduncum linneo*) y santa María (*Piper peltatum*) en el control del *Trichophyton sp.*
- Establecer la dosis de mayor efectividad del extracto etanólico las hojas de cordoncillo blanco (*Piper aduncum linneo*) y santa maría (*Piper peltatum*).
- Definir el tiempo de dosificación más adecuado para las distintas dosis de las hojas del cordoncillo blanco (*Piper aduncum linneo*) y santa maría (*Piper peltatum*).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Características de plantas medicinales en estudio.

2.1.1. *Piper aduncum* linneo (Cordoncillo blanco)

Clasificación taxonómica *Piper aduncum* linneo (BOTANICAL, 2016)

Taxonomía

Reino Plantae

Phylum Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Orden Piperales

Familia Piperaceae

Género *Piper*

Epíteto Específico *aduncum*

Epíteto Linneo

Hábitat:

Nativo de la amazonia sudamericana, se distribuye desde México hasta el norte de la Argentina (STEVENS *et al.*, 2001).

Descripción botánica:

Arbusto foliáceo, de crecimiento de acuerdo a su habitad, generalmente de 1 a 6 metros de altura. La madera es blanquecina dura, con fragilidad en la medula. Gruesa, solida, y ningunos anillos anuales. Los vástagos presentan nudos hinchados, lisos y de color gris o verde. Las drupas con semillas blancas (HOWARD, 1988; LIOGIER, 1985).

Farmacología:

Extractos de las hojas y de las raíces del cordoncillo blanco se utilizan en medicina complementaria como: Tónicos para controlar diarreas, disenterías, eméticos, úlceras, también controlan la sangría (LIOGIER, 1990). Se ha demostrado el 98% de la inhibición in vitro del crecimiento de la *Leishmania amazonenses*; además presenta toxicidad baja de la célula huésped (TORRES *et al.*, 1996). Los aceites esenciales han demostrado efectos Insecticidas, molusquicida y antibacterianos (GÓMEZ *et al.*, 1997; IBRAHIM *et al.*, 1996; ORJALA *et al.*, 1992).

Principio químico:

El principio activo químico presente en las hojas de *Piper aduncum linneo* es el 2', 6' - el methoxychalcone de dihidroxi-4'. (ORJALA *et al.*, 1992).

2.1.2. *Piper peltatum* (Santa maría)

Clasificación taxonómica de *Piper peltatum* (BOTANICAL, 2016).

Taxonomía

Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Piperales
Familia	Piperaceae
Género	Piper
Epíteto Específico	peltatum

Hábitat:

Bosques de tierras bajas o matorrales húmedos o lluviosos, 600 msnm o menos. (BOTANICAL, 2016).

Descripción botánica:

Plantas erectas, rígidas, total o casi totalmente herbáceas, generalmente de cerca de 1.5m de altura, escasamente ramificadas, los tallos diminutamente purulentos o casi glabros, suculentos; hojas largas, con pecíolo largo, ancho, largamente vaginado; láminas de las hojas muy delgadas, ovado-orbiculares, mayormente de 20 a 30cm de largo, algunas veces más anchas que

largas, abruptamente agudas en el ápice que es redondeado, base suavemente cordada o redondeada, peltada o casi glabras, verde oscuro en el haz, más pálidas y punteadas en el envés, palmatinervias desde el punto de inserción, el nervio principal usualmente divergente en 2 nervios que nacen en cada lado por encima de la base; comúnmente el pedúnculo es más pequeño que el pecíolo de 1 a 7cm de largo, glabro o escasamente puberentos con 4 a 10 espigas, que se encuentran en pedúnculos de 7 a 12mm de largo; espigas verde pálido, mayormente de 8 a 9cm de largo y 3.5mm de grosor, muy obtusas, las brácteas puberentos (STANDLEY, 1952).

Farmacología:

Se utiliza para la malaria, como febrífugo, para inducir el aborto, problemas del hígado, mordida de serpiente, infecciones cutáneas, úlceras externas, urticaria, es digestivo, repelente de insectos, sudorífico, antiinflamatorio, anticonceptivo, para el dolor estomacal y la diarrea (BASE DE DATOS NAPRALERT, 2005).

Química:

Químicamente se ha demostrado en Infusiones de raíz de *Piper peltatum* L. y *Piper umbellatum* L. que se utilizan en la medicina tradicional en la región amazónica y otras partes de América del sur para el tratamiento de la malaria (MILLIKEN, 1997). que ambas plantas producen el metabolito secundario 4- erolidylcatechol (KIJJOA *et al.*, 1980; MONGELLI *et al.*, 1999).

2.2. Características fotoquímicas de las piperáceas

2.1.3. 2.2.1. Aceites esenciales de una planta

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, el aceite esencial obtenido de las hojas contiene principalmente eugenol, de la corteza principalmente cinamaldehído y de la raíz del alcanfor (LOCK, 1994).

Los aceites esenciales químicamente están formados por la mayoría de los monoterpenos y algunos sesquiterpenos y compuestos aromáticos (LOCK, 1994).

2.2.2. Investigaciones fitoquímicas del género piper

El estudio fotoquímico de catorce especies del género *Piper* con actividad antifúngica y/o leishmanicida in vitro en Bolivia por extracción de diclorometano in vitro contra *neurospora crassa* y antiparasitaria contra leishmania. Las especies con actividad interesante fueron *Piper aduncum*, *Piper elongatum Vahl*, *Piper actifolium*, *Piper pilliraneum C. DC* y *Piper hispidum*, mediante estudios cromatográficos biodirigidos, se han aislado e identificado compuestos responsables de la actividad antifúngica y leishmanicida de *Piper aduncum* como 5,7-dihidroxi-flavanona, 5,7-dihidroxi-4metoxi-flavanona, ácido 3-(3', 7'-dimetil-3', 6'-octadienil)-4-metyoxibenzoico, el género piper ha reportado la

presencia de metabolitos del ácido mevalónico (monoterpenos y sesquiterpenos), metabolitos del ácido acético y shikímico (flavonoides) y relacionados al ácido shikímico (lignoides, arilpropanoides, amidas, etc.). Los metabolitos más frecuentes aislados son: amidas (cinnamoilamidas y alquilamidas); aristolactamas y otros alcaloides, flavonoides (flavona, dihidroflavonas, dihidrochalconas y o-metilflavonoides) notándose que la o-glicosilación es rara (NAVARRO, 2004).

2.3. Actividad biológica de los compuestos químicos de las piperáceas

2.3.1. Actividad del 2', 4'- dihidroxi 3'-metoxichalcona

Investigaciones de BLANCO *et al.* (1988) sobre ensayos microbiológicos con sustancias naturales de propiedades desconocidas, investigó y cuantificó el efecto ejercido por 2',4' -dihidroxi-3' -metoxichalcona (aislada del genero Piperacea de la especie *Zuccagnia punctata* en San Luis (Argentina), sobre el crecimiento de cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. mediante el método cinético turbidimétrico se determinó la concentración mínima inhibitoria (58,6 ug/ml) y se interpretó la actividad bacteriostática del compuesto mediante un mecanismo de inhibición que implica la complejidad de metales indispensables para el metabolismo del microorganismo.

LEE (2010) en la Publicación de la revista portuguesa de pneumonología de enero del 2010 reporto que el 2',4' -dihidroxi-3' – metoxichalcona presentaba efecto sobre la regulación de la composición lipídica de la pared celular del *Mycobacterium tuberculosis*.

2.3.2. Actividad de los monoterpenos

Los monoterpenos y en general todos los compuestos terpenoides naturales se biosintetizan por la ruta de la acetil coenzima a través de un intermedio común que es el ácido mevalónico (CHAPPELL, 1995) (GARVEY, 1995) (CHEMICAL, 1995) sin embargo, recientemente se ha propuesto que algunos terpenoides no se originan por esta ruta, sino por una ruta alterna que puede involucrar piruvato, gliceraldehído-3-fosfato y un intermedio de 5 átomos de carbono: 1-desoxi-xilulosa-5-fosfato (PHYTOCHEMISTRY, 1998).

2.3.3. Actividad de 5,7-dihidroxi-flavanona

Estudios realizados con flavonoides aislados como 5, 7-dihidroxi-flavanona exhibieron un fuerte efecto como atrapadores de radicales libres y por la presencia de sustancias activas al quercetina-3-metil éter, que causan lisis celular (ASTUDILLO *et al.*, 2000) (SAÚDE-GUIMARÃES, 2007), además presentan actividad antimicrobiana (CASTRO, 1995).

2.3.4. Actividad de ácido 3-(3',7'-dimetil-3',6'-octadienil) - 4-metyoxibenzoico

El ácido 3-(3',7'-dimetil-3',6'-octadienil)-4-metyoxibenzoico es responsables de la actividad antifúngica y leishmanicida que es un compuestos del extracto de diclorometano de *Piper aduncum* (FLORES, 2000). Así mismo investigaciones fitoquímicas de hojas de *Piper gaudichaudianum* y *Piper crassinervium* presentaron dos derivados del ácido benzóico, con resultados

potenciales antifúngicas contra *Candida krusei* y *Cryptococcus neoformans*, esto se explica por su actividad terpénica de 1, 3 y 4, de la molécula de la glucosa (LOPEZ, 2008).

2.3.5. Actividad del ácido shikímico

Su acción se basa en la inhibición de las neuraminidasas presentes en el virus de la gripe. Dichas neuraminidasas son las encargadas de liberar al virus de las células infectadas, y favorecer así su diseminación, estando éstas en el virión. Este compuesto es activo frente a las dos variedades del virus de influenza A y B. No modifica la respuesta inmunitaria y humoral contra el virus y otros antígenos no relacionados (ARANGO, 2010).

2.3.6. Investigación de la actividad antifúngica del género piper

El análisis fotoquímico preliminar revela la presencia de taninos y compuestos fenólicos entre sus principales constituyentes, los cuales pueden ser los responsables de la actividad biológica. En este género se han reportado los siguientes compuestos antifúngicos: hidroquinonas, preniladas y sakuretina, con actividades comparables a los controles (nistatina y miconazol); canfor y canfeno principales constituyentes del aceite esencial de *Piper angustifolium*; numerosas amidas; derivados del ácido benzoico, neolignanós y derivados ciclopentanodionas (coruscanona A y B); (HUAMANÍ y RUIZ, 2005).

Los taninos contribuyen a su actividad cicatrizante; los flavonoides tienen propiedades antioxidantes y protectoras de la membrana celular (ARROYO *et al.*, 2003).

El aceite esencial de *Piper* sp. fue probado contra el hongo *Clinipellis perniciososa*, conocido como escoba de "brujas" responsables de los ataques de patógenos de cacao. La concentración de 50 a 100 ppm inhibe el crecimiento del 100% y la germinación de este hongo (BASTOS, 1997 citado por Sousa *et al.*, 2008). En un estudio similar el aceite esencial de *Piper* sp. El *Piper aduncum* presenta excelente rendimiento 2,5 a 3,5% y es rico en dillapiol, este compuesto, con una pureza del 99,0%. fue probado y demostró ser responsable de la actividad fungicida, larvicida, insecticida y molusquicida. (ALMEIDA, 2004 citado por Sousa *et al.*, 2008).

