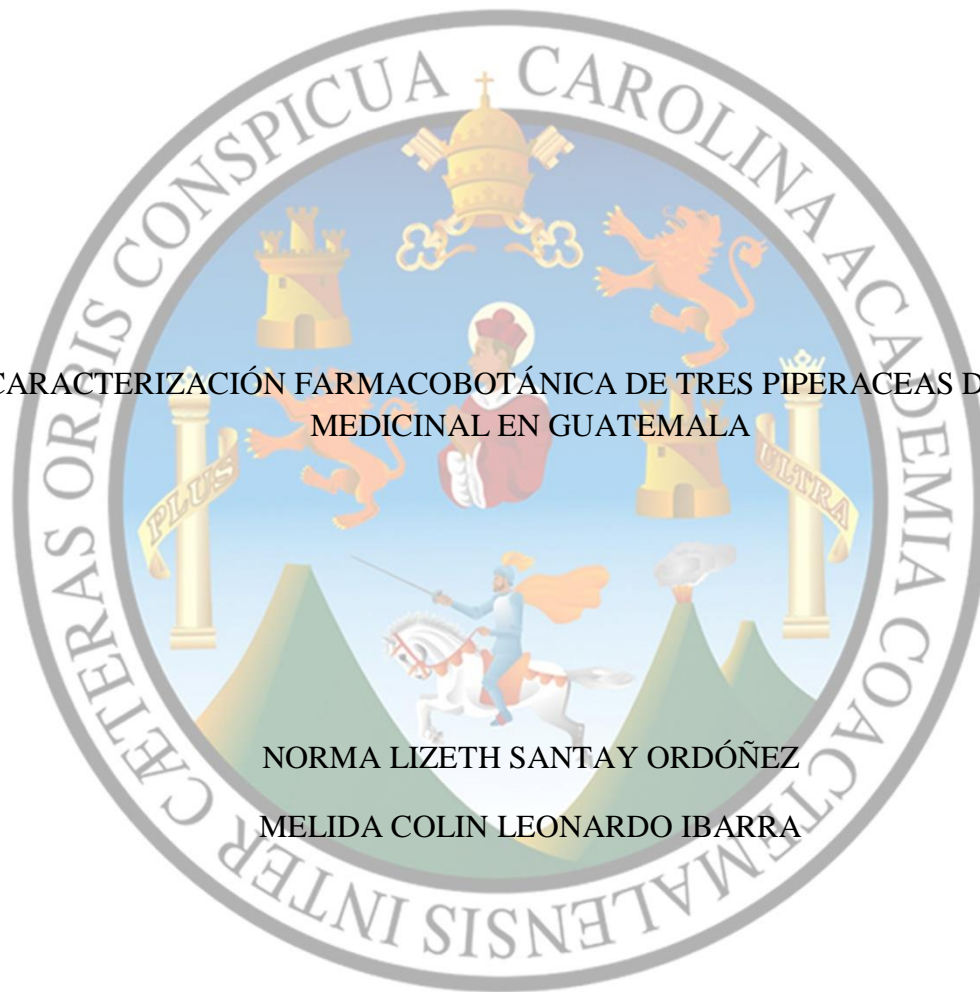


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

CARACTERIZACIÓN FARMACOBOTÁNICA DE TRES PIPERACEAS DE USO  
MEDICINAL EN GUATEMALA



NORMA LIZETH SANTAY ORDÓÑEZ  
MELIDA COLIN LEONARDO IBARRA

QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, AGOSTO DE 2014

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**CARACTERIZACIÓN FARMACOBOTÁNICA DE TRES PIPERACEAS DE USO  
MEDICINAL EN GUATEMALA**

SEMINARIO DE TESIS

PRESENTADO POR

**NORMA LIZETH SANTAY ORDÓÑEZ**

**MELIDA COLIN LEONARDO IBARRA**

PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, AGOSTO DE 2014

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A la Universidad de San Carlos de Guatemala**

Nuestra alma mater, centro que nos acogió durante nuestros años de estudio e inculcó en nosotras la responsabilidad, el trabajo y la dedicación.

### **A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**

Porque en sus aulas, aprendimos elementos científicos y éticos que nos permitirán desarrollarnos como excelentes profesionales. Y porque en ella, encontramos el amor a nuestra carrera y el verdadero significado de la amistad.

### **Al Departamento de Citohistología y al Laboratorio de Investigación de Productos Naturales –LIPRONAT-**

Por la enseñanza y el espacio brindado para poder llevar a cabo la fase experimental de la presente investigación.

### **Al Licenciado Armando Cáceres y Licenciada María Eugenia Paredes**

Por su valiosa ayuda, orientación y apoyo en la realización de la presente investigación.

### **A la Licenciada Isabel Gaitán**

Por su apoyo y ayuda incondicional, por ser más que una asesora, es una amiga.

## **JUNTA DIRECTIVA**

Oscar Manuel Cóbar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Lourdes Virginia Nuñez Portales	Vocal IV
Br. Julio Alberto Ramos Paz	Vocal V

## I. RESUMEN

A nivel mundial, el género *Piper* tiene un amplio interés en la industria farmacéutica, cosmética y culinaria, entre las propiedades medicinales atribuidas a este género se pueden mencionar la actividad antimicrobiana, antifúngica y antioxidante. Para este estudio se eligieron tres de las más de 88 especies presentes en Guatemala, siendo éstas *P. hispidum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum*. Las similitudes macromorfológicas entre especies del mismo género pueden ocasionar problemas para la correcta identificación y/o la detección de adulteraciones, por lo que se desarrolló el presente estudio de caracterización farmacobotánica, con el fin de establecer características diagnósticas, que aseguren la identidad de la materia médica constituida por hojas de las tres especies analizadas, aun cuando estas se encuentre secas y/o fragmentadas.

Con tal propósito se evaluaron de forma descriptiva las características organolépticas, macromorfológicas, micromorfológicas, presencia de metabolitos secundarios por medio de reacciones histoquímicas y las variables cuantitativas porcentaje de humedad y cenizas totales en las que se determinó el rango, media y desviación estándar.

Para el estudio macroscópico se elaboraron ejemplares de herbario, y muestrario de droga seca, anotándose todas aquellas características organolépticas que permitan su identificación. El estudio microscópico se hizo en material fresco de hoja, en donde se realizaron cortes transversales a mano alzada, diafanizado y disociado débil. El material obtenido en las tres técnicas fue teñido con safranina al 1% y fijado en gelatina- glicerina.

Se concluye que existen pequeñas diferencias entre las tres especies, en cuanto a caracteres organolépticos, tales como el sabor y el olor, tanto en la droga fresca como seca. El alto contenido de cenizas ácidas en *P. umbellatum* y diferencias a nivel microscópico, como la cantidad y disposición de haces vasculares, la presencia de estomas de tipo anomocítico en *P. oradendron*. No se evidenció diferencia en la presencia de metabolitos por métodos histoquímicos. Se recomienda realizar estudios cuantitativos que permitan una mejor discriminación entre las especies.

## II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo se realiza en el marco de la línea de investigación en plantas medicinales que permanentemente se desarrolla en el Departamento de Citohistología de la escuela de Química Biológica, en colaboración con la Escuela de Biología, el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) y la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Específicamente forma parte del estudio farmacobotánico con fines de control de calidad que inició en el año 2005 y tiene como principal finalidad, aportar datos importantes para elaborar propuestas de calidad de las plantas con resultados promisorios como fuente de medicamentos y de esta manera, ampliar las bases de datos del Departamento que constantemente se alimentan con los resultados de las investigaciones.

Para este estudio se seleccionaron tres plantas de la familia piperáceae: *Piper umbellatum*, conocida comúnmente como Santa María, *Piper hispidum* y *Piper oradendron*, conocidas como cordoncillos, todas incluidas en el Proyecto FODECYT 17-2009, “Caracterización de la actividad antioxidante de extractos de especies nativas del género Piper y cuantificación de metabolitos secundarios con potencial de desarrollo”, para la búsqueda de actividad antioxidante de especies de piperáceas y todas también con resultados positivos para dicha actividad.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Generalidades

Las plantas se han empleado con fines curativos desde hace varios miles de años. Recientemente la utilización de la medicina tradicional ha sido reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una alternativa económicamente viable para poblaciones de países en desarrollo.

Una planta medicinal es un recurso, cuyas partes o extractos se emplea en el tratamiento de alguna afección. La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de material vegetal, y puede suministrarse bajo diferentes formas galénicas como: cápsulas, comprimidos, crema, decocción, elixir, infusión, jarabe, pomada, tintura, unguento, etc. El valor medicinal de una planta se debe a la presencia en sus tejidos de una o varias sustancias químicas que producen una acción fisiológica concreta sobre el organismo humano, estas sustancias son las que denominamos principios activos (Gola, Negri & Cappeletti, 1965).

La palabra farmacognosia se considera una rama de la farmacología y está formada por dos variables griegas "φάρμακο" (fármaco, medicamento) y "γνώσης" (conocimiento). Fue utilizada por primera vez por Seydler en 1815, *Analecta Pharmacognostica*. La farmacognosia es la ciencia que se ocupa del estudio de las drogas y las sustancias medicamentosas de origen natural, vegetal, microbiano (hongos, bacterias), mineral y animal. Estudia tanto sustancias con propiedades terapéuticas como sustancias tóxicas, excipientes u otras sustancias de interés farmacéutico, las cuales tengan un uso básicamente tecnológico y no terapéutico (Font, 1982).

Desde el punto de vista epistemológico, la Farmacobotánica es una ciencia autónoma, mientras que (la práctica científica Farmacobotánica es parte de un conjunto mayor), la Farmacognosia, dado que ésta excluye explícitamente a las drogas que no posean origen vegetal.

La fitoterapia es la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico. También puede ser definida como la intervención para mejorar la salud mediante el empleo de plantas o sus derivados, con propiedades medicinales. El término también suele aplicarse a la utilización terapéutica de productos con una actividad suave o moderada, con márgenes terapéuticos amplios, que dan lugar a tratamientos menos agresivos y que hacen de la fitoterapia una herramienta especialmente útil en el tratamiento de afecciones leves, moderadas o crónicas (Font, 1982).

## **B. Control de Calidad de Plantas Medicinales**

A causa del aumento del consumo de plantas medicinales y a la industrialización y comercialización de medicamentos a base de plantas, es necesario definir primero su calidad, empleando una metodología apropiada, consignadas en las monografías farmacopeicas (Internacional, Africana, Británica, China, Europea, Alemana, USP, etc.) o en las monografías de la Organización Mundial de la Salud.

“Calidad es el principal requisito de los medicamentos fitoterápicos ya que es la base sobre la que reposan la seguridad y eficacia de un producto. Los aspectos que pueden influir en la calidad de las drogas vegetales son la identificación botánica, variabilidad del material vegetal (biodiversidad, quimiotipos, etc.), influencia en el proceso de recolección, secado y almacenamiento y la influencia del proceso de extracción” (Solís, Guerrero, Gattuso & Cáceres, 2004).

La baja calidad del material vegetal o su inconsistencia hará imposible cualquier control de calidad significativo durante el proceso de elaboración de los productos fitoterapéuticos, y por ende no permitirá asegurar la calidad uniforme del producto final (Cáceres, 1996).

En los últimos años Guatemala, ha buscado establecer un Sistema Nacional de Calidad, con el fin de cumplir con los requerimientos internacionales, a través de la implementación de la Ley del Sistema Nacional de Calidad (Ley del sistema nacional de calidad, 2005).



## 1. Calidad de la materia prima vegetal

En la calidad de la materia prima vegetal, son importantes los siguientes parámetros de control de calidad:

### a. Colecta

Para este proceso se prefiere utilizar ramas no mayores de 42 cm que presenten partes reproductoras (flores o frutos), con al menos tres hojas, para apreciar la filotaxia. Si se trata de plantas pequeñas, es recomendable coleccionar varios individuos. Normalmente este procedimiento se realiza por duplicado para prevenir la destrucción durante el traslado o en el proceso de herborización. Los frutos y semillas se coleccionan en sobres, o en su defecto, en bolsas plásticas.

### b. Identidad

Se refiere a la confirmación de la identidad del material vegetal. Puede hacerse por comparación del material con los especímenes de herbario de la empresa que manufactura el producto. En otros casos, la confirmación puede hacerse en la inspección visual o microscópica del material vegetal comparándolo con las monografías de la farmacopea o con literatura de estándares (Vasisht, 2001).

Las drogas vegetales son generalmente plantas enteras, fragmentadas o picadas, partes de plantas, algas, hongos, líquenes en un estado no procesado, generalmente en forma seca pero algunas veces fresca. De la planta debe establecerse la parte usada: tallo aéreo, rizoma, raíz, hoja, flor, parte de flores, inflorescencias, fruto, semilla, exudados. Las especificaciones se describen en el idioma nativo y en latín. Las especies vegetales utilizadas deben estar designadas por su nombre científico (en latín). La identificación se completa con el nombre de la familia botánica a la cual pertenece la planta. Además se debe indicar la cantidad estipulada de principio activo que la droga debe contener (Soler, 2005; Solís *et al.*, 2004).

### c. Características organolépticas

Se refiere a la evaluación de la droga por los sentidos del olor, sabor, tacto y a veces el sonido o chasquido que produce la fractura que pueden servir para las evaluaciones del material vegetal. El color de la droga puede revelar información necesaria y valiosa sobre el manejo post cosecha. Las plantas secadas rápida y muy cuidadosamente retienen su color y frescura mientras que el follaje con sobresecado lo pone quebradizo (Vasisht, 2001).

### d. Características macro y microscópicas

El examen microscópico o análisis micrográfico a veces revela detalles significativos, no sólo para confirmar la identidad de la planta sino también para identificar la naturaleza de adulterantes mezclados, intencionalmente o no, en la droga. En muchas drogas, la descripción microscópica de la disposición característica de los diferentes tipos de tejidos, estomas, tricomas y/o fibras, brinda un medio valioso que asegura la calidad de la droga. En caso de drogas que contienen un número constante de algunos parámetros, por ejemplo granos de almidón, fibras o tricomas, la microscopía puede ser usada para propósitos cuantitativos (Vasisht, 2001; Soria, 1994).

### e. Extracción y caracterización química

Puede definirse como una liberación extractiva fraccionada mediante un gradiente de polaridad ascendente. En el proceso de escogencia de un disolvente determinado es necesario considerar aspectos relacionados con la selectividad, facilidad de manipulación, precio, seguridad y riesgos en cuanto a una posible contaminación ambiental. Mediante el uso de este diseño se pretende aprovechar la selectividad y especificidad de los disolventes extractores utilizados (Solís *et al.*, 2004).

Cuando se realizan investigaciones para buscar o confirmar una actividad biológica es importante la determinación de los constituyentes químicos de la planta. El escrutinio fármaco químico constituye el marco de referencia convencional para el estudio de los

principios activos de plantas medicinales. Este enfoque se enmarca en la extracción y fraccionamiento bioguiado el cual consiste en la preparación de extractos crudos, fracciones obtenidas a partir de dichos extractos y la evaluación de su bioactividad (Solis *et al.*, 2005).

#### f. Perfil cromatográfico

La cromatografía se define para fines de la Farmacopea estadounidense como el procedimiento mediante el cual se separan por extracción fraccionada, adsorción o intercambio de iones sobre un sólido poroso, los principios activos y los materiales inertes que se hallan en los preparados farmacéuticos, mediante el flujo de solventes. También es definida como el método de análisis en el que el flujo de un solvente líquido o gaseoso (fase móvil) promueve la separación de sustancias mediante migración diferencial desde una zona inicial estrecha, en un medio poroso adsorptivo (fase estacionaria) (Medinilla, 2009).

Es un método simple y eficiente que sirve para identificar las drogas vegetales, sus extractos y tinturas. La respuesta reactiva de estándares conocidos de grupos funcionales particulares se utiliza frecuentemente como medio de comparación.

Sin embargo, la cromatografía en papel y en capa fina son las técnicas más utilizadas para propósitos de identificación, debido a que conllevan las siguientes ventajas: bajo costo, requieren muy poca inversión en instrumentos y reactivos; consumen poco tiempo para su realización (15 min a 1 hora); requieren cantidades mínimas de muestra (aproximadamente 0.1g); es poco probable obtener resultados falsos debido a la presencia de componentes secundarios y son técnicas simples que requieren de mínimo espacio físico (Medinilla, 2009).

En general el análisis se lleva a cabo para determinar los constituyentes activos principales de la planta, entre los que se encuentran alcaloides, flavonoides, antraglicósidos, saponinas, arbutina, aceites esenciales, glicósidos cardiotónicos, cumarinas y ácidos fenolcarboxílicos, principios amargos y valepotriatos (Ballvé *et al.*, 1995).

#### g. Tamizaje fitoquímico

Permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés, éste se fundamenta en la reacción selectiva de grupos funcionales específicos con reactivos capaces de formar complejos visualizables por el desarrollo de coloraciones características o por la formación de precipitados. Para el análisis fitoquímico preliminar se usan técnicas macro o micrométricas en tubo o capa fina y para el análisis fitoquímico definitivo y elucidación estructural se recurre a técnicas de cromatografía en papel, capa fina (CCF, TLC por sus siglas en inglés Thin Layer Chromatography) o columna, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía de gases, espectroscopia infrarroja, análisis de espectroscopia de masas, técnicas de refracción y cristalografía de rayos X, resonancia magnética nuclear (MNR), etc., pero en todos los casos se recomienda un fraccionamiento bioguiado (Cáceres, 1999; Cutler, 2000).

La cromatografía en capa fina es un método simple y eficiente. Este método sirve para identificar las drogas vegetales, sus extractos y tinturas. La respuesta reactiva de estándares conocidos de grupos funcionales particulares se utiliza frecuentemente como medio de comparación (Cutler, 2000).

#### h. Parámetros de pureza

Las drogas vegetales deberán cumplir con una serie de estándares para garantizar su calidad. El análisis de pureza nos permite determinar la presencia de contaminantes químicos, biológicos y físicos (Sandoval & Rojas, s.f.).

#### i. Humedad

El contenido de humedad varía según el órgano de la planta y según la especie. Las farmacopeas permiten cierto porcentaje de humedad que generalmente no puede ser mayor

al 10% (Sharapin, 2000).

j. Material volátil

La determinación de aceites esenciales en la droga se realiza por la destilación con agua. El contenido de aceite esencial puede ser un parámetro importante en la calidad del producto, (Sharapin, 2000; Vasisht, 2001).

k. Cenizas

El porcentaje de ceniza producida es indicador del cuidado durante el procesamiento del material vegetal, especialmente para partes subterráneas. Las cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido suelen determinarse por procedimientos estándar. Las cenizas insolubles en ácido constituyen una fracción de las cenizas totales que no se solubiliza en ácido clorhídrico, el cual disuelve varias sustancias como el carbonato de calcio y los cloruros de metales alcalinos. Lo que queda como ceniza insoluble en ácido comprende casi totalmente sílice procedente de la tierra adherida a la droga o arena (Vasisht, 2001).

2. Aspectos regulatorios y control de calidad de los productos de plantas medicinales

La OMS un organismo especializado de las Naciones Unidas que se ocupa fundamentalmente de asuntos sanitarios internacionales y salud pública. Por conducto de esta organización, creada en 1948, los profesionales de la salud de unos 180 países intercambian sus conocimientos y experiencias. Las plantas medicinales son importantes para la investigación farmacológica y el desarrollo de medicamentos, no solo cuando los constituyentes de plantas se usan directamente como agentes terapéuticos sino también como materiales de base para la síntesis de los medicamentos o como modelos para compuestos farmacológicamente activos. Por consiguiente, la reglamentación de la explotación y la exportación, junto con la cooperación y la coordinación internacionales, son esenciales para su conservación a fin de asegurar su disponibilidad para el futuro

(Jayasuriya DC. The regulation of medicinal plants - a preliminary review of selected aspects of national legislation. Unpublished Report).

Los controles legislativos sobre plantas medicinales no han evolucionado según un modelo estructurado de control. Hay diferentes maneras en las cuales los países definen las plantas o hierbas medicinales o los productos derivados de las mismas, y los países han adoptado diversos enfoques en la autorización, el expendio, la fabricación y la comercialización para asegurar su inocuidad, calidad y eficacia (Jayasuriya DC. The regulation of medicinal plants - a preliminary review of selected aspects of national legislation. Unpublished Report).

En la actualidad existe gran interés de los países industrializados por la flora nacional, este interés se ve limitado, ya que solo se puede exportar aquellas plantas de las que exista suficiente conocimiento agro tecnológico y que puedan ser manejadas y cultivadas, de forma que se proteja la riqueza natural, y que a su vez cumpla con las normas de garantía de calidad que dictan organizaciones internacionales como la OMS sobre las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), las cuales tienen como objetivos generales proteger al consumidor, al otorgar garantía sobre la inocuidad de alimentos, frutas y hortalizas y fomentar la confianza de los mercados extranjeros en los productos (OMS, 2005).

En el Artículo 96 de la Constitución de la República de Guatemala sobre el Control de calidad de productos, se expone la necesidad de regulación de productos farmacéuticos en cuanto al régimen de autorización de comercialización, tomando en cuenta la unificación del mercado, la libre circulación de productos y la influencia que estos poseen en la salud de los habitantes (Constitución Política de la República de Guatemala. Guatemala, 1961).

De acuerdo con la OMS, los fitofármacos son los productos obtenidos por procesos tecnológicamente adecuados, utilizando exclusivamente materias primas vegetales, con finalidad profiláctica, curativa, paliativa o para fines de diagnóstico. Este organismo recomienda que se establezcan criterios científicos y métodos que aseguren la calidad y eficacia de las preparaciones obtenidas a partir de plantas medicinales, a través de la

aplicación de patrones internacionales y especificaciones de identidad, pureza, métodos para uso seguro y eficaz de los productos fitoterapéuticos (OMS, 2005).

A pesar de que los medicamentos herbarios se han usado durante muchos siglos, solo una cantidad relativamente pequeña de especies de plantas se ha estudiado para las posibles aplicaciones médicas. Se dispone de datos sobre la seguridad y la eficacia de un número aún menor de plantas, sus extractos y principios activos y las preparaciones que las contienen (Heide, 1991).

En los últimos años, la utilización tradicional de plantas medicinales, sumada a los avances en tecnología, ha influido en los cambios que la industria farmacéutica, los centros de investigación y la agroindustria experimentan en los procesos de estudio, desarrollo y producción, que han permitido generar diversos productos de calidad uniforme, eficaces y seguros. Estos aspectos hacen que el enfoque para definir la calidad en las plantas medicinales y aromáticas varíe de acuerdo al uso y destino (Domínguez, 1988).

### 3. Metabolitos secundarios de las plantas

#### a. Definición

Los metabolitos secundarios, son un grupo de compuestos vegetales, que se encargan de defender a las plantas, tanto de herbívoros como de microbios patógenos. Estos pueden también tener otras funciones importantes, como lo es el soporte estructural, en el caso de la lignina, o pigmentos, en el caso de las antocianinas (Domínguez, 1988).

#### b. Características y propiedades

Todas las células vegetales realizan procesos metabólicos comunes que conducen a la formación de compuestos como azúcares simples, aminoácidos, nucleótidos, ácidos grasos y polímeros derivados de ellos, polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, entre otros, los cuales son esenciales para la vida celular. Estos procesos se denominan

metabolismo primario y los compuestos formados se designan como metabolitos primarios. Además de estos procesos, las plantas desarrollan otras rutas que conducen a la formación de compuestos usualmente peculiares de ciertos grupos taxonómicos, que forman parte del metabolismo secundario, a los que se les conoce como metabolitos secundarios. Anteriormente, los metabolitos secundarios de las plantas se consideraban sustancias de “desecho” para los vegetales, carentes de una función fisiológica definida; en la actualidad, se conoce que, si bien los compuestos secundarios no tienen, como los metabolitos primarios, una importancia para la célula productora, sí pueden poseer importancia fisiológica para el organismo productor como un todo. Dentro de todos estos compuestos se encuentran los isoprenoides y, más específicamente, los terpenoides, que son compuestos abundantes en los aceites esenciales (Azcón -Bieto & Talón, 2000).

La biosíntesis de los metabolitos secundarios suele hallarse restringida a fases específicas del desarrollo tanto del organismo como de la células especializadas, y a períodos de estrés (causados por la deficiencia de nutrientes, factores ambientales, o el ataque de microorganismos o insectos, entre otros) y se lleva a cabo en tres rutas metabólicas: la del acetato-malonato, del acetato mevalonato y del ácido shiquímico (Yano, 2002).

### c. Tinciones histoquímicas

Las pruebas histoquímicas que se realizan tanto con material fresco como seco y aun conservado, siendo preferible el estado fresco. Dicha técnica puede utilizarse tanto para detectar compuestos en la pared como lo son celulósica, lignina, suberina y cutícula; así como también puede utilizarse para determinar contenidos celulares como las aleuronas, cristales, grasas, aceites grasos, aceites volátiles, resinas, grupos químicos, mucílago, almidón, entre otros (Osasuna, 2005).

La mayoría de los colorantes son compuestos orgánicos que tienen alguna afinidad específica por los materiales celulares. Muchos colorantes utilizados con frecuencia son moléculas cargadas positivamente (cationes) y se combinan con intensidad con los constituyentes celulares cargados negativamente, tales como los ácidos nucleicos y los



polisacáridos ácidos. Ejemplos de colorantes catiónicos son el azul de metileno, el cristal violeta y la safranina. Otros colorantes son moléculas cargadas negativamente (aniones) y se combinan con los constituyentes celulares cargados positivamente, (proteínas); esos colorantes incluyen la eosina, la fucsina ácida y el rojo Congo. Otro grupo de colorantes son sustancias liposolubles; los colorantes de este grupo se combinan con los materiales lipídicos de la célula, usándose a menudo para revelar la localización de las gotículas o depósitos de grasa, un ejemplo de colorante liposoluble es el negro Sudán (Dewick, 2002).

### **C. Género *Piper***

*Piper* es uno de los géneros de plantas especiosas más importantes de los bosques Neotropicales y subtropicales (Stevens, Ulloa, Pool & Montiel, 2001). Es el más extenso e importante de la familia y cuenta con aproximadamente 1300 especies en el Neotrópico y se estima en 700 especies en los trópicos del Viejo Mundo (Quijano, Callejas & Miranda, 2006). Superficialmente todas las especies tienen bastante similitud en su apariencia, pero química o farmacológicamente son muy diferentes, al extremo que cada una de las cerca de 300 especies pareciera tener una química particular. La biogeografía del género indica que existe una gran diversidad, pero en el continente americano se reconocen tres provincias biogeográficas: la provincia de Centro América, México y noroeste colombiano, la provincia de la cuenca del Amazonas y la provincia de la foresta atlántica de Brasil (Marquis, 2004).

Diversas especies del género *Piper* han sido utilizadas por el hombre como condimento y medicina desde tiempos inmemorables. A lo largo de los trópicos, varias especies de *Piper* se utilizan para muchos propósitos tales como alimentos, especias, perfumes, aceites, venenos para peces, insecticidas, alucinógenos y medicinas (Barrett, 1994; Sengupta & Ray, 1987). En América Latina, las especies de *Piper* se han utilizado para tratar una variedad de dolencias ginecológicas, así como problemas gastrointestinales, depresión, ansiedad, dolor e inflamación, también infecciones bacterianas y fúngicas. (Michel, Duarte, Bolton, Huang, Cáceres, Veliz *et al.*, 2007). Aproximadamente 1,400 a 2,000 especies del género *Piper*, están distribuidas en las zonas tropicales y subtropicales del planeta. La

mayoría de especies del género *Piper* descritas en Guatemala tienen algún uso popular, ya sea como alimento, aroma, condimento o medicina. La *Flora de Guatemala* indica que existen en el país cuando menos 88 especies (Standley & Steyermark, 1952), de las cuales varias son nativas e inclusive endémicas de nuestra provincia biogeográfica, generalmente se conocen la mayoría de ellas bajo el nombre común de cordoncillo y la información que de ellas existe es sumamente escasa.

El género *Piper*, comprende un elevado número de especies y tiene interés por su amplia utilización en la medicina tradicional de varios países, presentando una gran complejidad, tanto desde el punto de vista botánico, como químico, “presenta tallos con nudos engrosados y las inflorescencias son espigas solitarias opuestas a las hojas que están dispuestas en forma alternada. Las especies de este género son generalmente herbáceas, a veces arbustos y rara vez árboles pequeños (Mahecha, 1997).

Las plantas del género *Piper* son conocidas como cordoncillo y se les atribuye la propiedad analgésica, antirreumática, diurética, carminativa, estimulante, digestiva, antiulcerosa, dermatológica, antidiarreico, antihelmíntica, antiflogística y bactericida (Moreira, Guimarães & Kaplan, 1998).