De doce extractos investigados, seis presentaron actividad antifúngica consistente con un diámetro de halos de inhibición 18mm (Prueba de difusión en agar) donde el extracto etanólico de las hojas de *Piper* sp. (Matico) mostró actividad contra *Candida albicans* ATCC 10231, con un halo de inhibición de 19 mm y una CMI de 500 µg/mL, y un halo de inhibición de 17 mm para *Candida albicans* cepa clínica; y además tiene una débil actividad contra el hongo filamentoso *Aspergillus niger* ATCC 16404, con un halo de inhibición de 13 mm. Es la primera vez que se reporta esta actividad en esta especie, pero existen numerosas especies de este género que tienen actividad antifúngica entre ellas tenemos *Piper crassinervium* Kunth, *Piper lanceaefolium* HBK, *Piper angustifolium*,

Piper guineense, *Piper tuberculatum*, *Piper arboreum*, *Piper hispidum*, *Piper fulvescens*, y *Piper coruscans*. (HUAMANÍ y RUIZ, 2005).

VÁSQUEZ,(2003) citado por Calixto, (2006), en una investigación, probó el aceite esencial de *Piper angustifolium* para comprobar su efectos fungicida sobre *Candida albicans* en prótesis dentales, el efecto fue probado a través de un número de colonias formadoras de *Candida albicans*, antes y luego de 5 y 15 días de tratamiento. Al inicio de la investigación se encontró 29 colonias aisladas a nivel del paladar y 318 colonias obtenidas en la prótesis. A los 5 días después de haber aplicado el aceite se encontró 14 colonias a nivel de la mucosa y 54 colonias en la prótesis a los 15 después del tratamiento se observó que el número de colonias de la mucosa del paladar se redujo notablemente hallándose en la mayoría casos de ausencia de colonias de *Candida albicans* lo cual indica que el uso de aceites esenciales durante 15 días constituye una alternativa en el tratamiento de candidiasis sub protésica.

Al evaluar la actividad antioxidante de extractos no alcohólicos obtenidos de las hojas de *Piper peltatum* sometidas a cromatografía en columna y 3 fracciones fueron obtenidas; el potencial antioxidante se determinó sobre la base de la capacidad reductora medida por el ensayo de FRAP (ferric reducing ability of plasma) y de la capacidad de atrapamiento del radical estable 2-2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH, 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Todas las muestras evaluadas mostraron buena capacidad antioxidante frente a los métodos

aplicados, la identificada como fracción 1 fue la más promisoría, inclusive más eficiente que el ácido ascórbico

(inhibición radical DPPH: 75 y 68 %, respectivamente), demostrando que todas las muestras evaluadas poseen propiedades antioxidantes, lo cual soporta el uso tradicional de *Piper peltatum* para el tratamiento de diferentes afecciones de la piel y otras enfermedades. (PUERTAS, 2009).

En un estudio que tuvo como objetivo realizar extractos etanólicos crudos a partir de diferentes partes de la planta (raíz, hojas, botones florales, fruto y/o planta entera) pertenecientes a 13 familias siendo una de ellas el *Piper peltatum*, evaluadas en diferentes concentraciones de estos, bajo condiciones in vitro, midiendo el efecto de la actividad antifúngica contra *Mycosphaerella fijiensis Morelet*, causante de la Sigatoka negra en bananos y plátanos. Los extractos mostraron una actividad antifúngica tanto en germinación de esporas como en desarrollo de colonias de *M. fijiensis* siendo en algunos casos más efectivos que el fungicida sintético (Tilt), (ARCINIEGAS, 2002).

En un estudio de los extractos etanólico de las especies *Piper tricuspe*, *Piper peltatum*, *Piper gorgonillense*, *Piper multiplinervium*, *Piper tuberculatum* y *Piper hispidum*, para determinar su actividad antibacteriana in vitro contra microorganismos patógenos de interés clínico humano *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Scherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella tiphy*, *Klebsiella pneumoniae*, mediante los métodos de dilución en placas de agar

mostrando como resultados que todas las especies presentan algún tipo de actividad con concentraciones de 40 mg/ml contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*, excepto *Piper tuberculatum*., siendo los mejores resultados para *Piper tricuspe*, *Piper gorgonillense*, y *Piper hispidum* entre <5mg/ml >2,5 mg/ml, con la cepa de *Bacillus subtilis* y *Piper tricuspe* además con *Staphylococcus aureus*. (PINO, 2008).

Los extractos de 14 especies vegetales del género piper fueron evaluados in vitro por su actividad antifúngica contra *Neurospora crassa*. Las especies con actividad interesante fueron *Piper aduncum*, *Piper elongatum Vahl*, *Piper acutifolium*, *Piper Pilliraneum C.DC* y *Piper hispidum*. Lográndose aislar e identificar compuestos responsables de la actividad antifúngica de *Piper aduncum* como 5,7- dihidroxiflavanona, 5,7-dihidroxi-4metoxi-flavanona, Acido 3-(3',7'-dimetil-3',6'-octadienil)-4-metoxibenzoico. Las estructuras fueron definidas por métodos espectroscópicos, y de RMN de ¹H y ¹³C (1 y 2D). (FLORES *et al.*, 2000)

En un estudio realizado en tres piperáceas panameñas, se identificó la composición química de los aceites esenciales de las hojas de *Piper arboreum*, *Piper fimbriulatum* y *Piper obliquum*. Los principales constituyentes de *Piper arboreum* fueron 8-cadineno, -copaeno y -pineno; en el aceite de *Piper fimbriulatum*, -cariofileno y monoterpenos oxigenados como linalol y acetato de linalilo, en *Piper obliquum* se identificó -cariofileno, espatulenol y algunos

sesquiterpenos no caracterizados previamente tales como 1,5-epoxisalvial-4 (14) eno y el -selineno (CRUZ, 2005).

En un estudio realizado en Costa Rica se obtuvo el aceite esencial de las hojas de *Piper terrabanum*, mediante el procedimiento de hidrodestilación, con un rendimiento de 0.10% en relación con el peso del material fresco. La composición del aceite se estudió utilizando la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). En el análisis se detectaron 78 señales y se identificaron 42 compuestos en forma total o parcial, correspondientes a un 90.2% del aceite. Los principales compuestos identificados fueron los hidrocarburos terpénicos -cariofileno, germacreno-D, -humuleno y -pineno, y el alcohol sesquiterpénico cis-nerolidol. Es de resaltar en este estudio, la ausencia de fenilpropanoides como constituyentes del aceite esencial de este piper y que son característicos en muchos de los aceites de estas plantas (CICCIÓ, 2006).

Se analizó el aceite esencial de *Piper capense*, *Piper nigrum*, *Piper guineense* y *Piper umbellatum* por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM) y RMN ¹³C y se encontró que los constituyentes mayoritarios fueron monoterpenos para *Piper capense* (-pineno, -cariofileno); *Piper nigrum* (limoneno, -cariofileno, sabineno y -pineno); *Piper umbellatum* (-pineno, -pineno y (E)-neralidol) y derivados de fenil propanoides encontrados en *Piper guineense* (dilapiol y miristicina) (CRUZ, 2005).

En Guatemala se realizó un estudio en el cual se identificaron cinco especies del género piper de las cuales cuatro son nativas y se distribuyen principalmente en Mesoamérica, dentro de éstas se mencionan: *Piper aeruginosibaccum*, *Piper hispidum*, *Piper patulum*, *Piper auritum* y *Piper aduncum* con una distribución más amplia. La extracción del aceite esencial y determinación del rendimiento se obtuvo como resultado que la especie que presenta mayor rendimiento

es *Piper auritum* (2.0%) seguida de *Piper aduncum* (1.64%), *Piper hispidum* (0.46%), *Piper patulum* (0.45%) y la de menor rendimiento es *Piper aeruginosibaccum* (0.3%). En estas especies de piper se identificaron monoterpenos como componentes mayoritarios y se observó que *Piper auritum* y *Piper hispidum* presentan mayor número de monoterpenos, seguido de *Piper patulum*, *Piper aeruginosibaccum* y *Piper aduncum*. Mediante el tamizaje fitoquímico se identificaron flavonoides, saponinas, principios amargos, alcaloides y aceite esencial en todas las especies, cumarinas únicamente en *Piper auritum*, y antraquinonas en muy poca cantidad en *Piper auritum*, *Piper asuncum*, *Piper aerugnosibaccum* y *Piper hispidum*. (CRUZ, 2005).

2.3.7. Investigaciones del género *piper* en la Provincia de Leoncio Prado

RAMOS (2005) realizó la evaluación de del matico de diferentes zonas geográficas de la Provincia de Leoncio prado, tales como Marona Baja, Tingo María, Tulumayo, San Isidro y Honolulo, donde se encontró mayor prevalencia del

Piper aduncum L. en todas las zonas. Así mismo el *Piper aduncum* L. presenta mayor capacidad antioxidantes que el *Piper hispidium* Swartz, *Piper glabratum*, Kunth y *Piper aequale* M. Vahl, en las diferentes zonas de estudio; esta diferencia probablemente se deba a la disponibilidad y habilidad del grupo hydroxy en su estructura química. También se indicó que a mayor concentración habrá mayor captación de radicales de DPPH. Al comparar la eficiencia de inhibición DPPH, para cada una de las zonas, se observó que existe variación en cuanto al coeficiente de inhibición entre las zonas,

encontrándose que *Piper aduncum* L., de la zona de Honolulu se comporta mejor secuestrando el radical DPPH.

Por otro lado, RAMOS (2005) encontró, que el *Piper aduncum* L. provenientes de las diferentes zonas presentan de contenido componentes fenolicos entra 2.44 y 4.94 mg. AGE/g, siendo estos los mejores constituyentes para la actividad antioxidantes. Esta misma especie muestra resultados del porcentaje de inhibición de peróxido de hidrogeno (H_2O_2), entre 89 y 96 % del ácido ascórbico. Esto debido a los componentes fenólicos en las plantas que juegan un rol muy importante como antioxidantes naturales. El *Piper aduncum* L., mostro tener mayor capacidad reductiva expresado en ug Ácido Ascórbico Equivalente /ml del extracto. La zona con mayor contenido de flavonoides 3-hydroxy sustituido del *Piper aduncum* L., fue Honolulu con 0.0699 mg.AGE/g.

En un estudio realizado se determinó efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales (guayaba (*Psidium guajava* L), verbena (*Verbena officinalis*) y matico (*Piper angustifolium*), contra el *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp in vitro, en Tingo María. La Verbena tuvo: 0.52, 0.63, 0.73 y 1.07 mm para 10, 40, 70 y 100% respectivamente; en este mismo orden de porcentaje el matico tuvo efectividad de 0.40, 0.45, 0.64 y 0.86; mientras que la guayaba tuvo 0.37, 0.42, 0.53. y 0.53 mm. La efectividad contra el hongo *Trichophyton* sp. del matico: 0.58, 0.71, 0.81 y 0.90 mm para 10,40, 70 y 100% respectivamente; en este mismo orden de porcentaje la verbena 0.53, 0.62, 0.66 y 0.75; mientras que la guayaba 0.53, 0.57, 0.66 y 0.71. La efectividad contra el *Trichophyton* ps y *Microsporum* sp fue a partir del 70% en la verbena y matico (SANCHEZ, 2010).

2.3.8. CLOTRIMAZOL

El clotrimazol es un medicamento antimicótico comúnmente usado para el tratamiento de infecciones (de humanos como de otros animales) tales como las infecciones vaginales por levaduras, candidiasis oral, y dermatofitosis (tiña). (MARIEB & HOEHN, 2010).