#### 1. Importancia económica y medicinal del género *Piper*

*Piper* es un género importante de especies tropicales por su potencial como aroma, colorante, alimento y medicamento. Estudios en especies del género *Piper* han demostrado que poseen una serie de actividades importantes para la salud y economía humanas, tal es el caso de la presencia de moléculas con actividad antioxidante (*Piper betle* L.) importante para la conservación de alimentos, otras como la piperina (*P. nigrum*) con actividad inhibidora de acetilcolinesterasa (Chonpathompikunlert, Wattanathorn & Muchimapura, 2010), otras como la piplartina (*Piper tuberculatum* Jacq.) con actividad antifúngica, aminas preniladas con propiedad antiparasitaria (*Piper crassinervium* Kunt.) y otras con actividad ansiolítica (*Piper methysticum* Forst) demostrada tradicional, experimental y clínicamente (Lehrl, 2004), la actividad antidiabética de los extractos acuoso y etanólico de

las hojas de *P. betle* (Arambewela, Arawwawala & Ratnosooriya, 2005) o la actividad antiinflamatoria de *Piper longum* L. (Sunila & Kuttan, 2006).

Los extractos de hojas, raíces y tallos presentan buena actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* con una concentración inhibitoria mínima (CIM) entre 31.25 y 62.5 µg/mL. Aunque las diferencias no fueron significativas, el extracto hidroalcohólico de las hojas demostró mayor actividad que el extracto de los tallos y raíces. En el ensayo antilevadura, todos los extractos demostraron buena actividad frente a *Candida tropicalis* (CIM: 250 µg/mL). Los resultados indican que la especie demuestra una actividad antimicrobiana prometedora y podría ser utilizada como materia prima para la industria farmacéutica (Felipe, Dias, Nakamura & Cortez, 2008).

## 2. Estudios previos realizados

El género *Piper* tiene un amplio uso popular y existe evidencia científica de su gran potencial en la industria farmacéutica, como insecticida (Orjala, Erdelmeier, Wright, Rali & Sticher, 1993), inhibición de crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* (Okunade, Hufford, Clark & Lentz, 1997), actividad antifúngica (Danelutte, Lago, Young & Kato, 2003), diurético (Germósen, 2005), actividad antimicrobiana (Cruz, Véliz, Gómez, Álvarez, Cáceres, Morales *et al.*, 2008), entre otros. A pesar de esto, muchas de las especies del género *Piper*, para las cuales se ha comprobado su enorme potencial en estudios científicos recientes, tienen poca información micromorfológica y macromorfológica (organoléptica). Es por eso que es muy importante generar dicha información, de este promisorio género tropical y documentarlo.

En base a lo obtenido en sus trabajos, y en la revisión bibliográfica realizada, autores como Albiero, Paoli, Souza & Mourão, (2005a); Albiero, Souza, Mourão, de Almeida & Lopez, (2005b); Albiero, Paoli, Souza & Mourão, (2006), entre otros llegaron a la conclusión de que si hay algunas variables que pueden ser utilizadas como caracteres diagnósticos. Entre las que se pueden mencionar son el número de estratos de la capa hipodérmica, el tipo de tricomas y la ubicación de éstos en la lámina y el contenido químico de las células de

almacenamiento observadas en todas las especies de la familia Piperaceae. Pero para llegar a una conclusión definitiva es necesario estudiar a más especies de este género, el cual es uno de los que alberga una gran cantidad de especies; y que poseen un gran potencial científico.

Los estudios fitoquímicos realizados en diferentes especies del género *Piper* han permitido aislar una gran variedad de metabolitos: amidas, lignanos, neolignanos, terpenos y flavonoides (Parmar, Jain, Bish, Jain, Taneja, Jha *et al.*, 1997). Otra actividad biocida interesante fue demostrada en tres fracciones de *Piper aduncum* proveniente de la foresta amazónica contra larvas de 14-21 días de la garrapata del ganado *Rhipicephalus microplus*, encontrándose la mayor actividad contra larvas en el extracto hexánico (CL50 9.30 mg/mL) y reducción de la reproducción (12.48-54.22%), mientras que 0.1 mg/mL del aceite esencial indujo una mortalidad larvaria del 100% (Castro-Silva, Martins, de Souza, Heinzen, Cesio, Mato Albrecht *et al.*, 2009). Un estudio en Malasia reveló la actividad nociceptiva y anti inflamatoria del extracto acuoso de las hojas por medio de la aplicación subcutánea de distintas dosis del mismo comprobando así, los usos tradicionales de la planta para el dolor y la inflamación (Zakaria, Patahuddin, Mohamad, Israf & Sulaiman, 2010).

La actividad antioxidante fue investigada en las especies usadas en la culinaria de la India, encontrándose que la pimienta negra (*Piper nigrum*) presenta una potente actividad atribuida a la piperina (Shobana & Naidu, 2000) y a su alto contenido de polifenoles (Gülcin, 2005). El análisis comparativo la actividad antioxidante de la pimienta blanca y negra, demostró que la segunda es significativamente más activa que la primera (Agbor, Vinson, Oben & Ngogan, 2006). Un grupo de 19 especies asiáticas de *Piper* fue estudiado por su actividad contra 5-lipoxigenasa y cicloxigenasa-1 (COX-1); la mejor inhibición de la formación de leucotrienos se obtuvo con el extracto de *Piper kadsura* (Choisy) Ohwi; la inhibición de la síntesis de prostoglandinas fue mejor por *Piper boehmeriifolium* (Miq.) C.DC.; y, la investigación química demostró la presencia de unos 20 componentes, principalmente amidas, particularmente pellitorina (Störh, Xiao & Bauer, 2001).

En América Latina existen pocos estudios sobre la actividad antioxidante del género *Piper*. De 15 especies vegetales provenientes del Ecuador, en extractos se demostró actividad antiinflamatoria en el modelo inducido por carregenina en pata de rata y en tres actividades antioxidantes por modelos *in vitro*; *Piper lenticillosum* C.DC.; demostró actividad antiinflamatoria, pero no demostró actividad antioxidante (De las Heras, Slowing, Benedí, Carretero, Ortega, Toledo *et al.*, 1998). El extracto etanólico de las hojas de *P. carpunya* (sinónimo *P. lenticillosum*) demostró en un modelo de gastritis inducida por diclofenaco en ratas un efecto gastroprotector atribuido a la actividad antiinflamatoria y mecanismos antiradicalarios (Trabadela, Sánchez-Fidalgo, Miño, Berenguer, Quilez, de la Puerta & Martín, 2008).

En los extractos metanólicos de tres especies de *Piper* provenientes de Camerún se demostró una elevada concentración de polifenoles. *P. umbellatum* (15.9±1.9mg/g) > *P. guineense* (12.6±0.3mg/g) > *P. nigrum* (9.8±0.8mg/g), así como actividad depuradora de DPPH (79.8-89.9%), óxido nitroso (10 mg/mL) y radical superóxido (47.1-51.6%), sugiriendo que las especies de *Piper* pueden jugar un papel de modulación en los desórdenes inducidos por los radicales libres (Agbor, Vinson, Oben & Ngogan, 2007). Por su uso en la medicina tradicional para el tratamiento de varios procesos patológicos; se aislaron varias aristolactamas que demostraron poseer potente actividad antioxidante y antifúngica y moderada actividad inhibitoria de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa (Tabopda, Ngoupayo, Liu, Mitaine-Offer, Tanoli, Khan *et al.*, 2008).

En un estudio realizado en Colombia, el aceite esencial de las hojas de *P. auritum* dio un rendimiento de 2.3%, siendo los mayoritarios safrol (94.0%) y miristicina (3.2%). La actividad antioxidante fue muy baja en relación con vitamina E y no presentó compuestos fenólicos (García, Leyva, Martínez & Stashenko, 2007). Otro estudio con extractos no alcohólicos de *P. peltatum* demostró actividad antioxidante por dos modelos (FRAP, DPPH), siendo la fracción 1 la más promisoría con actividad más eficiente que el ácido ascórbico (Puertas-Mejía, Gómez-Chabala, Rojano & Saéz-Vega, 2009).

Otro estudio realizado en 12 especies de *Piper* de la India, se demostró que la composición química incluye polifenoles y alcaloides, siendo los primeros, los principales componentes que se han involucrados en la actividad antioxidante vegetal (Parmar *et al.*, 1997; Parmar, Jain, Gupta, Talwar, Rajwanshi, Kumar *et al.*, 1998). Otros compuestos descritos en *Piper* son amidas, lignanos, cromononas (Ruangrungsi, Prathanturug, Lange & Organ, 1992; Navickiene, Alécio, Kato, Bulzani, Young, Cavalheiro & Furlan, 2000).

La piperina es el principal componente bioactivo del género *Piper*, aislada de *P. longum* y *P. nigrum*. Estudios en animales deficientes en receptores vanilloides de capsaicina (TRPV1) confirman que la piperina es más eficiente que la capsaicina en la desensibilización, lo que sugiere que podría usarse como matriz para el diseño de agonistas de TRPV1 (Szallasi, 2005). En un estudio en espenocitos murinos con compromiso inmune inducido por Cd, se demostró la habilidad de la piperina como antioxidante, antiapoptótico y quemoprotector en la blastogénesis, liberación de citoquinas y restauración de la población de células esplénicas, por lo que podría tener uso en situaciones de compromiso inmune (Pathak & Khandelwal, 2007). Otra anida interesante es la laetispicina aislada de *Piper laetispicum* C.DC. que presenta actividad antidepresiva y antinociceptiva en ratones (Yao, Wang, Dong, Qian, Xie & Pan, 2009).

### 3. Estudios de *Piper* en Guatemala

En Guatemala el género *Piper* presenta una amplia distribución especialmente en Alta Verapaz e Izabal, algunas de las especies son utilizadas por las comunidades humanas para diferentes afecciones, mientras que de otras especies se desconocen sus propiedades y son utilizadas indistintamente como cerco. A través de estudios previos se ha detectado que muchas de sus especies son promisorias para generar productos que puedan ser industrializados (Cleaves, 2001).

En estudios previos como el proyecto sobre “Caracterización de aceites esenciales y extractos de ocho especies Mesoamericanas de Piperáceas y evaluación de la actividad biocida para su aprovechamiento como nuevos recursos aromáticos y/o medicinales”

financiado por la DIGI-USAC 2006, se han detectado aproximadamente ocho especies de las cuales se puede continuar estudiando al menos tres especies, siendo éstas *P. jacquemontianum*, *P. donnellsmithii*, *P. oradendron*, por su composición química interesante y actividad biocida mostrada y la especie que presentó actividad contra *Mycobacterium smegmatis* y *Bacillus subtilis* fue *P. jacquemontianum* (Datos no publicados, 2006). Con esta información se desarrolló el proyecto “Caracterización morfológica, ecológica, genética y química de tres especies de *Piper* (*P. jacquemontianum*, *P. donnellsmithii* y *P. oradendron* con fines de conservación y mejoramiento para su aprovechamiento como nuevos recursos aromáticos y/o medicinales en Guatemala, financiado por el Consejo de Ciencia y Tecnología de Guatemala (CONCYT).

En un estudio etnobotánico de siete comunidades de la zona de influencia del Parque Nacional Laguna Lachuá realizado en Cobán Alta Verapaz, Guatemala, se reporta las familias con mayor número de especies utilizadas como medicinales a las Piperáceas, dentro de ellas las más reportadas tanto en comunidades como en número de informantes fueron *P. aeruginosibaccum*, *P. amalago*, *P. tuerckheimii*, y *P. cayoense*. Dentro de las plantas con usos medicinales más diversos se mencionan *P. amalago*, *P. tuerckheimii*, *P. aeruginosibaccum*, *P. variable*, *P. umbellatum* y *P. cayoense* (Cleaves, 2001).

A partir del uso popular entre las mujeres q'eqch'í de Guatemala, en *P. hispidum* se aislaron butenólidos que demostraron actividad estrogénica y serotoninérgica en dosis 1  $\mu$ M, comprobando que podrían asociarse con tratamiento de desórdenes del ciclo reproductivo femenino (Michel, Chen, Zhang, Huang, Krunic, Orjala *et al.*, 2010).

En el proyecto FODECYT 114-06 se estudiaron tres especies. Se determinó que las tres crecen en áreas de baja altura, alta temperatura y humedad relativa. El análisis molecular de AFLP's mostró clara separación entre poblaciones de *P. jacquemontianum* de la costa sur y del norte y similitud con *P. donnell-smithii*. *P. oradendron* pareciera tener mayor variabilidad intraespecífica ya que a pesar de que sus poblaciones están solo en la costa sur formó dos grupos de materiales. El rendimiento de aceite esencial fue mayor en las muestras de condiciones silvestres comparadas con el material bajo cultivo. *P.*

*jacquemontianum* tiene un mayor contenido de aceite esencial, los componentes mejor representados son el citonelal, linalool, cineol, limoneno y citral (Martínez, 2008).

En 2009 Cáceres y colaboradores con financiamiento de la línea FODECYT, desarrollaron el proyecto denominado actividad antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutriceuticos (FODECYT 28-2007), en el que se establecieron bioensayos para medir la actividad antioxidante por métodos macro y micrométricos. En este proyecto se evaluaron especies como *Brosimum alicastrum* Swartz, *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh, *Cucurbita argyrosperma* Huber, *Erythrina berteroana* Urban, *Fernaldia pandurata* (A.DC.) Woodson, *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud., *Litsea guatemalensis*, *Manilkara sapota* van Royen, *P. auritum*, *Solanum nigrescens* Mart. & Gal., *Spondias mombin* L. y *Tagetes lucida*. De estas especies ocho demostraron tener una actividad antioxidante interesante por varios modelos *in vitro*, particularmente *T. lucida*, *L. guatemalensis*, *P. auritum*, *S. nigrescens*, *G. sepium*, *S. domingensis*, *P. pseudoaureum* y *P. doica*.

#### **D. Familia Piperaceae**

Las especies pertenecientes a esta familia frecuentemente son hierbas aromáticas, rara vez como árboles, lianas o epifitos. Presentan hojas alternas, enteras a menudo lobuladas en la base, con frecuencia la morfología foliar puede variar drásticamente en una misma planta. Inflorescencias terminales, opuestas, solitarias, raramente axilares y en grupo sobre un eje común ramificado simulando umbelas o panículas, las flores forman bandas alrededor de la espiga; el fruto es una dropa o baya consta de semilla y al madurar es ligeramente distorsionado por compresión de los frutos adyacentes. Los tallos tienen nodos, pueden ser articulados aéreos y subterráneos, presentan el tejido vascular primario en dos o más anillos, o en anillos pequeños esparcidos; el xilema sin fibras traqueadas pero con fibras libriformes. El tipo de reproducción es por polinización (son plantas hermafroditas) (Standley & Steyermark, 1952). La pimienta negra (*P. nigrum*) es la especie más representativa de esta familia.



## E. Descripción general del material vegetal

Según la clasificación sistemática de Cronquist (1981), las plantas del género *Piper* se dividen en Magnoliophyta Cronquist, Takht. & W. Zimm. ex Reveal, que pertenecen a la clase Magnoliopsida Brong y subclase Magnoliidae Novák ex Takht del orden Piperales Lindl, Familia Piperaceae Giseke y género *Piper*.