El clotrimazol está comúnmente disponible como una sustancia de venta libre en diversas formas de dosificación, tales como en crema, y también (especialmente en el caso de infecciones del oído) en una combinación de medicamentos. También está disponible como pastillas de garganta. Para infecciones de oído, el clotrimazol se aplica usualmente en forma líquida, como

gotas óticas. Las infecciones por hongos pueden ser lentas en su recuperación, por lo que el curso normal para un agente antimicóticos es, en general, más largo que los típicos 3-7 días de un antibiótico. El clotrimazol también se encuentra comúnmente en combinación con betametasona, para añadir propiedades esteroideas. Además, el clotrimazol es usado para tratar la deformación de las células (relacionados con la anemia de células falciformes) mediante el bloqueo de los canales iónicos en la membrana de los glóbulos rojos, manteniendo los iones y el agua dentro de la célula. (FONSECA 2004).

El mecanismo principal de acción del clotrimazol es la inhibición de la división y crecimiento de hongos. El clotrimazol altera la permeabilidad de la pared celular fúngica e inhibe la actividad de enzimas dentro de la célula. Estudios demuestran que las concentraciones mínimas de clotrimazol causan la fuga de compuestos de fósforos intracelulares hacia el medio ambiente junto con la descomposición de los ácidos nucleicos celulares y una aceleración en la salida de K^+ .³ Esto conduce eventualmente a la muerte de la célula. No se propaga apreciablemente a través del cuerpo del usuario, pero se mantiene en el punto de aplicación. (FONSECA 2004).

2.4. Generalidades de la dermatomicosis

2.4.1. Agente etiológico de la dermatomicosis

La mayor incidencia de micosis se debe a los agentes *Microsporum canis* en un 84,4% y *Trichophyton mentagrophytes* en 46,6% de acuerdo al

estudio micológico, donde se tomaron muestras aleatorias de escamas epidérmicas de 12 conejos (*Oryctolagus cuniculus* L.) y 32 cobayos (*Cavia porcellus* L.) (MOYA, 2003) así también menciona que el *Trichophyton* sp es un hongo filamentoso que invade las capas superficiales queratinizadas de la piel, pelos y uñas, debido a que poseen en su pared celular un equipo enzimático especializado en descomponer la queratina, proteína compleja de la cual se nutren. (MOYA, 2003)

Además, SILVA (2007) describe, los hongos pueden presentar dos tipos de organización celular (filamentosa o levaduriforme): En los hongos filamentosos la estructura básica es una hifa (estructura pluricelular alargada de paredes paralelas) cuyo conjunto da lugar a un micelio o talo. En los hongos levaduriformes, la estructura básica es unicelular (levadura), aunque puede formar un pseudomicelio y a veces incluso, desarrollar una hifa verdadera, así mismo, las candidas son clasificadas como levaduras. La membrana está constituida por una doble capa de diversos fosfolípidos (sobre todo ergosterol y zimosterol).

MURILLO (2001) señala que los hongos dermatofitos se desarrollan convencionalmente en el medio saboureaud dextrosa, previa obtención de muestras de pelo y escamas, estas se inoculan en forma aséptica, incubándose a 27°C, aun pH de 5,6; la velocidad de crecimiento en que se desarrollan es relativamente lenta, en general, de 5 -10 días hasta 3 semanas.

Un componente vital de la membrana plasmática de los hongos es el ergosterol (compuesto lipídico) por interferir en el transporte de nutrientes y la síntesis de quitina lo cual está relacionado con el crecimiento y proliferación del hongo, además sobre este compuesto actúa la mayoría de fármacos en la membrana fúngica (PASCUZZO, 2003).

Reportes de varias investigaciones que estudiaron la actividad antifúngica en el control de *Trichophyton mentagrophytes* usando diferentes aceites esenciales, entre ellos el aceite esencial del *Piper aduncum* observaron una actividad anti dermatofítica bien definida. (HABTEMARIAM, 1992 citado por Hernandez, *et al.*, 2003).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y fecha de ejecución

3.1.1. Ubicación política y geográfica

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Sanidad Animal de la Facultad de Zootecnia en la Universidad Nacional Agraria de la Selva que se encuentra ubicada en la ciudad de Tingo María, Distrito de Rura Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco con una altitud de 668 m.s.n.m, 09°17'03" de longitud sur y de 76°01'07" latitud oeste. La topografía de la ciudad ligeramente accidentada (UNAS, 2005).

3.1.2. Fecha: La investigación se inicia en enero del 2011 finaliza en marzo del 2011.

3.2. Aspectos ambientales

La topografía de la ciudad es ligeramente accidentada, ecológicamente considerada como bosque pre-montano tropical muy húmedo, en promedio presenta una temperatura media anual de 26 °C, con humedad relativa de 80.5%, y precipitación pluvial media anual de 3220 mm, distribuidos con mayor intensidad en los meses de noviembre a marzo. (UNAS, 2005).

3.3. Unidades experimentales

3.3.1. Agente fúngico a tratar

Se estudió como agente fúngico al *Trichophyton* sp que afecta a cuyes (*Cavia cobayo*), obtenido de casos clínicos confirmados de dermatomicosis cutánea en cuyes, procedentes de las granjas de la zona; las cuales mediante toma de muestras y raspado fueron sembrados en placas Petri en el Laboratorio de Sanidad Animal, para generar un cepario de colonia pura.

3.3.2. Tipo de antifúngico

Como antifúngico se utilizó extracto etanólico de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*

3.3.3. Dosis de aplicación de antimicótico

Se probaron concentración de aceites esenciales de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* diluidos al 40% y 70% (PASCUAL, 2000).

3.3.4. Tiempo de dosificación

Se evaluó la aplicación de los antifúngicos en periodos de una semana, dos semanas y tres semanas.

3.4. Metodología experimental

3.4.1. Colecta de material vegetal

El material vegetal se recolectó en el perímetro de la ciudad universitaria de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS); entre las 6-7

am, con un peso de materia vegetal de 10 kg de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*, a fin de estandarizar el tiempo de recolección, dicha colecta considero hojas fisiológicamente sanas y maduras las que se envasaron en bolsas herméticas y se transportaron al Laboratorio de Nutrición.

3.4.2. Obtención de extractos etanólicos vegetales

Secado y molido de las hojas

En el Laboratorio de Nutrición se procedió al secado del material biológico en la estufa a 60 °C por 48 horas, posteriormente se realizó la molienda con una trituradora automática y posterior mente se tamizo para obtener la fracción menor a 0.1mm de diámetro (CORNELL, 1991).

Obtención del extracto etanólico

En un frasco ámbar de 2 L de capacidad se añadió 200 gr de la muestra pulverizada de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* a las que se les añadió 1000 mL de alcohol etílico de 95 ° y se almaceno por 7 días; en los cuales se realizó homogenizados diarios manuales mediante volteados cada 24 horas; obteniendo un concentrado de los componentes disueltos en el alcohol; al séptimo día se realizó el tamizado y filtrado con papel filtro watman N° 40 (CORNELL, 1991).

Los extractos etanólicos fueron almacenados en frascos herméticos de vidrio ámbar y transportado al Laboratorio del Centro de Investigación en Planta Naturales de la Amazonía (CIPNA), para su purificación mediante el uso del

rotavapor a 80 rpm con 120 libras de presión y un tiempo promedio de 4 horas por muestra, posteriormente los extractos fueron almacenados en frascos de vidrio herméticamente sellado.

Preparación de diluciones.

Cada uno de los extractos fueron diluidos con agua destilada hasta concentraciones del 40% y 70% respecto al sustrato puro (PASCUAL, 2000).

3.4.3. Obtención de *Trichophyton sp.*

A partir del cepario de *Trichophyton sp.*; se realizó el microcultivos en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, donde fueron reactivadas en caldo peptonado a 36 °C por 48 horas; posteriormente fueron repicados por estrías en agar sabouraud con antibiótico (penicilina) por 5 días a temperatura ambiente, posteriormente las placas petri fueron refrigeradas, para su aplicación en los tratamientos.

3.4.4. Test de sensibilidad en pozos de agar

El cultivo de investigación se realizó en el Laboratorio Sanidad Animal de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, utilizando 90 placas petri con medio agar sabouraud, previamente infestado con *Trichophyton sp.* mediante la técnica de siembra en profundidad; posterior al solidificado del agar sabouraud en cada placa petri se realizaron 4 pocetas de 5 mm de diámetro con un sacabocado.

A cada poceta de cultivo se añadió 1ml de extracto diluido de *Piper aduncum linneo* y 1 mL de extracto diluido de *Piper peltatum*; posteriormente se observó el crecimiento diario de *Trichophyton* sp. por 7 días (COLELLA, 2010), y se midió en milímetros, el diámetro de la zona clara de inhibición del crecimiento siguiendo la fórmula de (ALVAREZ *et al.*, 2005).

$$\% \text{ efecto de inhibición} = \frac{\text{Díam. halo inhib. del extracto}}{\text{Díam. halo inhib. control positivo}} \times 100$$

3.5. Diseño experimental

La efectividad antimicótica del extracto, de las hojas del *Piper aduncum* y *Piper peltatum* contra *Trichophyton* sp se determinó mediante el diseño con bloque completamente al azar (DBCA) donde el factor bloque se consideró el tiempo de aplicación del antimicótico (1 semana, 2 semanas y 3 semanas). Los tratamientos por el tipo de antimicótico (Clotrimazol, *Piper aduncum linneo* y Variedad *Piper peltatum*) teniendo como covariante la concentración de los antifúngicos (1% para el Clotimazol como control y 40% y 70% para *Piper aduncum linneo* y Variedad *Piper peltatum* como tratamientos) THE AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (1992).

Cada unidad experimental estuvo compuesta por una placa petri inoculada con *Trichophyton* sp. conteniendo 4 pocetas con antimicótico y seis repeticiones por tratamiento y su control respectivo de Clotrimazol al 1%.

3.6. Tratamientos en estudio

Los tratamientos en estudio fueron los siguientes:

Cuadro 1. Tratamientos en estudio

Tratamiento	Antifúngico	Tiempo (Semanas)	Concentración (%)	Repetición (placas)
T01	Clotrimazol	1	1	6
T02	Clotrimazol	2	1	6
T03	Clotrimazol	3	1	6
T1-1	<i>Piper aduncum linneo</i>	1	40	6
T1-2	<i>Piper aduncum linneo</i>	1	70	6
T1-3	<i>Piper aduncum linneo</i>	2	40	6
T1-4	<i>Piper aduncum linneo</i>	2	70	6
T1-5	<i>Piper aduncum linneo</i>	3	40	6
T1-6	<i>Piper aduncum linneo</i>	3	70	6
T2-1	<i>Piper peltatum</i>	1	40	6
T2-2	<i>Piper peltatum</i>	1	70	6
T2-3	<i>Piper peltatum</i>	2	40	6
T2-4	<i>Piper peltatum</i>	2	70	6
T2-5	<i>Piper peltatum</i>	3	40	6
T2-6	<i>Piper peltatum</i>	3	70	6

3.7. Variables en estudio

3.7.1. Variable independiente

- Variedad:

Piper aduncum linneo

Piper peltatum

- Tiempo de tratamiento

Una semana

Dos semanas

Tres semanas

- Concentraciones (covariante)

Dilución de extractos al 40%

Dilución de extractos al 70%

3.8. Análisis estadístico

3.8.1. Ajuste de diseño en bloques completamente al azar

Para el ajuste de los tratamientos y bloques en estudio se utilizó el modelo aditivo lineal siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + Vi + Cj + (V \times C)_{ij} + Bk + v_{ijk}$$

Dónde:

y_{ij}^k = Efectividad antifúngica sobre j-ésima cepa de hongo, en función a la aplicación de la i-ésima concentración de las plantas ,k-ésima semana

\sim = Media general

V_i = Efecto antifúngico de la i-ésima variedad Piperácea

C_j = Efecto antifúngico de la j-ésima concentración Piperácea.

$V \times C$ = Efecto de la interacción antifúngica de j-ésima concentración en la i-variedad Piperácea.

B_k = Efecto del k-ésima semana

V_{ij}^k = Error experimental

3.8.2. Prueba de Duncan

Se empleó la prueba de Duncan a fin de determinar entre que tratamientos y bloques había diferencias significativas, para un nivel de significación del 5%.

3.8.3. Variables dependientes

- Porcentaje de inhibición

IV. RESULTADOS

4.1. Efectividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en el control del *Trichophyton sp.*

En la Figura 1 se muestran los resultados Inhibitorios por la efectividad antifúngica de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en semanas sobre *Trichophyton sp.*; las observaciones reportan que existe mayor efecto a partir de la segunda semana de aplicación, de extracto etanólico de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*.

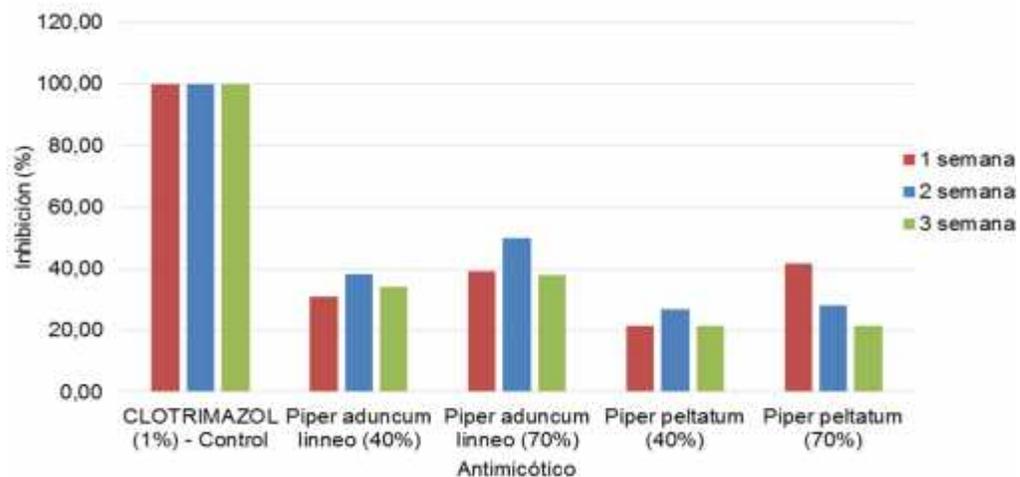


Figura 1. Inhibición de *Trichophyton sp.* por la aplicación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*.

El Cuadro 2 presenta los resultados de las observaciones de la efectividad antifúngica de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*. Sobre *Trichophyton sp.*, en contraste con el producto comercial y químico Clotrimazol.

Cuadro 2. Efectividad antifúngica de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* sobre *Trichophyton sp.*

Tratamiento	Observaciones	Media	Desviación típica
<i>Piper peltatum</i>	36	0.744565 ^a	0.0544421
<i>Piper aduncum linneo</i>	36	1.02385 ^b	0.0544421
Clotrimazol	18	3.13239 ^c	0.120289

Medias con letra distinta son significativamente diferentes entre sí a la prueba de Duncan (P<0.05)

El Cuadro 3 se muestra la prueba de contraste en la Inhibición de *Trichophyton sp.* a la aplicación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* y su relación entre ellos, observando que existe diferencias significativas altas cuando se comparan ambos extractos con el Clotrimazol, mientras que cuando se comparan ambos extractos entre si presentan una diferencia aceptable.

Cuadro 3. Prueba de contraste en la Inhibición de *Trichophyton sp.* a la aplicación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*.

Contraste	Sig.	Diferencia
Clotrimazol - <i>Piper aduncum linneo</i>	*	2.10854
Clotrimazol - <i>Piper peltatum</i>	*	2.38782
<i>Piper aduncum linneo</i> - <i>Piper peltatum</i>	*	0.279282

(*Diferencia significativa).

4.2. Dosis de mayor efectividad del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*.

El Cuadro 4 muestra efecto de la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton* sp.; en ambos extractos expresan efecto mayor cuando es aplicado en concentraciones de 70%.

Cuadro 4. Efecto de la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton* sp.

Tratamiento	Concentración (%)	Semanas (Bloque)	Diámetro (cm)	Inhibición (%)
Clotrimazol	1	1	2.61	100.00
<i>Piper aduncum linneo</i>	40	1	0.81	30.90
<i>Piper aduncum linneo</i>	70	1	1.02	39.16
<i>Piper peltatum</i>	40	1	0.56	21.50
<i>Piper peltatum</i>	70	1	1.09	41.84
Clotrimazol	1	2	2.96	100.00
<i>Piper aduncum linneo</i>	40	2	1.14	38.34
<i>Piper aduncum linneo</i>	70	2	1.48	49.83
<i>Piper peltatum</i>	40	2	0.80	26.86
<i>Piper peltatum</i>	70	2	0.84	28.27
Clotrimazol	1	3	2.88	100.00
<i>Piper aduncum linneo</i>	40	3	0.98	34.03
<i>Piper aduncum linneo</i>	70	3	1.10	38.02
<i>Piper peltatum</i>	40	3	0.62	21.53
<i>Piper peltatum</i>	70	3	0.62	21.61

Elaboración: Fuente propia

El Cuadro 5 expresa el efecto de la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton* sp, que con las 36 observaciones a concentraciones de 70% presentan una media muy cercana al

producto comercial; lo que expresa que mayor efecto se encuentra en concentraciones de 70% de ambos extractos.

Cuadro 5. Efecto de la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.*

Concentración	observaciones	Media
40 %	36	0.854861 ^a
70 %	36	1.06447 ^b
1 %	18	2.83056 ^c

Medias con letra distinta son significativamente diferentes entre sí a la prueba de Duncan (P<0.05)

El Cuadro 6 demuestra la prueba de contraste para la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.* Donde se observa mejor efecto inhibitorio a una concentración etanólica al 70%.

Cuadro 6. Prueba de contraste para la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.*

Contraste	Sig.	Diferencia
1 % - 40 %	*	1.97569
1 % - 70 %	*	1.76609
40 % - 70 %	*	-0.209606

* Diferencia significativa

4.3. Tiempo de dosificación de las diferentes concentraciones de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.*

En el Cuadro 7 se muestra un mejor efecto del tiempo de dosificación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.* en la segunda semana.

Cuadro 7. Efecto del tiempo de dosificación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.*

Tiempo	observaciones	Media LS	Desviación Típica
1 Semana	36	1.50031 ^a	0.0583918
3 Semana	36	1.59926 ^a	0.0583918
2 Semana	36	1.80123 ^b	0.0583918

Medias con letra distinta son significativamente diferentes entre sí a la prueba de Duncan (P<0.05)

La Figura 2 expresa la Influencia del tiempo de aplicación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.*; en la que se puede observar que ambos extractos tienen mayor influencia cuando son aplicada en el periodo de la segunda semana.

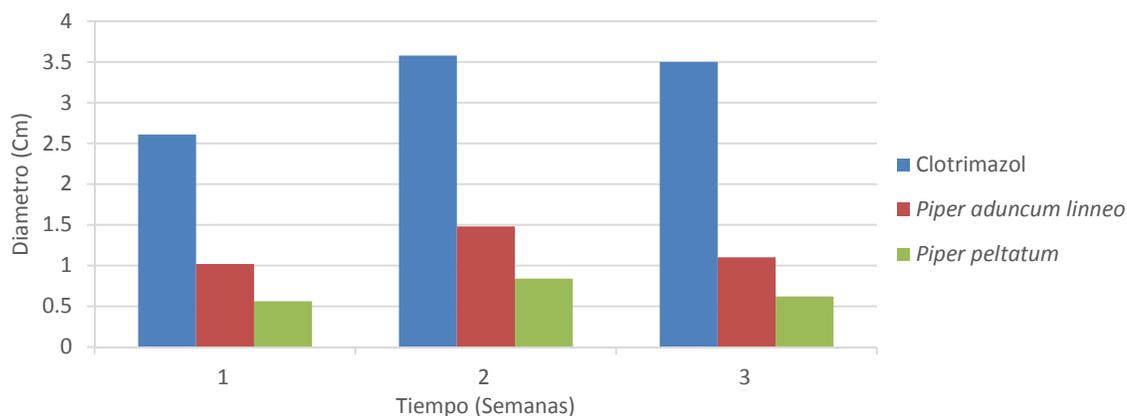


Figura 2. Influencia del tiempo de aplicación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp*

En el Cuadro 8 se demuestra la que mediante la prueba de contraste para el efecto del tiempo de dosificación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.* presenta diferencia significativa entre la primera y segunda semana, así mismo entre la segunda y tercera semana, pero no entre la primera y tercera semana ya que los datos encontrados no guardan distancia para poder expresar las diferencia.

Cuadro 8. Prueba de contraste para el efecto del tiempo de dosificación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.*

Contraste	Sig.	Diferencia
1 Semana - 2 Semana	*	-0.300926
1 Semana - 3 Semana		-0.0989583
2 Semanas - 3 Semana	*	0.201968

(*Diferencia significativa)

V. DISCUSIÓN

5.1. Efectividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en el control del *Trichophyton sp.*

El protocolo de análisis fitoquímico realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica de fecha 13 de enero del 2011 (Anexo) realizado de las hojas de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* determinó que ambas especies presentan niveles de taninos ++; por lo que se observa de acuerdo a los resultados, que a partir de la segunda semana de aplicación existe mayor efecto positivo de efectividad, estos datos son reportados en ambas muestras; similares resultados se encontraron en el estudio de ambas plantas que producen el metabolito secundario del tanino 4- erolidylcatechol (KIJJOA *et al.*, 1980; MONGELLI *et al.*, 1999). Así mismo la investigación “Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú” reporta en el análisis fitoquímico, revela la presencia de taninos y compuestos fenólicos entre sus principales constituyentes los cuales pueden ser los responsables de la actividad biológica antifúngica. (HUAMANÍ y RUIZ, 2005)

De igual forma los aceites esenciales químicamente que están formados por monoterpenos y sesquiterpenos conocidos como compuestos aromáticos (LOCK, 1994). Así mismo se corroboran con los estudios realizados con flavonoides aislados como 5, 7-dihidroxi-flavanona exhibieron un fuerte efecto como atrapadores de radicales libres y por la presencia de sustancias activas al quercetina-3-metil éter, que causan lisis celular a los hongos (ASTUDILLO *et al.*, 2000) (SAÚDE-GUIMARÃES, 2007), además de presentar actividad antimicrobiana (CASTRO, 1995). Todas las investigaciones corroboran con la investigación realizada y los resultados del análisis fitoquímico realizado a los extractos etanólicos del *Piper aduncum* Linneo y *Piper peltatum* donde se registra la presencia de flavonoides (+), esteroides y triterpenos (+) (UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA; 2011).