### 1. *Piper hispidum* Swartz.

#### a. Sinonimias

*Piper angustifolium* L., *Artanthe asperifolia* (Ruiz & Pav.) Miq., *A. hirsuta* (Sw.) Miq., *P. valetudinari* Trel., *P. yoroanum* Trel., *A. hirsuta* (Sw.) Miq. (Standley & Steyermark, 1952; Stevens *et al.*, 2001; MOBOT, 11 mar. 2009).

#### b. Nombres vernáculos

Cordoncillo (Guatemala), xalcuahuit (palo arenoso), tilticxalcuahit (palo arenoso negro), cordoncillo blanco, pie de guicharo, tripa de zopilote (Sinaloa); lutu, cordoncillo (Ecuador); cordoncillo, matico, moqo-moqo (quechua), mogo-mogo, moho moho, hierba del soldado, ocuera, ambaybillo (Perú) (Standley, 1926; Standley & Steyermark, 1952; Martínez, 1979; Aguilar *et al.*, 1994; Villacres, 1995; Stevens *et al.*, 2001; Villar & Villavicencio, 2001; MOBOT, 11 mar. 2009).

#### c. Descripción botánica

Arbustos profusamente ramificados de 1-4 m de alto. Hojas pinnatinervias, asimétricas, elíptico-ovadas, ovadas o ampliamente ovadas, ocasionalmente obovadas, (9-) 11-18 (-20) cm de largo y (4.5-) 6-8 (-9.5) cm de ancho, acule cilíndrico color verde claro, nodoso, áspero, ramos jóvenes pubescentes. Hojas con ápice acuminado, base inequilátera, el lado más largo obtuso, el más corto cuneado, ocasionalmente cuneadas sobre ambos lados,

densamente punteado-glandulares en ambas superficies, particularmente en el envés, verde nítidas en ambas superficies, cartáceas, verde cafés y opacas en ambas superficies cuando secas, tardíamente rugosas, estrigosas o hispídas en la haz, hispído adpresas en el envés. Pecíolos 0.3-0.7 cm de largo, densamente estrigosos, con un desarrollo estipular prominente, 6-8 mm de largo, caduco. Inflorescencias erectas en todos los estadios, blanco-amarillentas en la anthesis, verde pálidas en fruto. Pedúnculo 0.5-0.7 (-1) cm de largo, hispído-estrigoso, glabrescente. Raquis 6-7.5 (-11) cm de largo, glabro. Brácteas florales triangulares, 0.2 mm de ancho, dorsal y marginalmente fimbriadas. Flores densamente agrupadas en el raquis formando bandas alrededor de la espiga, sésiles. Estambres 4, filamentos tan largos como las anteras, éstas con dehiscencia horizontal. Pistilo oblongo con 3 estigmas sésiles. Frutos ovoides, 0.6-0.8 mm de largo, comprimidos lateralmente, apicalmente obtusos, estrigosos, granuloso, café oscuros cuando secos (Stevens *et al.*, 2001). Raíces adventicias con estructura primaria con epidermis uniestratificada y corteza parenquimatosa la cual contiene ideoblastos con material lipofílico (Albiero *et al.*, 2006).

#### d. Datos agrotecnológicos

Cordoncillo se encuentra frecuente en matorrales, pasto grueso o bosques húmedos, lluviosos o secos, bosques premontanos. Común en sitios expuestos o en sombrío de bosques secundarios (Standley & Steyermark, 1952; Adams, 1972; Stevens *et al.*, 2001).

Se distribuye a 1,900 m o más bajo; más comúnmente debajo de los 1,000 m. Se reporta para el sur de México (Veracruz), Guatemala (Peten, Alta Verapaz, Izabal, Santa Rosa, Escuintla, Sacatepéquez, Chimaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango, San Marcos, Quiché, Huehuetenango), Belice, Caribe y toda Centroamérica hasta Suramérica (Standley, 1926; Standley & Steyermark, 1952; Adams, 1972; Aguilar *et al.*, 1994; Stevens *et al.*, 2001; FIELDMUSEUM, 9 mar. 2012; MOBOT, 11 mar. 2009; NYBG, 13 mar. 2012; SI, 14 mar. 2012).

La infusión de hojas se usa para regular la menstruación y proteger de caries la dentadura. Los Achuales, del río Huasaga mastican las hojas para ennegrecer los dientes y protegerlos de la caries. Los Boras usan un baño de las hojas para tratar las llagas en la boca de los niños. Además es utilizado como repelente de insectos, y para las picaduras de insectos. La hoja es astringente, cicatrizante y para el tratamiento de las úlceras (Standley & Steyermark, 1952; MOBOT, 11 mar. 2009).

#### e. Usos medicinales

Las partes aéreas se usan para mordedura de serpientes e insectos, limpiador de piel, matar piojos, dolores generales, dolor de estómago y úlceras, fiebre, regular la menstruación, fuego bucal, fiebre por malaria, amigdalitis, paperas, blanquear dientes, favorece la digestión (digestivo). Se utiliza también en el veneno de flechas (Schultes 1975; Martínez, 1984; Duke & Vásquez, 1994; Coee & Anderson, 1996; Lentz, Clark, Hufford, Meurer-Grimes, Passreiter, Cordero *et al.*, 1998; Otero, Fonnegra, Jiménez, Núñez, Evans, Alzate *et al.*, 2000).

Hojas, tallos y raíces tradicionalmente se utilizan en afecciones respiratorias, contusiones, luxaciones, conjuntivitis, trastornos digestivos, hemostáticos, como carminativo, antidiabético, sedante, antihemorroidal, en insomnio, eccemas, malaria, antiinflamatorio ocular y bucal, piel y mucosas, cicatrizante, antiulceroso, hemorragias, diarreas sanguinolentas, antitusígeno y expectorante (Villar & Villavicencio, 2001). Se usa en el tratamiento de diabetes, diarrea, puerperio, parasitosis, anginas, paperas y empacho (Adams, 1972).

La decocción se usa en lavados locales, como desinflamante de afecciones de la piel, favorece la cicatrización de heridas; administrado por vía oral es útil en el tratamiento de úlceras y gastritis. La infusión se usa en gargarismos como antiinflamatorio bucal; tomado como agua de tiempo se utiliza para afecciones urinarias, úlceras gástricas y diarreas infantiles (Villar & Villavicencio, 2001).

## f. Composición química

En una investigación fitoquímica preliminar, en toda la planta se identificaron alcaloides, flavonoides, taninos, antocianinas, saponinas, esteroides sesquiterpenlactonas, cumarinas y glicósidos cardiotónicos; aceites esenciales (germacreno D,  $\beta$ -cariofileno y  $\alpha$ -farneseno) (Ríos, 1993; Cruz *et al.*, 2008).

El aceite esencial contiene ácido benzoico, acetato de borneol,  $\gamma$ -cadineno, canfeno,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -guaiano, mirceno,  $\alpha$ -felandreno,  $\beta$ -felandreno,  $\alpha$ - y  $\beta$ -pinenos, pinostrobin, 3,7metil-1,3,6octatrieno, linalool, biciclo-heptan-2-canfor,  $\beta$ -selineno, 2-5-6trimetil-1,3,6heptatrieno,2,4diisopropenil-1-metil-1-vinilo, benzociclo-heptano, biciclogermacrano,  $\alpha$ -copaeno, 1,6,10 dodecatrien-3-ol, (-)-espatulenol,  $\alpha$ -guaiano,  $\beta$ -sesquifelandreno (Machado, Militão, Morais & Machado, 1994; Cruz, 2005).

Tallos y raíces contiene aceites esenciales y un principio semejante al ácido tartárico; fenoles, esteroides, monoterpenos ( $\alpha$ - y  $\beta$ -pineno), hidrocarburos sesquiterpénicos ( $\beta$ - y  $\delta$ -elemeno,  $\alpha$ -cubeneno, isobornil isobutirato, nerilacetona, (Z)- $\beta$ -farneseno, (E)-murola-4-(14),5-diene,  $\gamma$ -gurjunena, germacreno A, B y D, (E,E)- $\alpha$ -farneseno,  $\delta$ -cadieno, (E)-nerolidol, oxido cariofileno, globulol, humuleno epóxido II, (1,10-di-epi)-cubenol, cubenol) terpenos ( $\alpha$ -felandreno, p-cimeno, limoneno,  $\alpha$ -muroleno, elemicina, dilapiol, apiol), azúcares reductores y glicósidos, alcaloides, saponinas, esteroides, taninos flavónicos, flavonoides y fenilpropanoides (Machado *et al.*, 1994; Días dos Santos, de Lima Moreira, Guimarães & Coelho, 2001; Villar & Villavicencio, 2001; Facundo, Polli, Rodriguez, Militão, Stabelli & Cardoso, 2008).

A partir del extracto etanólico de las inflorescencias fueron aislados tres flavonoides: 5-hidroxi-7-metoxi-flavanona, 5-hidroxi-4',7'-dimetoxiflavanona y 2',4',6'-trimetoxidihidrochalcona. De las flavanonas aisladas fueron obtenidos los derivados acetilados 5-acetoxi-7-metoxiflavanona y 5-acetoxi-4',7'-dimetoxiflavanona (Plazas, Cuca & Delgado, 2008).

#### g. Farmacología

Se le atribuye actividad antiinflamatoria y repelente. Tiene propiedad antifúngica y antilevadura (Gupta, 2008). El extracto etanólico total (5000 ppm) presenta actividad antibacteriana del 100% sobre *Bacillus subtilis*, y del 50% sobre *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Proteus vulgaris*. Presenta actividad contra *Microsporum canis*, *Trichophyton. tonsurans*, *T. mentagrophytes*, y del 25% sobre *T. rubrum*. Presenta una actividad antiherpética sobre *Herpes simplex* tipo 1 del 14.2% a una MCNC de 0.25 µg/mL (Martínez, 1979).

Las amidas pirrolidínicas: N-[3'4'-metilendioxfenil)-2-(Z),4(Z).heptadienoil] pirrolidina, (3Z, 5Z)-N-isobutil-8-(3'4'-metilenedioxifenil)-heptadienamida, N-[3-(6'- metioxi-3',4'-metilendioxfenil)-2-(Z)-profenolil]pirrolidina, N-[2-(3'-4'-metilendil-oxi-6-metoxi-fenil)-prop-cis-2-enoil]pirrolidina, N-[5-(3'-4'-metilendil-oxifenil)-penta-trans-2-dienoil] pirrolidina y piperamina aisladas de hojas tienen actividad contra *Chaetomium sphaerpermum* (Alécio, Bolzani, Young, Kato & Burlan, 1998; Hosana, Alécio, Kato, Bolzani, Young & Cavalheiro, 2000). Por fraccionamiento bioguiado se aisló la aseborgenina como componente activo contra *Plasmodium falciparum* (Jenett-Siems, 1999).

Un estudio determinó que tiene actividad antiinflamatoria por una disminución del edema en ratones albinos raza Swiss al administrar vía tópica la decocción en cloruro de sodio del polvo-cernido (100 mg/kg), se comparó con un grupo control que recibió diclofenaco y hubo una diferencia significativa entre la dosis de *P. falciparum* y el diclofenaco. En un ensayo en conejos con grupo problema y control, se determinó que los extractos acuoso y crudo (250 mg/kg) p.c. pueden ser utilizados para detener la sangría anormal. Ensayos *in vitro* han demostrado que posee actividad contra bacterias Gram Positivo. Otro estudio demostró que el infuso al 10%, luego de filtrado y liofilizado, resultó ser efectivo en un 67.5% de los casos luego de la administración a la dosis de 1 g/kg por vía oral, a ratones con lesiones gástricas necrosantes inducidas por etanol (Villar & Villavicencio, 2001).

Su aceite esencial presentó actividad contra *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* a una concentración de 0.5 mg/mL en su primer y segundo estadio y actividad citotóxica a 0.5 mg/mL contra nauplios de *A. salina* (Cruz, 2005).

En extractos de hojas se aislaron tres butenólidos incluyendo un nuevo compuesto, 9,10-methylenedioxy-5,6-Z-fadienolido. En este estudio se encontró ser un agonista parcial del receptor 5-HT<sub>7</sub>. Los otros dos butenólidos (el 5,6-Z-fadienolido y el piperolido) demostraron un efecto agonista estrogénico (Michel, Chen, Zhang, Huang, Krunic, Orjala *et al.*, 2010).

Un estudio realizado en 20 pacientes con el diagnóstico de úlcera péptica, sometidos a tratamiento con el micronizado de hojas en forma de cápsula de 300 mg administrados por vía oral durante 15 días para úlcera duodenal y 28 días para úlcera gástrica. Los resultados indican que en dosis de 900 mg cada 8 horas, cicatrizaron a 2 y 4 semanas de tratamiento, la úlcera duodenal y gástrica respectivamente (Villar & Villavicencio, 2001).

## 2. *Piper oradendron* Trel. & Standl.

### a. Sinonimias

No hay información disponible.

### b. Nombres vernáculos

Cordoncillo (Standley & Steyermark, 1952).

### c. Descripción botánica

Arbusto de 1-2.5 m de alto. Ramas delgadas, densamente hispidulosas con pelos cortos, spreading o reflexos, usualmente fulvous. Pecíolos delgados, 1-2 cm de largo, no alados, hispidulosos, dilatados en la base. Hojas delgadas, usualmente verdes o verde oscuras

cuando están secas, densa y diminutamente pellucido-puntado, nada o levemente lustrosas, ovadas u ovado-elípticas, principalmente 13-18 cm de largo y 6-9 cm de ancho, abruptamente acuminadas o largamente acuminadas, oblicuas y conspicuamente desiguales en la base, usualmente agudas en un lado y obtusas o aún redondeadas en el otro, no buladas, escabrosas o hirtelosas en el haz a lo largo de la costa, en cualquier otro lado glabras o casi glabras, usualmente muy suaves al tacto, esparcidamente estrigilosas en el envés en los nervios y venas o en edad glabras, suaves al tacto, peninervias. Los nervios 3-4 en cada lado, ascendiendo en un ángulo usualmente menor de 45°, levemente arqueados o casi erectos, muy delgados, prominentes, las venas prominentes, usualmente pálidas, laxamente reticuladas. Pedúnculos opuestos a las hojas, algo gruesos, cerca de 6mm de largo, hispidulosos o glabros. Espigas delgadas, las inmaduras 5-6 cm de largo y 2 mm de diámetro, obtusas. Brácteas densamente pubescentes (Standley & Steyermark, 1952).

#### d. Datos agrotecnológicos

Matorrales húmedos a secos o bosques mixtos. Es un arbusto común de las colinas y llanuras del declive del Pacífico (Standley & Steyermark, 1952).

Se encuentra a una altura de 1,200 msnm o menos a temperaturas de 23-34°C y humedad relativa entre 51-85%. Se cree que es una especie endémica de Guatemala, se ha reportado para Izabal, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez, Retalhuleu, San Marcos y Suchitepéquez (Standley & Steyermark, 1952; Martínez, 2009; MOBOT, 11 mar. 2012).

#### e. Usos medicinales

No hay información disponible.

#### f. Composición química

Las hojas contienen alcaloides, flavonoides, antraquinonas, saponinas, principios amargos, aceite volátil y cumarinas. El aceite esencial contienen  $\beta$ - pineno, germacreno e iso-

espatulenol se presentan como mayoritarios y citonelal, linalool, cineol, limoneno y citral (Cruz *et al.*, 2008; Martínez, 2009).

g. Farmacología y toxicología

Respecto a las particiones, para *P. oradendron* la mayor actividad antioxidante, comparando con el estándar de vitamina E, la presentó la partición con acetato de etilo (CI50  $2.41 \pm 0.0453$  mg/mL) (Abdalla, Juárez, Ovalle & Palacios, 2012).

3. *Piper umbellatum* L.

a. Sinonimias

*Heckeria subpeltata* (Willd.) Kunth, *H. umbellata* (L.) Kunth, *Lepianthes umbellata* (L.) Raf. ex Ramamoorthy, *Peperomia umbellata* (L.) *P. subpeltata* (Willd.), *P. umbellata* (L.) Miq., *P. umbellata* var. *cuernavacana* (C. DC.) Trel. & Yunck., *P. umbellata* var. *glabra* (C. DC.) Trel. & Yunck. (Standley & Steyermark, 1952; Stevens *et al.*, 2001; MOBOT, 11 mar. 2012).

b. Nombres vernáculos

Santa María, Santa María del zope, jute, obet, obbel (Guatemala); da hu jiao (Pinvin, China); estrella, santa maría, cordoncillo (Costa Rica); maría panga (Ecuador) (Standley, 1937; Villacres, 1995; MOBOT, 11 mar. 2012).

c. Descripción botánica

Plantas erectas, de tallos, pecíolos y hojas carnosas, herbáceas casi en todo, pero frecuentemente algo leñosas abajo, las ramas jóvenes densamente viloso-piloso. Pecíolos 20 cm de largo o más cortos, vaginados por casi o toda su longitud. Hojas palmatinervias,



grandes, delgadas, flácidas, ovado-orbiculares, principalmente 20-30 cm de largo y de igual o incluso ancho mayor, agudas o abruptamente corto agudas en el ápice, profunda y estrechamente cordadas en la base, con largos lóbulos basales redondeados, verde en la haz, glabro a densamente vilosuloso, algo pálido en el envés, esparcidamente o densamente pubescente o vilosuloso, pelúcido-punteado. Inflorescencias cortamente pedunculadas, umbeladas al final de un corto pedúnculo axilar, estambres dos, estigmas tres, estilos ausentes, recurvados. Frutos pequeños (Standley & Steyermark, 1952).

#### d. Datos agrotecnológicos

Arbusto muy común y ampliamente extendido en comunidades secundarias, bosques o matorrales húmedos o lluviosos; frecuentemente crecen en sitios parcialmente expuestos, generalmente en remanentes de bosques nublados o premontanos y en bosques de crecimiento secundario (Standley & Steyermark, 1952; Adams, 1972; Stevens *et al.*, 2001).

Se encuentra a 1,500 msnm o menos. Se reporta para Estados Unidos, México, Guatemala (Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, Petén, Chiquimula, Jalapa, Jutiapa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu, Santa Rosa, Quetzaltenango, San Marcos), Belice, Caribe, El Salvador hasta Suramérica, e incluso el viejo mundo (países africanos como Zaire, Uganda, Mozambique, etc.) (Standley & Steyermark, 1952; Stevens *et al.*, 2001; MOBOT, 11 mar. 2012; NYBG, 13 mar. 2012; SI, 14 mar. 2012).

#### e. Usos medicinales

Las hojas se utilizan para limpieza de la piel, esto prevendrá el ataque de ácaros o pequeñas garrapatas. Además, se reporta que el caldo hecho de jutes o caracoles y hojas lo utilizan para incrementar el flujo de la leche (Standley & Steyermark, 1952; MOBOT, 11 mar. 2012).

Sus hojas son emenagogas, utilizadas para el tratamiento de cólicos, flatulencia, fiebre, enfermedades relacionadas con el aparato reproductor femenino, laxante, malaria, granos, enfermedades psiquiátricas (calmante), quemaduras, sanar heridas, raspones, esguinces, irritaciones de la piel, diarrea, acelerar el parto, dolor de cuerpo (Vasilev, 1969; Browner, 1985; Bioka & Abena, 1990; Zamora-Martínez & Pola, 1992; Hammer & Johns, 1993; Akendengue & Louis, 1994; Stehmann & Brandao, 1995; Noumi & Yomi, 2001; Roersch, 2010).

La corteza se ha utilizado como diurético y depresor del sistema nervioso (Bouquet & Debray, 1974; Schultes, 1975; Schultes, 1980; Schultes & Raffauf, 1990; Roersch, 2010).

La raíz es afrodisiaca, utilizada junto con *Hyptis pectinata* (L.) Poit., acelera la expulsión de la placenta. Se utiliza para el tratamiento de desordenes hepáticos, diarrea, epilepsia y es antiinflamatorio. Se reporta que es antiinflamatorio, analgésico local, antispasmodico y refrescante para los problemas hepáticos (Kerharo & Bouquet, 1950; Kokwaro, 1976; Kijjoa, Giesbrecht, Akisue, Gottlieb & Gottlieb, 1980; Hammer & Johns, 1993; Desmarchelier, Barros, Repetto, Latorre, Kato, Coussio *et al.*, 1997; Martins, Salgueiro, Vila, Tomi, Cañigüeral, Casanova *et al.*, 1998; Figueroa, 2008).

#### f. Composición química

E-nerolidol, germacrano D y  $\beta$ -cariofileno. Se aislaron de sus ramas cuatro alcaloides: piperumbelactamas de la A a la D junto con Nhidroxiaristolam II, N-p-coumaroiltiramina, 4-nerolidilcatecol, N-trans-feruloiltiramina, E- 3-(3,4-dihidroxifenil)-N-2-[4-hidroxifeniletíl]-2-propenamida,  $\beta$ -amirina, friedelina, apigenina 8-neohespe-ridosida, acacetin 6c- $\beta$ -d-glucopiranosido,  $\beta$ -sitosterol, 3-o- $\beta$ -dglucopiranosido, 3-o- $\beta$ -d-[6'-dodecanoil]-glucopiranosido (Cruz *et al.*, 2008; Tabopda, Ngoupayo, Liu, Mitaine-Offer, Tanoli, Khan, *et al.*, 2008; Roersch, 2010).

Su aceite esencial contiene linalool, E-nerolidol,  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -pineno (Figueroa, 2008; François, Pierre, Lambert, Ndifor, Arlette, Paul *et al.*, 2009).

g. Farmacología y toxicología

El extracto diclorometánico de hoja tiene actividad antibacteriana contra *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *M. smegmatis* (Gomez, 2008). Sus hojas poseen actividad antiprotozoaria contra *Leishmania* y *Plasmodium* (Valadeau *et al.*, 2009).

El 4-nerolidilcatecol posee actividad inhibitoria de la fosfolipasa A2 del veneno de serpientes del género *Bothrops* (Nuñez, 2005).

El extracto acuoso de sus hojas posee actividad analgésica, hipotérmica, reducción de la actividad espontánea y efecto tranquilizante (Hammer & Johns, 1993). El extracto metanólico de raíz posee actividad antioxidante (Kerharo & Bouquet, 1950) y el extracto etanólico del tallo posee actividad citotóxica (Bioka & Abena, 1990). Se ha demostrado actividad antioxidante contra radicales libres tales como DPPH, superóxido, radicales hidroxilo, óxido nítrico (Agbor, Vinson, Oben & Ngogang, 2007).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Guatemala es un país rico en recursos naturales, posee todas las condiciones necesarias que favorecen la diversidad y el desarrollo de plantas, las cuales han sido utilizadas desde tiempos ancestrales para diferentes aplicaciones, siendo una de éstas la medicina tradicional, la cual ha sido transmitida de generación en generación en forma empírica.

El género *Piper* comprende un elevado número de especies de aproximadamente 1,400 a 2,000 las cuales poseen gran interés por su amplia utilización en la medicina tradicional de varios países, presentando una gran complejidad tanto desde el punto de vista botánico como químico.

Éste estudio permitirá el establecimiento de los caracteres de identidad y pureza de tres especies del género *Piper* de uso popular en Guatemala. Las especies a estudiar son: *P. hispidum* (cordoncillo), *P. oradendron* (cordoncillo) y *P. umbellatum* (Santa María).

La presencia de metabolitos secundarios como almidones, alcaloides, taninos, saponinas, aceites esenciales y mucílagos contribuyó a la elaboración de normas de calidad de material vegetal fresco y seco de las tres especies en estudio.

La investigación permitió establecer parámetros para elaborar una correcta descripción macro y microscópica para realizar un control de calidad de la droga vegetales de las especies del género *Piper* en estudio, tanto de material seco como fresco.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Establecer caracteres farmacobotánicos de tres Piperáceas de uso medicinal en Guatemala: *Piper oradendron*, *Piper umbellatum* y *Piper hispidum*.

### B. Específicos

- Demostrar la presencia de metabolitos secundarios en cada una de las plantas en estudio: *P. oradendron*, *P. umbellatum* y *P. hispidum*, por método histoquímico.
- Determinar los caracteres anatómicos y organolépticos específicos de la planta fresca y seca que permita diferenciar cada una de ellas.
- Establecer parámetros característicos que permitan elaborar descripciones diagnósticas para el control de calidad de sus drogas vegetales.

## **VI. HIPÓTESIS**

Por ser un estudio descriptivo no aplica.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo y muestra

#### 1. Universo

Especies del género *Piper*, descritas en Guatemala y estudiadas en el Departamento de Citohistología.

#### 2. Muestra

Material vegetal fresco y seco de *P. oradendron*, *P. umbellatum* y *P. hispidum*, procedentes de la localidad de Samayac, departamento de Suchitepéquez.

### B. Recursos

#### 1. Humanos

Investigadoras

- Br. Norma Lizeth Santay Ordóñez
- Br. Melida Colin Leonardo Ibarra.
- Asesora: MA. María Eugenia Paredes Sánchez

#### 2. Institucionales

- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Laboratorio de Productos Naturales, FARMAYA, S.A.

- Herbario Biología de Guatemala (BIGU), Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

### **C. Materiales y equipo**

#### 1. Materiales

- Agujas de disección
- Asperjador
- Balanza semianalítica y balanza analítica
- Cámaras de revelado
- Campana de extracción de gases
- Cristalería y material de laboratorio en general
- Cubreobjetos
- Desecadora
- Discos de papel filtro de 6 mm de diámetro
- Droga patrón y/o descripción botánica
- Estereoscopio
- Estufa eléctrica
- Fuente de luz artificial
- Hojas de afeitar nuevas
- Microscopio
- Papel filtro
- Papel parafilm
- Pinzas de metal
- Pipetas serológicas de vidrio
- Portaobjetos
- Refrigeradora
- Viales de 2 mL
- Vidrios de reloj



## 2. Reactivos

- Ácido sulfúrico concentrado
- Agua destilada
- Azul de cresil 1 %
- Dragendorff
- Etanol a 96 %
- Gelatina glicerina
- Lugol
- Hipoclorito de sodio al 50 %
- Hidróxido de sodio al 5 %
- Safranina 1 %
- Sudan IV
- Sulfato férrico

## D. Métodos

### 1. Recolección de la muestra

El material vegetal se recolectó a través de la realización de viajes de campo al municipio de Samayac, ubicado en el departamento de Suchitepéquez donde se realizaron colectas, correspondientes a las diferentes etapas a estudiar.

Se colectó por lo menos 2 kilogramos de partes aéreas (hojas) de la planta, las cuales fueron transportadas a la ciudad capital de Guatemala para su procesamiento en el LIPRONAT y en el Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Se colectaron tres ejemplares de dicha localidad para herborizar, se depositaron en el herbario BIGU. Una porción del material vegetal fue colocado en cámara húmeda utilizando bolsas de cierre hermético y almacenado en refrigeración para su análisis, otra porción fue secada

(prensada) a la sombra para la realización de muestrario y pruebas de identificación con droga seca.

## 2. Herborización

De las muestras botánicas de cada planta, se prepararon ejemplares de herborización. Esto se llevó a cabo de la siguiente manera:

- Se colocaron los especímenes en medio de 2 hojas de papel periódico.
- Luego los especímenes fueron colocados en cartón corrugado.
- Se formó una pila, se amarró y apretó.
- Fue transportado a la secadora para librarse de la humedad de las plantas, y así evitar el desarrollo de hongos (Gattuso & Gatusso, 1999).
- Por último se llevaron los especímenes desecados en papel texcote con su respectiva identificación al Herbario BIGU, donde fueron identificadas y almacenadas en dicho lugar.

## 3. Determinación de características macromorfológicas de las muestras frescas y secas

- La determinación de las características macromorfológicas de la materia vegetal se llevó a cabo con lupa o estereoscopio, se revisaron y anotaron detalles para la identificación de la materia tales como: morfología, color (Gattuso & Gatusso, 1999).

## 4. Determinación de características micromorfológicas e histológicas de las muestras frescas y secas

### a. Corte a mano alzada

- Se colocó un trozo de hoja entre dos trozos de poliestireno expandido.

- Se sostuvo fuertemente con una mano el material a cortar, ya acondicionado y con la otra mano se deslizó de manera perpendicular una hoja de afeitar en buenas condiciones.
- Se colocaron los cortes obtenidos en un vidrio de reloj con agua destilada.
- Se seleccionaron los cortes más delgados y parejos con la ayuda de una aguja de disección para posteriormente colocarlos en láminas portaobjetos.
- Se observó al microscopio.

b. Técnica de coloración

- Se seleccionó el material vegetal a colorear.
- Se sumergió el material en un vidrio de reloj conteniendo Safranina al 1 % durante aproximadamente 3 minutos.
- Se retiró con ayuda de una aguja de disección el material vegetal que fue coloreado.
- Se trasladó a un portaobjetos.
- Se agregó una a dos gotas de gelatina-glicerina.
- Fue cubierto suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Se sellaron los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

c. Técnica de diafanizado

- Se colocaron al menos cuatro hojas de la especie vegetal en un cristalizador con alcohol al 96 %.
- Se llevó a ebullición durante 30 minutos aproximadamente, hasta que ya no se observó coloración verde en las hojas.
- Se pasaron las hojas a una solución de partes iguales de alcohol al 96 % e hidróxido de sodio al 5 %.
- Se llevó a ebullición por 10 minutos.
- Se lavó el material con agua destilada tibia varias veces hasta que el agua quedó totalmente limpia.