Los resultados Efectividad antifúngica de *Piper aduncum* Linneo y *Piper peltatum* sobre *Trichophyton* sp en el Cuadro 2 .en la que el *Piper aduncum* Linneo presenta similares resultados al Clotrimazol con una desviación típica de 0.0544421 lo que se explica con la presencia de los flavonoides, triterpenos y esteroides en las hojas del *Piper aduncum* Linneo y *Piper peltatum* mientras que en el caso del Clotrimazol presenta una desviación típica de 0.120289 en este último no presentan actividad antioxidante por ser un compuesto químico; similares a las investigaciones realizadas en extractos no alcohólicos obtenidos de las hojas de *Piper peltatum* sometidas a cromatografía en columna (PUERTAS,

2009). El mecanismo de acción de un antioxidante como los flavonoides tienen propiedades antioxidantes y protectoras de la membrana celular (ARROYO et al., 2003).

En la investigación realizado sobre la prueba de contraste en la Inhibición de *Trichophyton sp.* a la aplicación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* reportado en el Cuadro 3 corroboran los reportes de estudio de la efectividad antifúngica de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* sobre *Trichophyton sp* (Cuadro 2) en la que al realizar las pruebas de contraste indica que existe diferencias significativas entre ambas muestras, obteniendo resultados notorios cuando se evalúa el clotrimazol con el *Piper peltatum*; donde el producto comercial supera al extracto etanólico con una desviación atípica de 2.38782, diferencia significativa; esto explica que si medimos el potencial antioxidante y la acción química del producto, esta no actúan de igual manera ya que la actividad química actúa sobre la membrana del hongo directamente mientras que la actividad antioxidante de la planta actúa sobre la base de la capacidad reductora medida por el ensayo de FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) y de la capacidad de atrapamiento del radical estable 2-2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH, 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). (PUERTAS, 2009).

Así mismo cuando analizamos la prueba de contraste del *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* no existen diferencias numéricas pero si significativas lo que corrobora con el análisis fitoquímico ya que un compuesto diferencial es la presencia de lactonas (+) en el *Piper peltatum*; Estudios similares

reportan que la presencia de quinolonas, lactonas y saponinas actúan como antifungicos; así mismo hidroquinonas, preniladas y sakuretina, presentan actividad comparables a los controles (nistatina y miconazol); (HUAMANÍ y RUIZ, 2005); así mismo compuestos como el canfor y canfeno principales constituyentes del aceite esencial de *Piper angustifolium*; presenta numerosas amidas; derivados del ácido benzoico, neolignanós y derivados ciclopentanodionas (coruscanona A y B) (HUAMANÍ y RUIZ, 2005). Se debe mencionar que los taninos encontrados en ambas plantas contribuyen a la actividad cicatrizante; los flavonoides tienen propiedades antioxidantes, además protegen de la membrana celular y favorecen a la recuperación de los tejidos epiteliales, como expresa (ARROYO *et. al.* 2003);

Los resultados del efecto de la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.* mostrados en el Cuadro 4 demuestran que hay una mayor efectividad antifúngica en la aplicación de *Piper aduncum linneo* al 70% que alcanza un 49.83% de inhibición frente al 41.84% de *Piper peltatum al 70%*. Similares resultados se observan en la investigación de HUAMANÍ y RUIZ (2005); donde de doce extractos de piper investigadas, seis presentaron actividad antifúngica contra *Candida albicans* ATCC 10231 consistente, con una efectividad de 25% cuando utilizaron el extracto etanólico de las hojas de *Piper sp.* (matico) al 70% y una efectividad de 13% cuando las concentraciones son menores al 60%.

Otras investigaciones refuerzan estos resultados cuando se realizó la prueba de contraste la extracción del aceite esencial de especies

piperaceas y la determinación del rendimiento antifungico; se obtuvo como resultado que la especie que presenta mayor rendimiento es *Piper auritum* (2.0%) seguida de *Piper aduncum* (1.64%), *Piper hispidum* (0.46%), *Piper patulum* (0.45%) y la de menor rendimiento es *Piper aeruginosibaccum* (0.3%). (CRUZ, 2005).

Investigaciones en especies de Piper se identificaron monoterpenos como componentes mayoritarios y se observó que *Piper auritum* y *Piper hispidum* presentan mayor número de monoterpenos, seguido de *Piper patulum*, *Piper aeruginosibaccum* y *Piper aduncum*. Mediante el tamizaje fitoquímico se identificaron flavonoides, saponinas, principios amargos, alcaloides y aceite esencial en todas las especies, cumarinas únicamente en *Piper auritum*, y antraquinonas en muy poca cantidad en *Piper auritum*, *Piper aduncum*, *Piper aeruginosibaccum* y *Piper hispidum*. (CRUZ, 2005).

Los principales compuestos identificados en la prueba fotoquímica son similares a los encontrados en la investigación realizada en Costa Rica, donde se obtuvo el aceite esencial de las hojas de Piper terrabanum, mediante el procedimiento de hidrodestilación denominados hidrocarburos terpénicos - cariofileno, germacreno-D, -humuleno y -pineno, y el alcohol sesquiterpénico cis-nerolidol. Es de resaltar en este estudio, la ausencia de fenilpropanoides como constituyentes del aceite esencial de este piper y que son característicos en muchos de los aceites de estas plantas (CICCIÓ, 2006).

En Guatemala se realizó un estudio en el cual se identificaron cinco especies del género piper de las cuales cuatro son nativas y se distribuyen principalmente en Mesoamérica, dentro de éstas se mencionan: *Piper aeruginosibaccum*, *Piper hispidum*, *Piper patulum*, *Piper auritum* y *Piper aduncum* con una distribución más amplia. La extracción del aceite esencial y determinación del rendimiento se obtuvo como resultado que la especie que presenta mayor rendimiento es *Piper auritum* (2.0%) seguida de *Piper aduncum* (1.64%), *Piper hispidum* (0.46%), *Piper patulum* (0.45%) y la de menor rendimiento es *Piper aeruginosibaccum* (0.3%). En estas especies de piper se identificaron monoterpenos como componentes mayoritarios y se observó que *Piper auritum* y *Piper hispidum* presentan mayor número de monoterpenos, seguido de *Piper patulum*, *Piper aeruginosibaccum* y *Piper aduncum*. (CRUZ, 2005).

5.2. Dosis de mayor efectividad del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*.

Los resultados de efectividad inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*, se pueden interpretar cualitativamente por prueba de placas de la siguiente manera: Sensible: zona de inhibición superior a 9 mm.; Moderado: zona de inhibición entre 6 y 9 mm.; Resistente: zona de inhibición menor de 6mm. (THE AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1992).

Por lo tanto como se muestra en efecto de la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.* Lo reportado en el Cuadro 4; la concentración de *Piper aduncum linneo* 70% a la segunda semana, alcanzaron 14.8 mm de diámetro encontrándose dentro de la zona superior por lo que se determina Sensible (THE AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1992); mientras que para el *Piper aduncum linneo* al 40% a la segunda semana alcanza 11.4 mm de diámetro encontrándose en sensibilidad moderada. (THE AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1992)

En el caso del *Piper peltatum* en concentraciones de 70% a la segunda semana alcanza los 8.4 mm de diámetro del halo de inhibición por lo que se considera sensibilidad moderada. (THE AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1992) mientras que a una concentración de 40% a la segunda semana alcanza 8.00 de diámetro por lo que se considera moderado (THE AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1992)

Similares investigaciones reportaron diferencias entre la efectividad antifúngica en relación a sus concentraciones fue realizada con el estudio de 13 familias Piperáceas; una de ellas el *piper peltatum*, las que fueron evaluadas en diferentes concentraciones bajo condiciones in vitro; en la que se midió la efectividad antifúngica contra *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, Los extractos mostraron una efectividad antifúngica de 8.56 mm. (ARCINIEGAS, 2002).

Los resultados de prueba de contraste para la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp* reportado en el Cuadro 6; corrobora los resultados encontrados en los Cuadros 3, 4, y 5; donde la Prueba de contraste para la concentración *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp*. presentan diferencias significativas cuando se evaluó las concentraciones de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* al 40% y 70% alcanzándose una diferencia de -0.209606 cuando se contrasto entre ambas concentraciones; que reporta en Cuadro 6; lo mismo encontramos diferencias significativas entre *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* de 0.279282 y de inahibición de *Piper aduncum linneo* al 70% de 49.83% con 14.8 mm de inhibición a la segunda semana y *Piper peltatum* al 70% de 28.77% con 8.4 mm de inhibición a la segunda semana ; lo que corrobora con la media de la segunda semana 1.06447 en efecto de concentraciones del 70% encontrados en el Cuadro 5. Similares resultados reporta en la investigación de la efectividad del matico contra el hongo *Trichophyton sp*. en una inhibición de 0.58, 0.71, 0.81 y 0.90 mm en dosis de 10, 40, 70 y 100% respectivamente; la efectividad contra El *Trichophyton sp* y *Microsporium sp*) fue a partir del 70% matico. (SANCHEZ, 2010).

5.3. Tiempo de dosificación de las diferentes concentraciones de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp*.

La Figura 1 muestra la efectividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en el control del *Trichophyton sp*.

representada en semanas en la que se observa mayor efectividad antifúngica en la segunda semana al *Piper aduncum linneo* al 70% con un 49.83% frente al *Piper peltatum* al 70% con un 28.27%, mientras que el Clotrimazol presenta efectividad de un 100% a partir de la primera semana; sin embargo los extractos etanólicos mantiene esta efectividad en el tiempo esto se puede atribuir al factor medio ambiente que influye en la capacidad antioxidante del *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* tal como lo expresa (RAMOS; 2005).

A diferencia con el producto químico Clotrimazol que presenta una mayor efectividad se explica que posee propiedades esteroideas, y actúa mediante el bloqueo de los canales iónicos en la membrana manteniendo los iones y el agua dentro del microorganismo. (FONSECA; 2004)

Pero también se puede atribuir el tiempo de acción como diferencia en la efectividad inhibitoria del Clotrimazol y los extractos piperáceos a un factor bioquímico como se expresa recientemente que algunas investigaciones que expresan que los terpenoides no se originan por esta ruta, sino por una ruta alterna que puede involucrar piruvato, gliceraldehído-3-fosfato y un intermedio de 5 átomos de carbono: 1-desoxi-xilulosa-5-fosfato reduciendo su actividad molecular (PHYTOCHEMISTRY, 1998).

Los resultados diferenciales entre ambas piperáceas a partir de la segunda semana de aplicación al 70% de concentración, donde *Piper aduncum linneo* alcanza un 49.83% de inhibición y *Piper peltatum* un 28.27% de inhibición

tal como expresa en el Cuadro 4; se explica a que los monoterpenos y en general todos los compuestos terpenoides naturales se biosintetizan por la ruta de la acetil coenzima a través de un intermediario común que es el ácido mevalónico independientemente de su especie (CHAPPELL, 1995) (GARVEY, 1995) (CHEMICAL, 1995).