- Se pasó a una caja de petri que contenía una solución de hipoclorito de sodio al 50 % hasta que las hojas quedaron blanco-transparentes.
- Se lavó el material tratado con agua destilada varias veces hasta eliminar el hipoclorito de sodio.
- Se procedió a colorear según técnica de coloración con safranina.
- Cada hoja fue trasladada a un portaobjetos, cuidando de que unas preparaciones sean de la cara abaxial y otras de la cara adaxial.
- Se agregaron de dos a tres gotas de gelatina-glicerina.
- Fue cubierto suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Se sellaron los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

#### d. Tamizaje Fitoquímico

- Se realizaron cortes transversales del tejido vegetal en estudio.
- El corte seleccionado fue colocado sobre un extremo del portaobjetos.
- Se procedió a investigar la presencia del compuesto químico de interés:
  - Alcaloides
  - Almidón
  - Carbonato de calcio
  - Grasas y aceites esenciales
  - Lignina
  - Mucílagos
  - Saponinas
  - Taninos

#### e. Técnica de disociado débil

- Se cortó finamente el material vegetal.
- Fue colocado el material cortado finamente en un cristalizador que tenía solución de hidróxido de sodio al 5 %.

- Se hirvió durante 5 minutos.
- Se lavó con agua destilada hasta que el líquido quedo limpio.
- Se procedió a colorear según técnica de coloración con safranina.
- Fue Traslada una pequeña cantidad del material a un portaobjetos.
- Se agregaron dos gotas de gelatina glicerina.
- Se cubrió suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Fueron sellados los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

f. Determinación de humedad

- Se encendió la balanza de humedad.
- Se seleccionó el programa de secado.
- Fue Seleccionada la función en el programa: tecla (↓) y tecla (enter)
- Se seleccionó el programa P1, P2 o P3 con la tecla (↓) y tecla (enter).
- Se abandonó la selección de programa: 2 x tecla (CF).
- Se procedió a abrir la cámara de muestras.
- Se colocó el platillo de muestra.
- Se tapó el platillo de muestra: función TARA y tecla (enter).
- Se pesó la muestra inicialmente y cerró la cámara de muestras.
- Al iniciar: se seleccionó la función INICIO y tecla (enter), y cerró la cámara de muestras directamente (se realiza proceso de secado, esperar y leer el resultado).

g. Extracción de metabolitos secundarios

Los extractos fluidos también conocidos como extractos líquidos, son preparaciones de material vegetal que contienen alcohol como disolvente o como preservante, o ambos, preparados de tal manera que cada mililitro contiene los constituyentes extraídos de un gramo del material crudo que representa (Solis, 2005).

## 5. Procedimiento de análisis organoléptico

### a. Aspecto general.

Se observó si las hojas son enteras, fragmentadas o pulverizadas.

### b. Consistencia.

Se observó si las hojas son duras, flexibles, coriáceas, membranáceas, papiráceas, carnosas o suculentas.

### c. Color.

Este carácter tiene un valor relativo para la diagnosis ya que depende del sistema de secado y conservación que se realice. En esta característica se anotó el color que presentó la hoja.

### d. Olor y sabor.

Para el olor se deshizo la hoja con las manos, y se acercó a la nariz para describir el olor. Para el sabor se tomó una pizca del material y masticó hasta sentir algún sabor.

### e. Superficie de la lámina.

Fue determinado por el tacto, se indicó si el material era liso, sedoso, áspero o tomentoso y por la visión si era glabro, pubescente, rugoso, ondulado, hirsuto o verrucoso.

## 6. Pruebas de pureza

### a. Cenizas totales.

Al incinerar la materia vegetal se produjo una ceniza inorgánica. El proceso se llevó a cabo de la siguiente forma:

#### 1. Procedimiento

- Se marcaron los crisoles por la parte de abajo con crayón para identificarlos.
- Se ignicionaron en mufla los crisoles de porcelana a 600 °C por tres horas.

- Se dejaron enfriar dentro de la mufla hasta el día siguiente.
- Se tararon los crisoles y anotó el peso exacto inicial de cada crisol.
- Se procedió a medir la humedad de las muestras vegetales, que deberían estar por debajo del 10 %.
- Se pesó en balanza analítica, dos gramos de material vegetal y anotó el peso exacto.
- Se introdujeron los crisoles en la mufla e ignicionaron a 600 °C por tres horas.
- Se dejó enfriar la mufla hasta el siguiente día.
- Se procedió a sacar los crisoles de la mufla e inspeccionaron las cenizas obtenidas, si estas poseían una gama de color que fuera desde el gris rojizo hasta el blanco (ideal); se pesaron los crisoles y anotó dicho peso.
- Si las cenizas que se obtuvieran no fueran blancas, significaba que no se encontraban libres de carbón, entonces se debía extraer la masa quemada con agua caliente.
- Se filtró el residuo por un papel filtro, y apartó el filtrado.
- Se incineró en una estufa el residuo junto con el papel filtro, hasta que la ceniza se tornó blanca o casi blanca.
- Se agregó el filtrado que se apartó con anterioridad y evaporó la sequedad.
- Se ignicionó de nuevo en la mufla a 600 °C.
- Cuando no se llegó a obtener una ceniza libre de carbón, se dejó enfriar el crisol en la desecadora y añadieron 15 mL de alcohol.
- Se rompieron las cenizas con una varilla de vidrio.
- Se quemó el alcohol en estufa e ignicionó una vez más a 600 °C en la mufla.
- Se enfriaron los crisoles en la misma mufla y pesaron las cenizas obtenidas.
- Se calculó el porcentaje de cenizas totales a partir del peso utilizado de la materia vegetal (Paredes, 2005; Gattuso & Gattuso, 1999).

% de cenizas:  $\frac{\text{peso final} - \text{peso inicial del crisol vacío}}{\text{Peso exacto de la droga}} * 100$

Peso exacto de la droga

## **E. Diseño de la Investigación**

### 1. Tipo de investigación

Se realizó un estudio observacional de tipo descriptivo.

### 2. Muestra

Se realizó un muestreo por conveniencia de tres ejemplares de las especies *Piper hispidum*, *Piper umbellatum* y *Piper oradendron*, donde se recolectaron al azar cinco muestras en: “Ecoparcela El Kakawatal” ubicada en el cantón Chiguaxté, municipio de Samayac, departamento de Suchitepéquez, Guatemala. Para éste estudio se utilizaron muestras de hojas de las especies antes mencionadas.

### 3. Análisis de Resultados

#### a. Variables cualitativas

Se evaluaron características macroscópicas, donde se indicó el olor, sabor, color y aspecto del material fresco y seco, microscópicamente se indicó la ausencia o presencia de metabolitos secundarios en el análisis químico del material vegetal, realizando cinco réplicas de cada análisis.

#### b. Variables cuantitativas

Se realizaron cinco réplicas de las variables cuantitativas (cenizas totales y porcentaje de humedad), estableciendo medidas de tendencia central, media, mediana, desviación estándar y rango.

Los resultados se analizaron en forma descriptiva para cada planta, reportándose en tablas y fotografías con las características anatomorfológicas e histoquímicas halladas.



## VIII. RESULTADOS

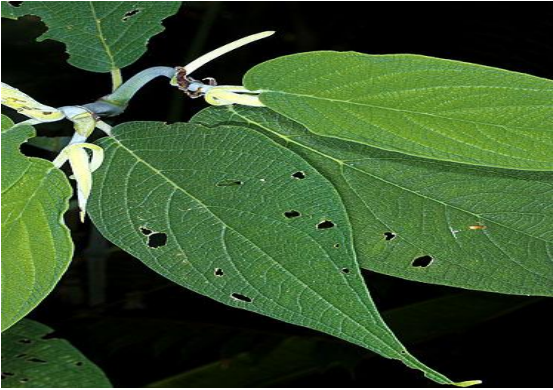
### A. *Piper hispidum* Swartz.

#### 1. Descripción botánica

La descripción botánica coincide con lo reportado en la Flora de Guatemala. Arbustos profusamente ramificados de 1-4 m de alto. Hojas pinnatinervias, asimétricas, elíptico-ovadas, ovadas o ampliamente ovadas, con ápice acuminado, base inequilátera, estas son de consistencia flexible, el color del haz es verde oscuro y poco lustroso, áspero al tacto, con un indumento hirsuto en toda la superficie. Presenta un sabor picante y olor cítrico. Inflorescencias erectas en todos los estadios, blanco-amarillentas en la antesis, verde pálidas en fruto, densamente agrupadas en el raquis formando bandas alrededor de la espiga. Frutos ovoides, 0.6-0.8 mm de largo, comprimidos lateralmente, apicalmente obtusos, estrigosos, granulados, café oscuros cuando secos. Presenta un olor cítrico y su sabor es picante (Fotografía 1).

#### 2. Descripción de droga seca

La droga seca se torna café-verduzco, quebradiza, rugosa, hispida en el haz y se fragmenta con facilidad, su olor es especiado y sabor ligeramente picante (Fotografía 2). Se preparó e identificó el ejemplar de herbario, el cual fue depositado en el Herbario Biología Guatemala (BIGU), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala con el número 065896 (Anexo 1).



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 1. Material vegetal fresco de *P. hispidum* Swartz.



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 2. Material vegetal seco de *P. hispidum* Swartz.

### 3. Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificar la droga cruda de *Piper hispidum* Swartz.

#### a. Diafanizado de la hoja de *Piper hispidum* Swartz.

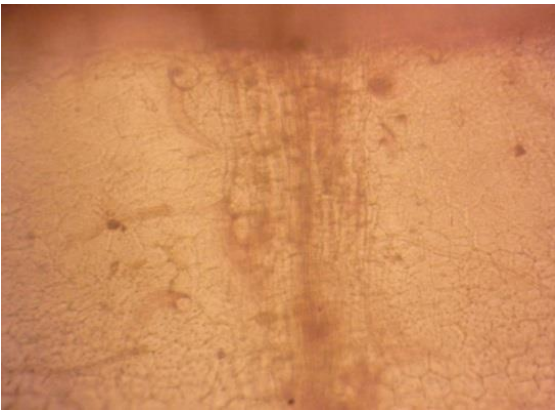
En el diafanizado en vista superficial se observan las células de la epidermis adaxial, uniestratificada con células cúbicas y rectangulares con márgenes levemente ondulados y algunas isodiamétricas; el contorno es rectilíneo a levemente ondulado, también se observa la epidermis abaxial y el xilema de tipo helicoidal (Fotografías 3-5). El mesófilo es dorsiventral y bifacial, hipoestomática, se observa el parénquima en empalizada uniestratificado de células alargadas, levemente sigmoides a rectilíneas. El parénquima esponjoso está formado por células isodiamétricas de disposición espacial levemente desordenada pero con pocos espacios intercelulares (Fotografías 6-8).

#### b. Estructuras micromorfológicas de *Piper hispidum* Swartz.

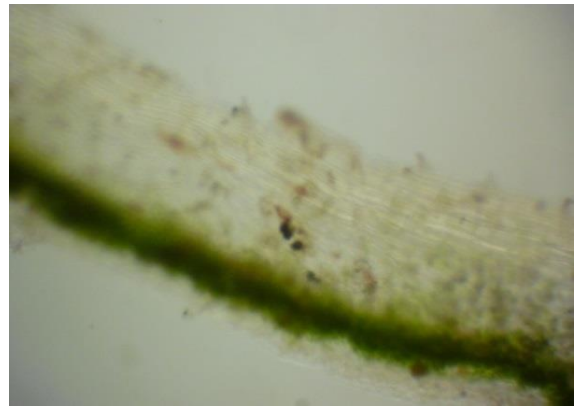
El haz vascular es de dos a cuatro, dispuestos en semi-luna, el cual está cubierto por una capa esclerenquimática discontinua y bastante delgada. A nivel de la vena media hay una capa de colénquima angular muy poco desarrollado tanto en la región adaxial como en la abaxial (Fotografías 9-11).

Se observan cristales aciculares (Fotografía 12). Los estomas en la epidermis abaxial son tetracíticos y anisocíticos en menor cantidad (Fotografías 13-15).

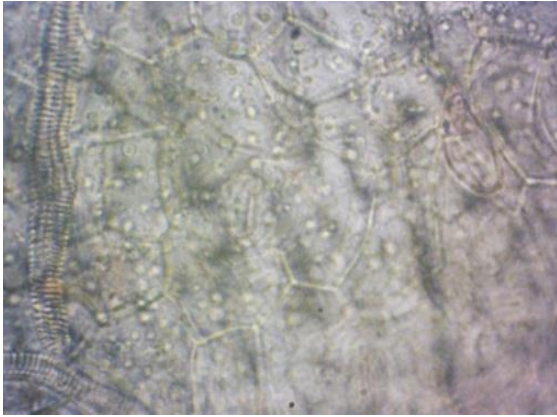
Posee cuatro tipos de pelos: pluricelular corto, el cual es recto, pie ancho, forma cónica, ápice agudo; pluricelular largo, el cual es recto, ápice agudo, glandulares y unicelular los cuales presentan un pie una porción secretora unicelular de forma ovoide, insertas entre células epidérmicas dispuestas en roseta. El pelo pluricelular largo está presente únicamente en la vena central cerca del mesófilo. Los pelos pluricelulares cortos y unicelulares cortos están presentes en toda la superficie, principalmente entre las venas; ya que en éstas son muy escasos. Los pelos glandulares están presentes en toda la superficie de la lámina. En la cara abaxial también se observan pelos pluricelulares cortos, pelos glandulares y pelos pluricelulares largos, que son adpresos a la lámina, ápice agudo. Los tricomas tectores pluricelulares largos y adpresos están presentes únicamente en las venas (Fotografías 16-23).



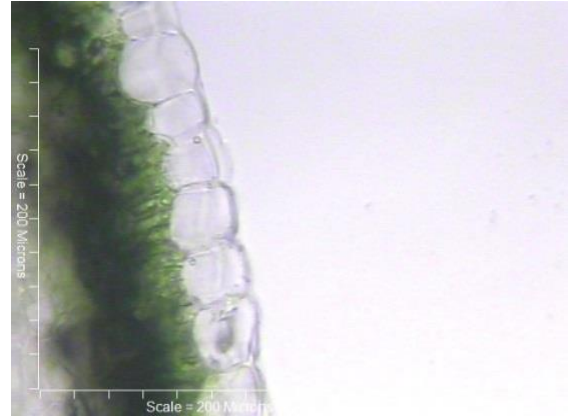
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 3. Epidermis adaxial  
400x. Diafanizado



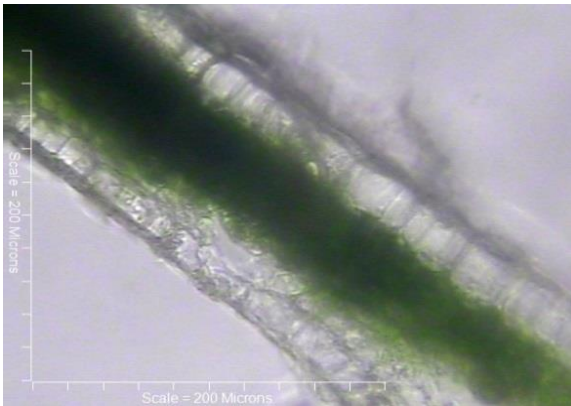
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 4. Epidermis abaxial  
400x. Tinción: Lugol



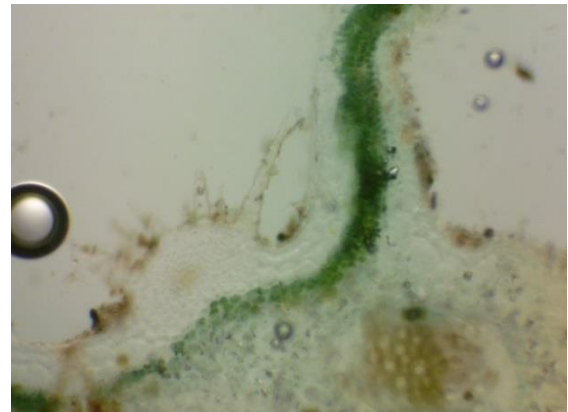
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 5. Disociado débil de hoja  
 Xilema helicoidal  
 400x. Tinción: Safranina



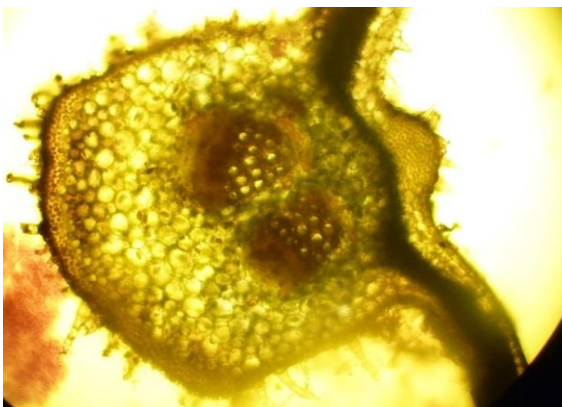
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 6 Parénquima en empalizada  
 Epidermis superior. 400x. Tinción: Sulfato férrico



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 7. Hoja: Parénquima en empalizada;  
 Epidermis superior; Epidermis inferior  
 400x. Tinción: Sulfato férrico



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 8. Parénquima esponjoso,  
 Pocos espacios intercelulare  
 400x. Tinción: Lugol

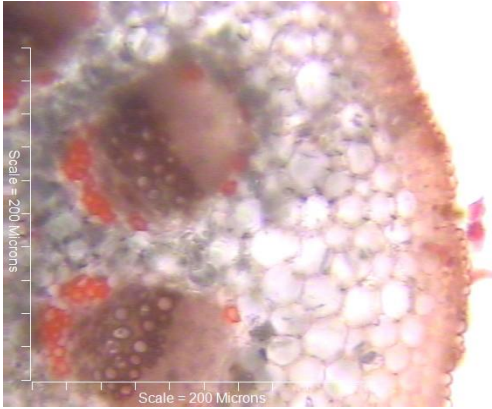


Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 9. Corte transversal nervio central;  
 Dos haces vasculares  
 400x. Tinción: Dragendorff

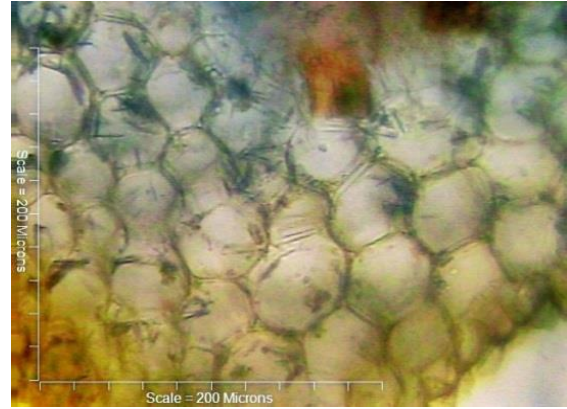


Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 10. Corte transversal nervio central;  
 Cuatro haces vasculares  
 400x. Tinción: Dragendorff

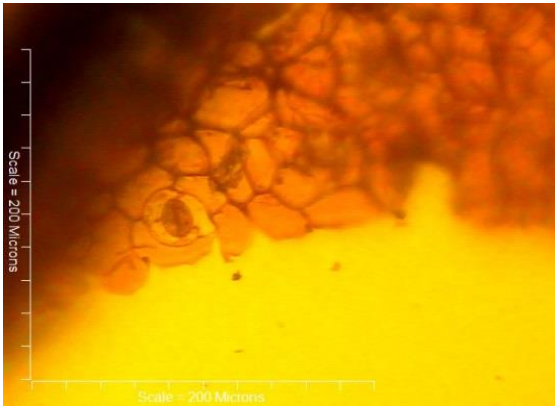




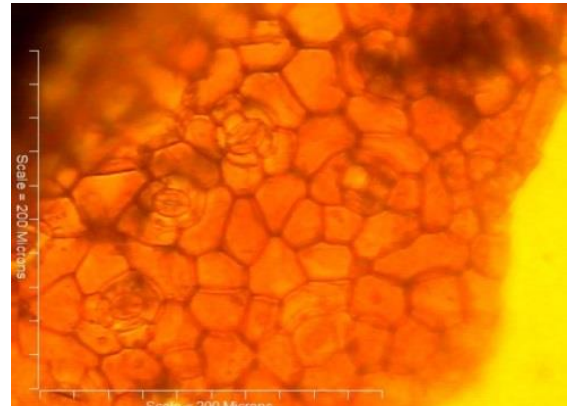
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 11. Esclerénquima  
 400x. Tinción: Safranina



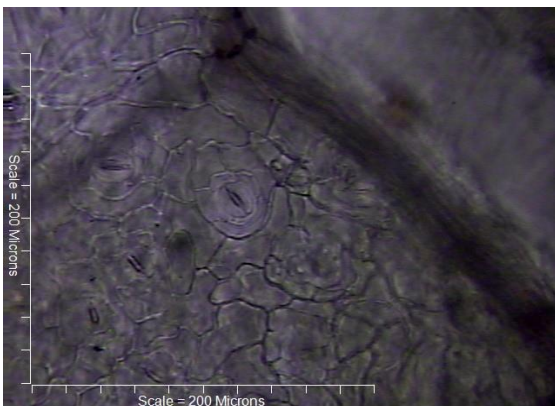
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 12. Cristales aciculares en forma de  
 rafidios; 400X. Tinción: Sulfato férrico



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 13. Estoma tetracítico  
 400x. Tinción: Safranina



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 14. Estomas anisocíticos  
 400x. Tinción: Safranina



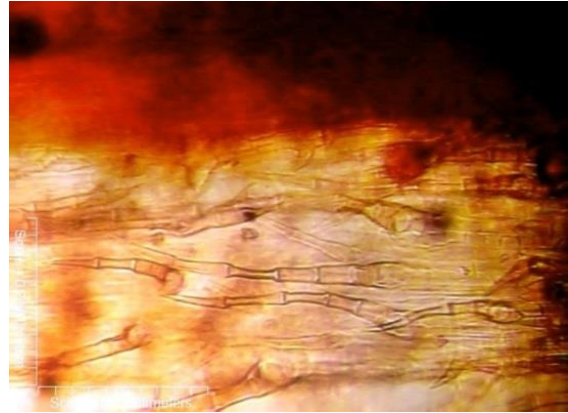
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 15. Diafanizado, Estomas  
 400x. Tinción: Safranina



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 16. Pelos adpresos  
 400x. Diafanizado



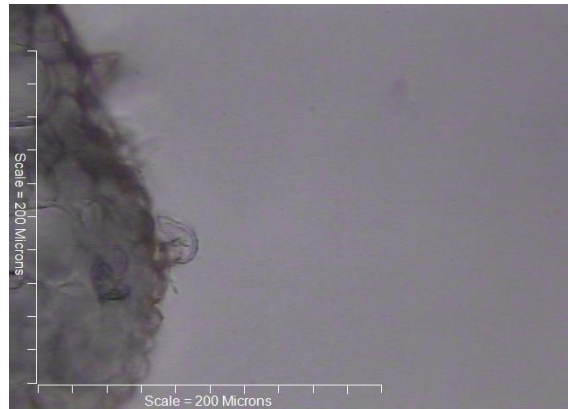
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 17. Disociado débil Pelo pluricelular corto. 400x. Tinción: Safranina



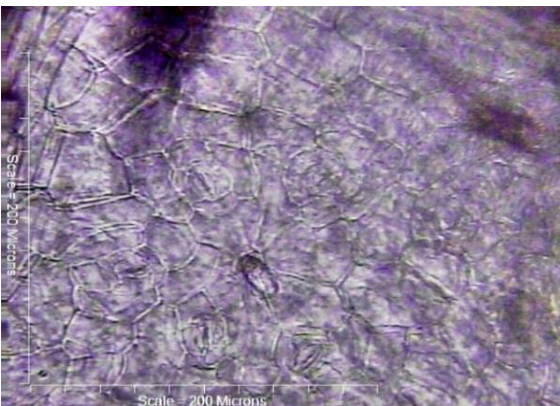
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 18. Disociado débil; Pelos pluricelulares largos 400x. Tinción: Safranina



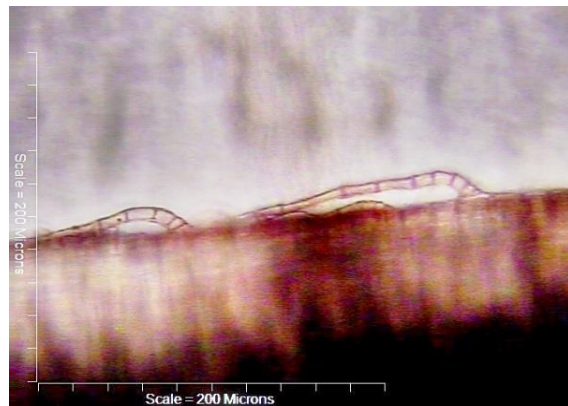
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 19. Pelo glandular 400x. Tinción: Lugol



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 20. Disociado débil; Pelo unicelular 400x. Tinción: Safranina

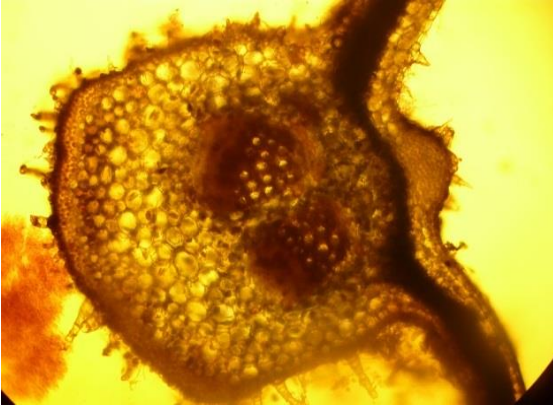


Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 21. Base en roseta de pelo glandular 400x. Diafanizado



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 22. Disociado débil; Pelo unicelular 400x. Tinción: Safranina



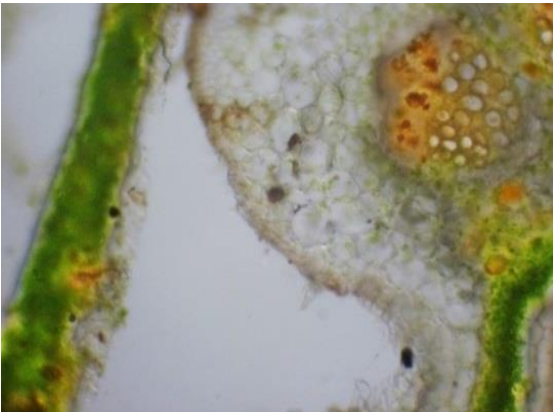


Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 23. Corte transversal nervio central;  
 Pelos pluricelulares, unicelulares largos y cortos  
 400x. Tinción: Dragendorff

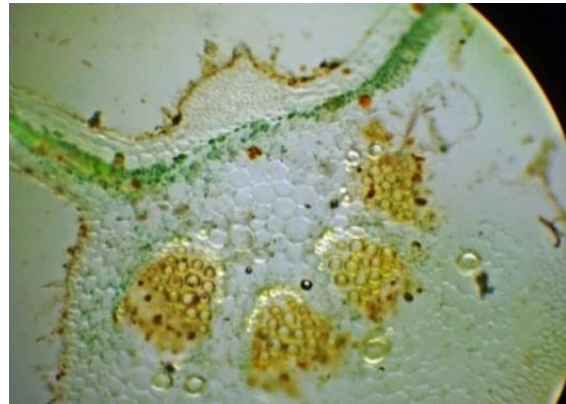
#### 4. Tamizaje histoquímico de *Piper hispidum* Swartz.

Mostró reacción positiva para almidón, aceites esenciales y alcaloides (Fotografías 24-26).

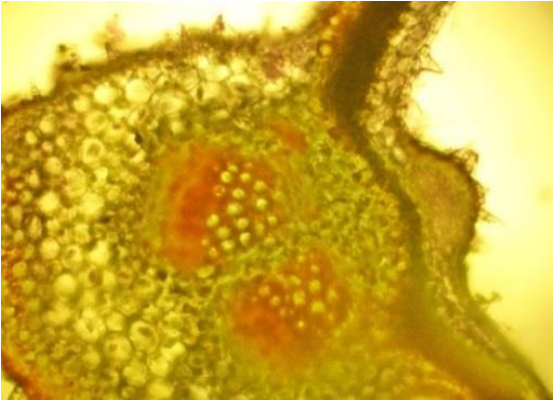
En la hoja la reacción resultó negativa tanto para taninos como para mucílagos (Fotografías 27 y 28).