La Figura 2 muestra la influencia del tiempo de aplicación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp* donde a la segunda semana presenta mayor efectividad en relación con la primera y tercera semana, lo que se reporta en el Cuadro 8 mediante la prueba de contraste para el efecto del tiempo de dosificación de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp*; reportando -0.0989583 entre la primera semana y tercera semana la cual no es significativa, mientras que si analizamos entre la primera y segunda semana presenta un efecto de -0.300926 y la segunda semana y y tercera semana de 0.201968 ambas altamente significativas, estas diferencias de efectividad en relación al tiempo; se puede explicar en la investigación de productos naturales in vitro que formulan; que la absorción del metabolito presente en las plantas es muy compleja y ocurre en varias etapas: (1) Liberación del principio activo y difusión hasta la superficie agar, condicionado por las características del principio activo, (2) Penetración en la capa superficial y permeabilización en el agar (CHAPPELL, 1995) lo que hace diferencias significativas en nuestras observaciones.

VI. CONCLUSIÓN

1. Los extractos etanólicos de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* presentan efectividad antifúngica en el control del *Trichophyton sp.*
2. La dosis de mayor efectividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*. cuando es aplicado en concentraciones de 70%.
3. El mejor tiempo de dosificación de las diferentes concentraciones investigadas del *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en la inhibición de *Trichophyton sp.* es en la segunda semana.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar trabajos de investigación en resistencia micótica frente al efecto de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* en otros agentes fúngicos.
2. Realizar trabajos de investigación en sinergismos y antagonismos entre los extractos etanólicos de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum* así como la asociación con productos comerciales.
3. Replicar el trabajo de investigación realizada en modelos animales in vivo en condiciones controladas y de campo.
4. Investigar sobre los componentes fitoquímicos en otras especies de piperáceas prevalentes de nuestra zona.
5. Investigar las técnicas más adecuadas para la preservación y uso comercial de principios activos de *Piper aduncum linneo* y *Piper peltatum*.

VIII. ABSTRACT

The effects of some of the antifungal drugs used in conventional medicine cause a resistance to the *Trichophyton* sp. specie, which are fungi acquired by the cutaneous tissue and produce mycotic diseases in guinea pigs. Studies have shown that there are compounds with antifungal activity. This generates the following problem: Which of the most well-known species of the piperaceae oriundas genre in Peru possess the greatest antifungal activity?

The research took place from January to March, 2011, in the Faculty of Animal Husbandry's Animal Health laboratory at the National Agrarian University of the Jungle in the Rupa Rupa district, Leoncio Prado province, Huánuco department of Peru. The objective of the investigation was to determine the antifungal effectivity of the ethanolic extract of matico leaves of the *piper aduncum* linneo and *piper peltatum* varieties through the technique of in vitro applied filtration, adjusted to a DCA (acronym in Spanish).

The effect of *Trichophyton* sp. on guinea pigs (*cavia cobayo*) in the zone was studied. Concentrations of *piper aduncum* linneo and *piper peltatum*

essential oils, diluted at forty and seventy percent, were tried and evaluated for growth, inhibition and resistance.

The phytochemical analysis used determined that both species present high levels of tannins, which explains their antifungal efficacy in controlling *Trichophyton* sp. The dose with the greatest efficacy was obtained with the 70% concentration in the second week.

Key Words: *Trichophyton* sp., Dermatomycosis, *Piper aduncum* linneo, *Piper peltatum*

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALÉCIO, A., BOLZANI, V., JOVEN, M., KATO, M., FURLAN, J., 1998. Antifungal Amides From Leaves of *Piper hispidum*. Instituto de Quimica de la Universidad Sao Paulo-Brasil J. nat. prod 1998 ACS publications. 61, 637 P.

ÁLVAREZ, M., ISAZA, G., ACOSTA, S. y YEPES, A. 2005. Actividad antimicótica de *Phenax rugosus (lam) Pers* y *baccharis trinervis (sw) wedd*. Rev. Bio Salud. Caldas.-Manizales-Colombia 38 – 45 [En línea]: BIO SALUD, (<http://biosalud.ucaldas.edu.co>, documento, 3 Jun. 2010).

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). 1992. Is organization of public health professionals in the world. www.apha.org/.

ARANGO G. 2010. Introducción al metabolismo secundario compuestos derivados del ácido shikimico. Universidad de Antioquia Pharm. Facultad de Química Farmacéutica Mayo de 2010. Medellín-Colombia.

ARCINIEGAS, A.; RIVEROS, A. y LOAIZA, J. 2002. Efecto de extractos vegetales sobre el desarrollo in vitro de *Mycosphaerella fijiensis*, agente causal de la Sigatoka negra en Musáceas, Caribe-Costa-Rica. [En línea]: (http://musalit.inibap.org/pdf/IN030038_es.pdf. Documento, 28 May.2010).

- ARROYO, J., RÁEZ, J., BONILLA, P. 2003. Efecto del jabón con *Piper angustifolium* r&p (matico) sobre la piel normal de conejos, [En línea]: unmsm-peru ([http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/folia/vol14_n2_efecto](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/folia/vol14_n2_efecto.htm) . htm, Doc. 4 Jun. 2010).
- ARROYO,G., TOMAS, J., HUAMAN. 2011. Estudio fitoquímico del extracto etanólico y de las fracciones de las hojas de *Piper aduncum* “matico”. Rev. Per. Quím. Ing. Quím. Vol. 14 N.º 1 & 2. Págs. 62 - 67. [En línea]: ([http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4599](http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4599/0) /0, Documento, Jun. 2011)
- ASTUDILLO, S., AVILAR, L., MORRISON, F., GUTIERREZ, M., BASTIDA, J., CODINA, C. AND SCHMEDA, H. 2000. Biologically active compounds from chilean propolis. Universidad Católica de Chile facultad de Agronomía revista de investigación científica Agronómica .Santiago de Chile-chile .Bol. Soc. Chil. Quim. 45:577-581.P.
- BASE DE DATOS NAPRALERT 2005. Información científica de medicina tradicional y natural. RESUMED 2005;12(1):36-14.EEUU.46P.
- BENAVIDES, P., SARTORELLI, P., KATO, M. 1999. Fotoquímica, Journal.52, 339P.
- BEZADA, S., NOÉ N., BÉJAR, V. y MUSCARI. 2004. Cloruro de benzalconio en el tratamiento de la dermatomicosis causada por *Trichophyton* sp. en el cuy

(*Cavia cobayo*). Perú. 15 (1): 8-12 [En línea]: SCIELO (<http://www.scielo.org.pe>, abstract, 3 Jun. 2010).

BLANCO, S., KAVKA, J., DABATTISTA, N., FERRETI, S., RODOLFO, F., FERDINANDO, H. 1988. Actividad bacteriostática de 2', 4'- Dihidroxi 3'- Metoxichalcona / Bacteriostatic Activity Of 2', 4'- Dihydroxy 3'- Methoxychalcone Rev. Microbiol; 19(2):129-34, Abr.-Jun. 1988. Tab, Ilus.

BOTANICAL. 2016. Las plantas medicinales [en línea]: <http://www.botanical-online.com>; 06 de agosto de 2016.

CALIXTO, C. 2006, plantas medicinales utilizadas en odontología, tesis de literatura Odontológica ,artículo de revisión [En línea] USMP- Lima-Perú

CANTON, E., MARTIN, E., ESPINEL, A. 2007. Métodos estandarizados por el CL SI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-3, M38-A y M44-A); Revista Iberoamericana de Micología – ISB:978-84-611-8776-8. España. 24p.

CASTRO, S., HIGASHI, K. 1995. Actividad In vitro de las Piperáceas frente a patógenos Bacterianos. Centro de estudios bio activos y químicos de la Universidad Central de villa Clara-Cuba. Journal. Etnophar 26(1) -140-2(1995) 104 p.

CELIS, E. 1998. Detección de dermatomicosis en cuyes criados en baterías y pozas en la sede central del INIA-Lima. Revista de Investigaciones

Veterinarias. Perú. 1609-9117. [En línea]: SCIELO, (<http://www.scielo.org.pe>, artículo, 31 May. 2010).

CHAPPELL, J. 1995. Biochemistry and Molecular Biology of the Isoprenoid Biosy Annual Review Of Plant Physiology synthetic pathway in plant. vol 46. And Plant Molecular Biology-USA 521-547 p.

CHEMICAL. 1995. Plant flavonoide, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in Vitro Oxidation Model. Journal Agricultural and Food Chemistry. EEUU. 280-282 p.

CICCIÓ, J. 2006. Constituyentes del aceite esencial de las hojas de *Piper terrabanum* (Piperaceae). Centro de Investigaciones en Productos Naturales (Ciprona) y Escuela De Química, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 26 p.

COLELLA, M., CASTRO, T., MONTIEL, M. 2010. Susceptibilidad antifúngica en *Dermatofitos kasmaera*. [En línea]. ([Http://Www.Scielo.Org.Ve/Scielo.Php?Script=Sci_Arttext&Pid=S0075-52222006000200002&Lng=Es&Nrm=Iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222006000200002&lng=es&nrm=iso). Vol.34, No.2, 29 Octubre 2010).

CORNELL, W., CIEPLAK, P. 1991. A second generation forced field for the simulation. Universidad de California. EEUU. Journal of the American chemical society. 117(19)517-519 p.

- CRUZ, S. 2005. Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de piperaceas. Tesis Maestría Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Facultad de Agronomía. Multidisciplinaria en producción y uso de plantas medicinales. Universidad de San Carlos de Guatemala. 1, 10-11 p.
- DAVICINO, R., MATTAR, M., CASALI, Y., CORREA, S., PETTENATI, E y MICALIZZI, B. 2007. Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina, Rev. peru biol , [En línea]: Scielo (<http://www.scielo.org.pe/scielo.articulo>, 4 Jun. 2010).
- FDA. 2011. Clotrimazole Official FDA information, side effects, and uses». FDA. Consultado el 28 de diciembre de 2011.
- FITZPATRICK, E., EISEN, A., WOLFF, K., FRREDBERG, I., AUSTEN, K. 1997. Manual de dermatología para el médico general. Ed. Mcgraw-Hill. México. 424-448 p.
- FLORES, N., JIMENÉZ, A., RAVELO, G., BOURDY, G., GIMÉNEZ, A. 2000. Estudio fitoquímico de catorce especies del género *Piper* con actividad antifúngica y/o Leishmanicida in vitro [En línea] (<http://www.ops.org.bo/textocompleto/rnbiofa20000802.pdf>, Documento, 4 Jun. 2010).

- FONSECA E. 2004. Eficacia de eberconazol crema al 1% frente a clotrimazol crema al 1% en pacientes con micosis cutáneas. Original Research Article. *Piel*, Volume 19, Issue 9, 2004, Pages 480-484
- GARVEY, M., CROTEAU, R. 1995. Terpenoid Metabolism. institute of biological chemistry, Washington State University. *Plant Cell* 7. 1015-1026 p.
- GÓMEZ, P., CUBILLO, D., MORA, G., ANDHILJE, L. 1997. Evaluation of possible repellents for bemisi tabaci. ii. botanical substances. *Manejo integrado de plagas* 46: 17-25 p.
- GUIMARÃES, D., DÊNIA, A. 2007. Laboratorio de estudios químicos e farmacológicos de plantas medicinais, Departamento de farmácia, escola de farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Centro, 35400-000, Minas Gerais, Mg, Brasil. 340-352 p.
- HERNANDEZ, D., RODRÍGUEZ, J., GARCÍA, PINO, A. 2003. Actividad antidermatofítica in vitro de aceites esenciales, Centro de investigación y desarrollo de medicamentos, [En línea] *Bvs*, (http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol8_2_03/pla04203.htm, articulo, 31 May. 2010).
- HOWARD, R. A. 1988. Flora of the lesser antilles, Leeward And Windward Islands. Dicotyledoneae, [En línea] Harvard University. ([Http://Sisbib.Unmsm.Edu.Pe/Bvrevistas/Biologia/Biologianew.Htm](http://Sisbib.Unmsm.Edu.Pe/Bvrevistas/Biologia/Biologianew.Htm). Rev. *Biol.* 30 May. 2011): 492s – 563 p.

- HUAMANÍ, A. y RUIZ, Q. 2005. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [En línea]: Cybertesis, (http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2005/huamani_am/html/sdx/huamani_am.html, Tes. 3 Jun. 2010).
- IBRAHIM, J., AKAZIZOL, N., HUSSEIN, P., BACON, S., ANDKHOO, K. 1996. Essential oils of selected malaysian plants and their potential uses. Forestry and forest products research, Proceedings of the third conference, Oct. 3-4, 1996; Kuala Lumpur, Malaysia. 97-103 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS - INIA. 2008. Enfermedades infecciosas y parasitarias. Perú. [En línea]: CADENA CUY (<http://www.cadenacuy.pe>, conferencia, 31 Mayo. 2010).
- KIJJOA, A., GIESBRECHT, M., AKISUE, MK., GOTTLIEB, OR., GOTTLIEB, HE. 1980. 4-Nerolidylcatechol from *Pothomorphe umbellata*. *Planta Med* 39:85–87p.
- LEE, W. 2010. Revista portuguesa de pneumologia Regulação da composição lipídica da parede celular do mycobacterium tuberculosis e o seu efeito na persistência bacteriana in vitro Vol Xvi Suplemento 1 A Janeiro Brasil 2010. 34 p.
- LIOGIER H. 1985. Descriptive Flora Of Puerto Rico And Adjacent Islands, Spermatophyta. Vol. 1. Río Piedras, Pr: Editorial de la Universidad de Puerto Rico. 352 p.

- LIOGIER, H. 1990. Plantas medicinales de Puerto Rico y Del Caribe. Iberoamericana vol 4-1990 Edic. Inc. Puerto Rico. 566 p.
- LOCK, O. 1994. Investigación fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 2da Edición. Perú. 24-33, 300 p.
- LOPES, A. 2008. Estudio químico, biológico y biosintético de *Piper Gaudichaudianum* y *Piper Crassinervium* (Piperaceae). Reunion anual de la sociedad de biología de Chile. Scielo biol.res v.36n.3-4 Santiago 2008 – Chile. 1710 p.
- MARIEB., HOEHN. 2010. Human Anatomy and Physiology, p. 643. Toronto: Pearson
- MILLIKEN W. 1997. Plants for malaria. In Plants for Fever: Medicinal Species in Latin America – A Bibliographic Survey. The Royal Botanic Gardens: Kew, UK, 83–86 p.
- MONGELLI, E., ROMANO, A., DESMARCHELIER C. 1999. Cytotoxic 4-nerolidylcatechol from pothomorphe peltata inhibits topoisomerase I activity. Planta Med 65: 376–378 p.
- MOREIRA, D., GUIMARÃES. 1998. Fitoquímica, 48 Ef ; Kaplan , Mac, 1075 Brasil.
- MOYA, M. 2003. Importancia del diagnóstico de las dermatofitosis en animales de bioterios. Revista del Instituto nacional de higiene Rafael Rangel. Caracas,

Venezuela. 0798-0477 [en línea]: SCIELO, (<http://www.scielo.org.ve>, artículo, 4 Jun. 2010).

MURILLO, P. 2001. Diagnóstico laboratorial de las dermatofitosis. Universidad Federal de Rio de Janeiro, Brasil. [En línea]: Colegio Microbiólogo, (<http://www.colegiomicrobiologoscr.org>, documento, 31 May. 2010).

NAVARRO, G. 2004. Comprobación Del Efecto Cicatrizante De *Peperomia scutellaefolia* R. Et. Piper , Aspecto etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico, Colombia.

ORJALA, J., WRIGHT, A., RALI, T. AND STICHER, O.1992. Three new prenylated benzoic acid derivatives and molluscicidal sesquiterpenoids from *Piper Aduncum* Leaves. *Medica* 58(7): 714p.

PASCUAL, M. 2000. Microbiología alimentaria. metodología analítica para alimentos y bebidas 2^{da} Edición imp edit-Díaz Santo .Madrid España 340 p.

PASCUZZO, C. 2003. Antimicóticos. biblioteca de medicina de la UCLA. Venezuela. 530 p. [En línea]: BIBMED, (<http://bibmed.ucla.edu.ve>, documento, 31 Mayo 2010).

PAZ, S. 2001. Fitoterapia en el Perú, matico, Catalogación hecha OPS/OMS Perú OPS/OMS Perú, [En línea]: (<http://www.maca-peruana.com/matico.htm>, Documento, 4 Junio. 2010).

PHYTOCHEMISTRY, 1998. Management of posther petric pain. ZAPP, J 48(6) 953p.

PINO, B. 2008. Actividad antibacteriana a partir de extractos de hojas de seis especies del género Piper (Piperaceae). Universidad de Rioja. España. 52 p. [En línea]: (http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo_codigo=2705040, articulo 07 Junio. 2010).

PUERTAS, M., GÓMEZ, C., ROJANO, B., SÁEZ, V. 2009. Capacidad antioxidante in vitro de fracciones de hojas de *Piper peltatum* l. Cuba. [En línea]:

RAMOS, E. 2005. Evaluación de la capacidad antioxidante del matico (Piper Sp), En el trópico-UNAS, Tingo María –Perú. Tesis, 54p.

ROERSCH, C. 1993. Uso de plantas medicinales en el sur andino de Perú y la Republica Dominicana - Perú [en línea]: (<http://www.imd-medicina-dominicana.org/Articulos%20pdf/Uso%20de%20Plantas%20Medicinales%20en%20el%20Sur%20Andino%20de%20Peru%20y%20la%20Republica%20Dominicana.pdf>, Documento, 05 Jun.2010).

SANCHEZ, P 2010 Efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales contra el *Trichophyton sp.* Y *Microsporium.* in vitro-UNAS, en Tingo María – Perú. Tesis, 50 p.

- SILVA, M. 2004. Antifúngico del futuro. Colegio Ibero Latino americano de dermatología. Vol. 32, Núm. 6. [En línea]: Medicina Cutánea, Tijuana – México (<http://www.medcutan-ila.org>, artículo, 3 Junio. 2010).
- SOUSA, I., BARROS, A., ROCHAI, J., LIRAI, D., MONTEIROI, G., MAIA, J. 2008. Evaluación toxicológica del aceite esencial de *Piper aduncum* L, Revista Brasileira de Farmacognosia. Brasil vol.18 no.2 [En línea]: Scielo (<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18n2/13.pdf>, articulo, 4 Junio. 2010).
- STANDLEY, C., STEYERMARK, J. 1952. Flora de Guatemala. Fieldiana: Botany. Universidad de Managua. Guatemala 24(3): 228-231, 296-297, 300-301, 312-314 p.
- STARR, B., KIM, S., LLOYD, L. 2003. *Piperaduncum*, United States Geological Survey - División de Recursos Biológicos Haleakala Estación Biológica, Maui, Hawai [En línea]: (http://www.hear.org/Pier/pdf/pohreports/Piper_aduncum.pdf. Documento,07 Jun. 2010).
- STEVENS, W., ULOA, U., POOL, O., MONTIEL, O. 2001. Flora de Nicaragua. monographs in systematic botany Vol. 85, No. 3. Missouri botanical garden press.1911-2666 p.
- TORRES, S., MOURA,G., SPERANDIO,D., MOREIRA, M., KAPLAN, ROSSIBERGMANN. 1996. Anti-Leishmanial effect of a pure chalcone isolated from *Piper aduncum* (Piperaceae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. Brasil Vol. 91 (Supplement). 18 p.

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA. 2005. Datos meteorológicos. Estación meteorológica José Abelardo Quiñones. Datos no publicados. UNAS. Tingo María.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS ,2011. Protocolo de Tamizaje Fitoquímico.

VEGA, L. y CHAUCA, L. 1994. Efecto del mastuerzo (*Tropaeolum Majus*) en el tratamiento de la dermatofitosis en cuyes (*Cavia porcellus*). Universidad Alas Peruanas. Perú. 283 [En línea]: UNAP IQUITOS, (www.unapiquitos.edu.pe, resumen, 3 Jun. 2010).

ANEXOS

Anexo A. Tablas

Cuadro 9. Diámetros de inhibición por repeticiones

Bloque	Tratamiento	Concentración (%)	Semanas	Diámetro de inhibición (cm)	Promedio (cm)	Inhibición (%)	
B1	C1	Clotrimazol	1	1	2.78	2.61	100.00
		Clotrimazol	1	1	2.70		
		Clotrimazol	1	1	2.93		
		Clotrimazol	1	1	2.38		
		Clotrimazol	1	1	2.40		
		Clotrimazol	1	1	2.63		
	C2	Clotrimazol	1	2	2.58	2.96	100.00
		Clotrimazol	1	2	3.13		
		Clotrimazol	1	2	2.50		
		Clotrimazol	1	2	2.63		
		Clotrimazol	1	2	3.50		
		Clotrimazol	1	2	3.05		
	C3	Clotrimazol	1	3	3.38	2.88	100.00
		Clotrimazol	1	3	3.13		
		Clotrimazol	1	3	2.50		
		Clotrimazol	1	3	2.50		
		Clotrimazol	1	3	3.58		
		Clotrimazol	1	3	2.70		
B2	T1	Piper aduncum linneo	40	1	0.58	0.81	30.90
		Piper aduncum linneo	40	1	1.10		
		Piper aduncum linneo	40	1	0.65		
		Piper aduncum linneo	40	1	0.73		
		Piper aduncum linneo	40	1	0.75		
		Piper aduncum linneo	40	1	0.80		
	T2	Piper aduncum linneo	40	2	1.53	1.14	38.34
		Piper aduncum linneo	40	2	1.58		
		Piper aduncum linneo	40	2	1.05		
		Piper aduncum linneo	40	2	1.08		

	Piper aduncum linneo	40	2	0.98		
	Piper aduncum linneo	40	2	1.00		
T3	Piper aduncum linneo	40	3	0.83	0.98	34.03
	Piper aduncum linneo	40	3	0.78		
	Piper aduncum linneo	40	3	0.63		
	Piper aduncum linneo	40	3	1.38		
	Piper aduncum linneo	40	3	1.25		
	Piper aduncum linneo	40	3	0.88		
T4	Piper aduncum linneo	70	1	0.93	1.02	39.16
	Piper aduncum linneo	70	1	0.75		
	Piper aduncum linneo	70	1	0.90		
	Piper aduncum linneo	70	1	1.20		
	Piper aduncum linneo	70	1	1.30		
	Piper aduncum linneo	70	1	0.95		
T5	Piper aduncum linneo	70	2	1.75	1.48	49.83
	Piper aduncum linneo	70	2	1.63		
	Piper aduncum linneo	70	2	1.45		
	Piper aduncum linneo	70	2	1.53		
	Piper aduncum linneo	70	2	1.38		
	Piper aduncum linneo	70	2	1.40		
T6	Piper aduncum linneo	70	3	1.43	1.10	38.02
	Piper aduncum linneo	70	3	0.93		
	Piper aduncum linneo	70	3	1.25		
	Piper aduncum linneo	70	3	1.10		
	Piper aduncum linneo	70	3	1.08		
	Piper aduncum linneo	70	3	1.13		

		linneo					
B3	T7	Piper peltatum	40	1	0.60	0.56	21.50
		Piper peltatum	40	1	0.50		
		Piper peltatum	40	1	0.60		
		Piper peltatum	40	1	0.60		
		Piper peltatum	40	1	0.55		
		Piper peltatum	40	1	0.55		
	T8	Piper peltatum	40	2	1.98	0.80	26.86
		Piper peltatum	40	2	0.68		
		Piper peltatum	40	2	1.20		
		Piper peltatum	40	2	0.68		
		Piper peltatum	40	2	0.70		
		Piper peltatum	40	2	0.73		
	T9	Piper peltatum	40	3	0.80	0.62	21.53
		Piper peltatum	40	3	0.78		
		Piper peltatum	40	3	0.53		
		Piper peltatum	40	3	0.55		
		Piper peltatum	40	3	0.68		
		Piper peltatum	40	3	0.58		
	T10	Piper peltatum	70	1	1.13	1.09	41.84
		Piper peltatum	70	1	0.95		
		Piper peltatum	70	1	1.30		
		Piper peltatum	70	1	1.23		
		Piper peltatum	70	1	1.05		
		Piper peltatum	70	1	0.93		
T11	Piper peltatum	70	2	1.83	0.84	28.27	
	Piper peltatum	70	2	1.23			
	Piper peltatum	70	2	0.93			
	Piper peltatum	70	2	0.65			
	Piper peltatum	70	2	0.63			
	Piper peltatum	70	2	0.75			
T12	Piper peltatum	70	3	0.58	0.62	21.61	
	Piper peltatum	70	3	0.68			
	Piper peltatum	70	3	0.68			
	Piper peltatum	70	3	0.55			
	Piper peltatum	70	3	0.61			
	Piper peltatum	70	3	0.60			

Cuadro 10. Medias por mínimos cuadrados para diámetro con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
Tratamiento					
Clotrimazol	18	3.13239	0.120289	2.89301	3.37177
<i>Piper aduncum linneo</i>	36	1.02385	0.0544421	0.915504	1.13219
<i>Piper peltatum</i>	36	0.744565	0.0544421	0.636221	0.852908
Bloque					
1 Semana	30	1.50031	0.0583918	1.3841	1.61651
2 Semana	30	1.80123	0.0583918	1.68503	1.91744
3 Semana	30	1.59926	0.0583918	1.48306	1.71547
Tratamiento por Bloque					
Clotrimazol,1 Semana	6	2.93517	0.154547	2.62761	3.24273
Clotrimazol,2 Semana	6	3.19767	0.154547	2.89011	3.50523
Clotrimazol,3 Semana	6	3.26433	0.154547	2.95677	3.57189
<i>Piper aduncum linneo</i> ,1 Semana	12	0.809958	0.0875877	0.635653	0.984264
<i>Piper aduncum linneo</i> ,2 Semana	12	1.28496	0.0875877	1.11065	1.45926
<i>Piper aduncum linneo</i> ,3 Semana	12	0.976625	0.0875877	0.80232	1.15093
<i>Piper peltatum</i> ,1 Semana	12	0.755792	0.0875877	0.581486	0.930097
<i>Piper peltatum</i> ,2 Semana	12	0.921069	0.0875877	0.746764	1.09537
<i>Piper peltatum</i> ,3 Semana	12	0.556833	0.0875877	0.382528	0.731139

Cuadro 11. Protocolo de Análisis de tamizaje Fitoquímico *Piper Peltatum*

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00416-CPF-2014

ORDEN DE ANÁLISIS : 00632/2011
SOLICITADO POR : SRTA. IDALIA REATEGUI HIDALGO
DIRECCIÓN : Castillo Grande sector caracol Mz H S/N Tingo María
MUESTRA : SANTA MARÍA (*Piper Peltatum*)
LOTE : -----
CANTIDAD : Beaker x 50mL.
FECHA DE RECEPCIÓN : 13 de enero del 2011

PRUEBAS	REACTIVOS	RESULTADOS
-----TAMIZAJE FITOQUÍMICO-----		
ALCALOIDES	Dragendorff Mayer	++ +
AZUCARES	Fehling Mofish	+ +
TANINOS	Cloruro Férrico- Gelatina	++ +
FLAVONOIDES	Shinoda	+
ESTEROIDES Y TRITERPENOS	Liebermann – Burchard	+
QUINONAS	Borntrager	-
LACTONAS	Baljet	+
SAPONINAS	Espuma	-
AMINOACIDOS LIBRES	Ninhidrina	-

Leyenda: (+) Presencia
(-) Ausencia

Observación: los análisis del producto SANTA MARÍA (*Piper Peltatum*) se realizaron en el año 2011.

Lima, 24 de enero del 2014



Mg. María Elena Salazar Salvatierra
Directora del Centro de Control Analítico

FFCA-009 8

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú - Telf.: (511) 326-4737, Anexo 14 - Telf.: (511) 326-2989 - Dep. Postal 1760 - Lima 1
E-mail: cca@unmsm.edu.pe <http://www.unmsm.edu.pe/farmacia>

Cuadro 12. Protocolo de Análisis de tamizaje Fitoquímico *Piper Aduncum Linneo*

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

**PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00415-CPF-2014**

ORDEN DE ANÁLISIS : 00631/2011
 SOLICITADO POR : SRTA. IDALIA REATEGUI HIDALGO
 DIRECCIÓN : Castillo Grande sector caracol Mz H S/N Tingo María
 MUESTRA : CORDONCILLO BLANCO (*Piper Anduncum Linneo*)
 LOTE : -----
 CANTIDAD : Beaker x 50mL.
 FECHA DE RECEPCIÓN : 13 de enero del 2011

PRUEBAS	REACTIVOS	RESULTADOS
-----TAMIZAJE FITOQUÍMICO-----		
ALCALOIDES	Dragendorff Mayer	- -
AZUCARES	Fehling Molish	- -
TANINOS	Cloruro Férrico Gelatina	+ +
FLAVONOIDES	Shinoda	+
ESTEROIDES Y TRITERPENOS	Liebermann - Burchard	+
QUINONAS	Borntrager	-
LACTONAS	Baljet	-
SAPONINAS	Espuma	-
AMINOACIDOS LIBRES	Ninhidrina	-

Leyenda: (+) Presencia
 (-) Ausencia

Observación: los análisis del producto **CORDONCILLO BLANCO** (*Piper Anduncum Linneo*) se realizaron en el año 2011.

Lima, 29 de Agosto del 2014


 Mg. María Elena Salazar Salvatierra
 Directora del Centro de Control Analítico



ECCA-009 R 1

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú - Telf: (+511) 328-4737. Anexo 10 - Telf: (+511) 326-1785 - Apt. Postal 1760 - Lima 1
 E-mail: ccm@unmsm.edu.pe
 http://www.unmsm.edu.pe/farmacu

Anexo B. Galería de imágenes

Figura 3 . *Trichophyton* spFigura 4. Molido de muestras de hojas del genero *Piper*



Figura 5. Adición de alcohol para la preparación de mezcla alcohólica



Figura 6. Remoción de partículas grandes de la mezcla alcohólica



Figura 7. Filtrado de concentrado de mezcla alcohólica.



Figura 8. Extracción de aceites esenciales.



Figura 9. Esterilización por autoclavado de medio de cultivo



Figura 10. Rotulado de tratamientos estudiados



Figura 11. Acondicionamiento de los pozos



Figura 12. Adición de antifungico a los pozos



Figura 13. Encubado de placas



Figura 14. Comparación de muestras con porcentaje de 70%



Figura 15. Comparación de muestras con porcentaje de 40%



Figura 16. Lectura de los diámetros de inhibición por actividad antifúngica

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo general	2
1.1.1. Objetivo específico.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Características de plantas medicinales en estudio.....	3
2.1.1. <i>Piper aduncum linneo</i> (Cordoncillo blanco)	3
2.1.2. <i>Piper peltatum</i> (Santa maría).....	5
2.2. Características fotoquímicas de las piperáceas	7
2.2.1. Aceites esenciales de una planta	7
2.2.2. Investigaciones fitoquímicas del género piper	7
2.3. Actividad biológica de los compuestos químicos de las piperáceas.....	8
2.3.1. Actividad del 2', 4'- dihidroxi 3'-metoxichalcona	8
2.3.2. Actividad de los monoterpenos	9
2.3.3. Actividad de 5,7-dihidroxi flavanona	9
2.3.4. Actividad de ácido 3-(3',7'-dimetil-3',6'-octadienil) - 4- metyoxibenzoico	9
2.3.5. Actividad del ácido shikímico	10

2.3.6. Investigación de la actividad antifúngica del género <i>piper</i>	10
2.3.7. Investigaciones del género <i>piper</i> en la Provincia de Leoncio Prado	16
2.3.8. Clotrimazol.....	18
2.4. Generalidades de la dermatomicosis	19
2.4.1. Agente etiológico de la dermatomicosis.....	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1. Lugar y fecha de ejecución.....	22
3.1.1. Ubicación política y geográfica	22
3.1.2. Fecha : La investigación se inicia en enero del 2011 finaliza en marzo del 2011.	22
3.2. Aspectos ambientales	22
3.3. Unidades experimentales	23
3.3.1. Agente fúngico a tratar.....	23
3.3.2. Tipo de antifúngico	23
3.3.3. Dosis de aplicación de antimicótico	23
3.3.4. Tiempo de dosificación	23
3.4. Metodología experimental	23
3.4.1. Colecta de material vegetal	23

3.4.2. Obtención de extractos etanólicos vegetales.....	24
3.4.3. Obtención de <i>Trichophyton</i> sp.....	25
3.4.4. Test de sensibilidad en pozos de agar	25
3.5. Diseño experimental.....	26
3.6. Tratamientos en estudio	27
3.7. Variables en estudio.....	27
3.7.1. Variable independiente	27
3.8. Análisis estadístico.....	28
3.8.1. Ajuste de diseño en bloques completamente al azar.....	28
3.8.2. Prueba de Duncan.....	29
3.8.3. Variables dependientes	29
IV. RESULTADOS	30
4.1. Efectividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas <i>Piper</i> <i>aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> en el control del <i>Trichophyton</i> sp.....	30
4.2. Dosis de mayor efectividad del extracto etanólico de las hojas de <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i>	32
4.3. Tiempo de dosificación de las diferentes concentraciones de <i>Piper</i> <i>aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> en la inhibición de <i>Trichophyton</i> sp. ...	34
V. DISCUSIÓN.....	36

5.1. Efectividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> en el control del <i>Trichophyton sp.</i>	36
5.2. Dosis de mayor efectividad del extracto etanólico de las hojas de <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i>	41
5.3. Tiempo de dosificación de las diferentes concentraciones de <i>Piper aduncum linneo</i> y <i>Piper peltatum</i> en la inhibición de <i>Trichophyton sp.</i> ...	43
VI. CONCLUSIÓN.....	46
VII. RECOMENDACIONES.....	47
VIII. ABSTRACT.....	48
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXOS	62