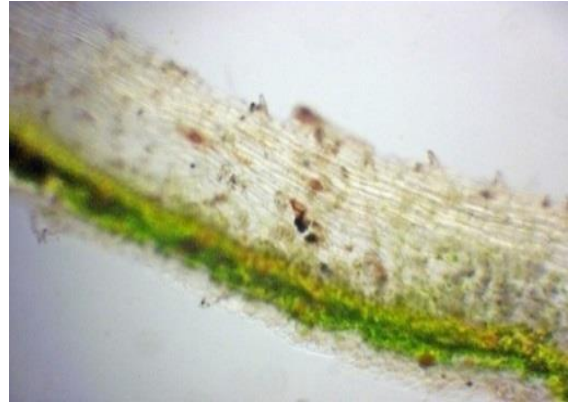
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 24. Presencia de almidones y  
 aceites esenciales  
 400x. Tinción: Lugol



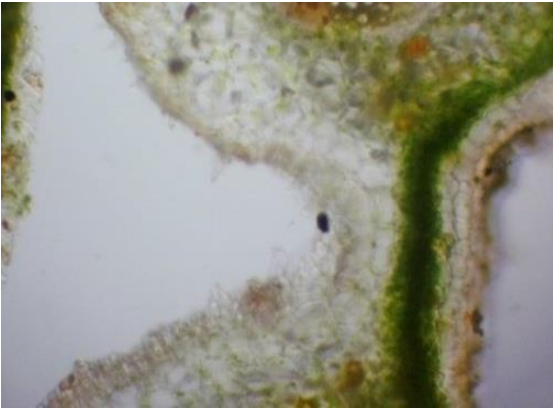
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 25. Presencia de aceites esenciales  
 400x. Tinción: Azul de cresil brillante



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 26. Presencia alcaloides en nervio central 400x. Tinción: Dragendorff



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 27. Mucilagos negativo 400x. Tinción: Azul de Cresil brillante



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 28. Taninos negativo 400x. Tinción: Tinción sulfato férrico

## **B. *Piper oradendron* Trel. & Standl.**

### 1. Descripción botánica

Arbusto de 1-2.5 m de alto. Ramas delgadas, densamente hispidulosas con pelos cortos. Hojas delgadas, usualmente verdes, lustrosas, ovadas u ovado-elípticas, principalmente 13-18 cm de largo y 6-9 cm de ancho, abruptamente acuminadas o largamente acuminadas, oblicuas y conspicuamente desiguales en la base, glabras o casi glabras, usualmente muy suaves al tacto, esparcidamente estrigilosas en el envés, suaves al tacto, peninervias. Inflorescencias delgadas de 5-6 cm de largo y 2 mm de diámetro, obtusas (Fotografía 29).



El tipo de venación de la lámina, basado en el modelo de Hickey (1973), es camptódromo-broquidódromo. Olor levemente cítrico y sabor escasamente salado.

## 2. Descripción de droga seca

La droga seca se torna verde oscuro, quebradiza, levemente rugosa, y se fragmenta con facilidad, tiene un olor especiado y sabor a menta (Fotografía 30). Se preparó e identificó el ejemplar de herbario, el cual fue depositado en el Herbario Biología Guatemala (BIGU), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala con el número 065897 (Anexo 2).



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 29. Material vegetal fresco de *P. oradendron* Trel. & Standl.



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 30. Material vegetal seco de *P. oradendron* Trel. & Standl.

## 3. Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificar la droga cruda de *Piper oradendron* Trel. & Standl.

### a. Diafanizado de la hoja de *Piper oradendron* Trel. & Standl.

Las células epidérmicas, en vista superficial, tienen diversidad de formas y tamaños con contornos ondulados, la cutícula es gruesa y lisa, la epidermis adaxial uniestratificada es muy delgada y está conformada por células cúbicas con márgenes rectilíneos (Fotografía 31). La lámina foliar es hipoestomática. El mesófilo dorsiventral y bifacial es delgado, donde se observa un parénquima en empalizada uniestratificado de células largas, delgadas

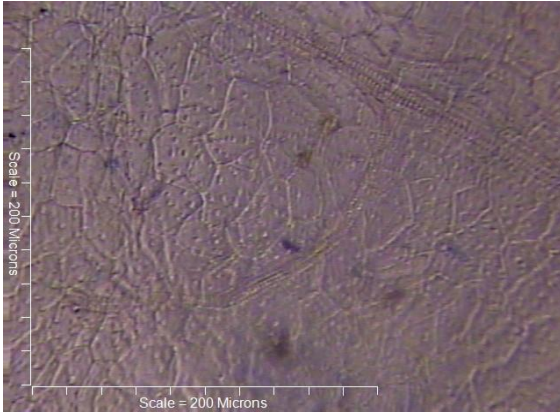
rectilíneas a escasamente onduladas. El parénquima esponjoso está formado por células isodiamétricas de disposición irregular. En la región de la vena central, se observa colénquima de tipo angular y xilema tipo helicoidal (Fotografías 32-34).

b. Estructuras micromorfológicas de *Piper oradendron* Trel. & Standl.

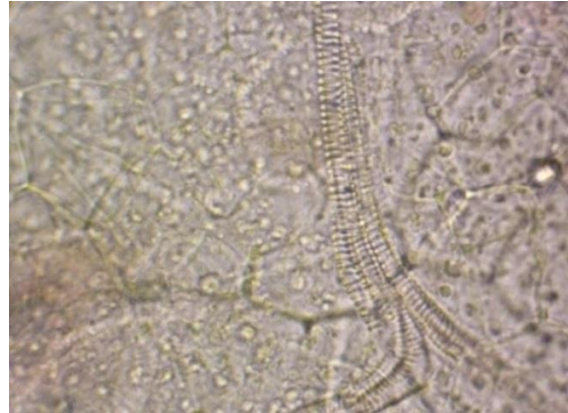
En corte transversal se pueden observar de tres a cuatro haces vasculares de tipo colateral y cristales aciculares (Fotografías 35-37). También se observan estomas anomocíticos, anisocíticos, tatracíticos y ciclocíticos (Fotografías 38-40).

En la epidermis adaxial se observan tres tipos de pelos: pluricelular largo, el cual es recto, ápice agudo; pluricelular corto, el cual es recto, pie ancho, forma cónica, ápice agudo, y unicelular corto, el cual es recto, pie ancho, forma cónica, ápice agudo. Los tres tipos de pelos son observados en toda la superficie de la lámina. Los pelos pluricelulares largos y rectos están presentes en la vena central cerca del mesófilo, los pelos pluricelulares largos y adpresos están presentes en vena central. El resto de pelos están presentes en toda la superficie de la lámina (Fotografías 41-47)).

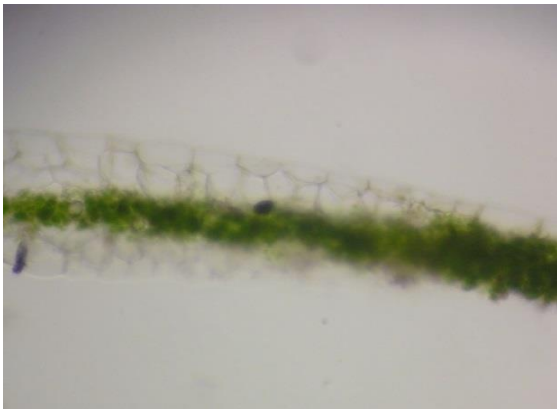
En la epidermis abaxial se observan los tres tipos observados en la región adaxial y otros dos más los cuales son: pelo pluricelular largo, el cual es adpreso, ápice agudo y glandular, los cuales presentan un pedúnculo y una porción secretora unicelular de forma ovoide, insertas entre células epidérmicas dispuestas en roseta.



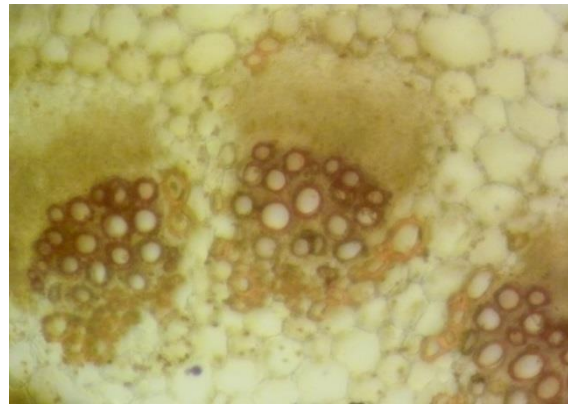
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 31. Epidermis adaxial  
400x. Diafanizado



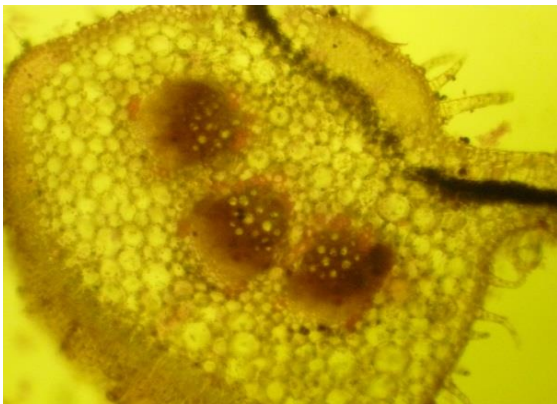
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 32. Xilema helicoidal  
400x. Diafanizado



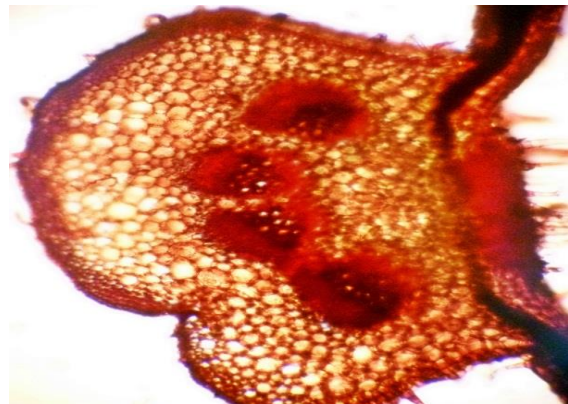
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 33. Parénquima  
400x. Tinción: Lugol



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 34. Colénquima angular  
400x. Tinción: Floroglusina

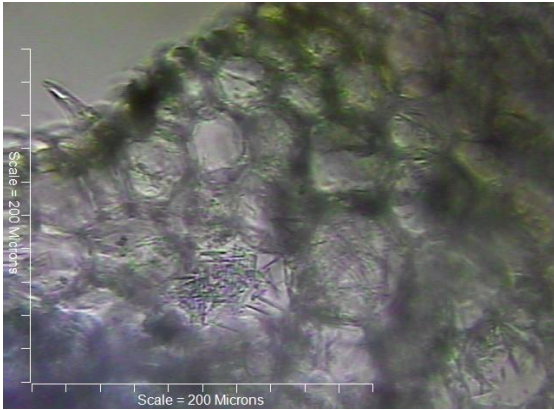


Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 35. Tres haces vasculares  
400x. Tinción: Dragendorff

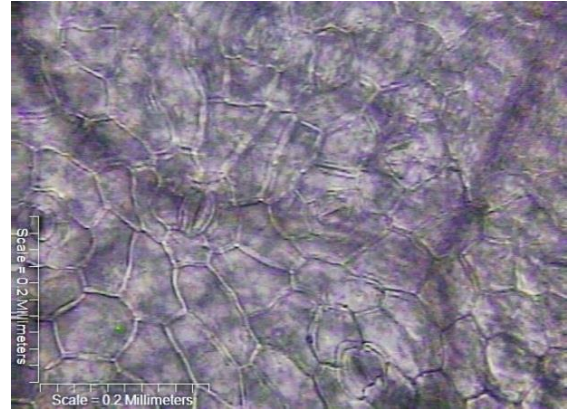


Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 36. Cuatro haces vasculares  
400x. Tinción: Safranina

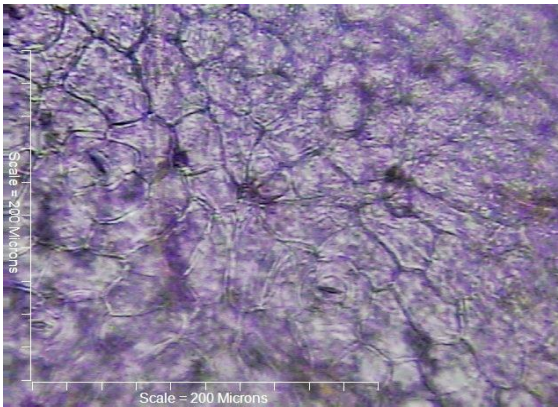




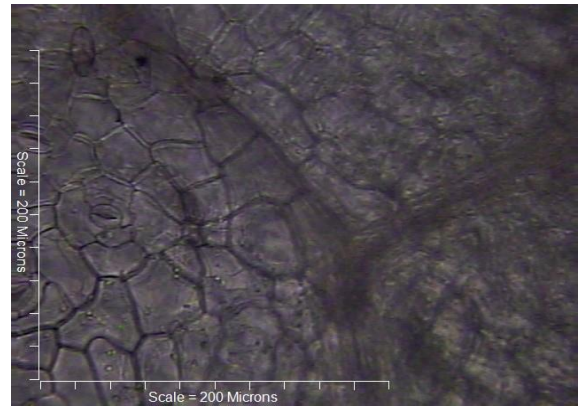
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 37. Cristales aciculares  
 400x. Tinción: Sulfato férrico



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 38. Estomas anomocíticos y  
 anisocíticos. 400x. Diafanizado



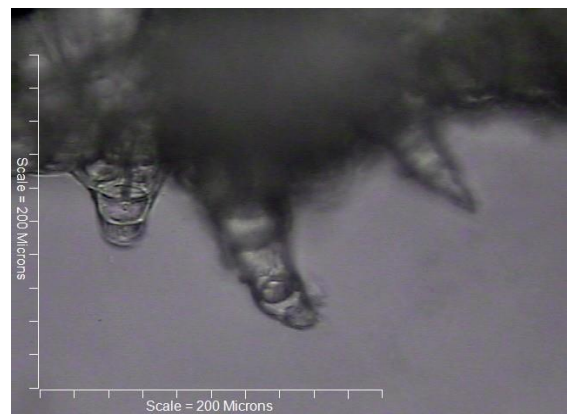
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 39. Estomas tetracíclicos  
 400x. Diafanizado



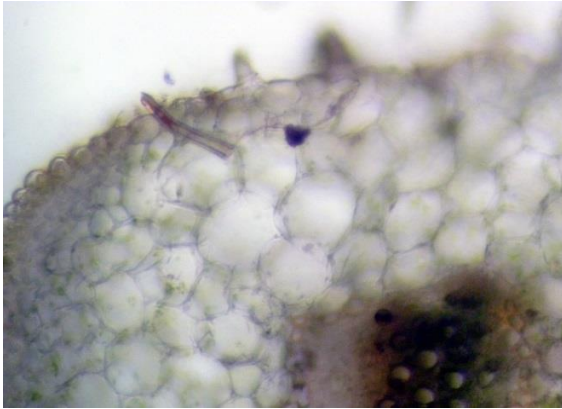
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 40. Estomas ciclocíclicos  
 400x. Tinción: Sulfato férrico



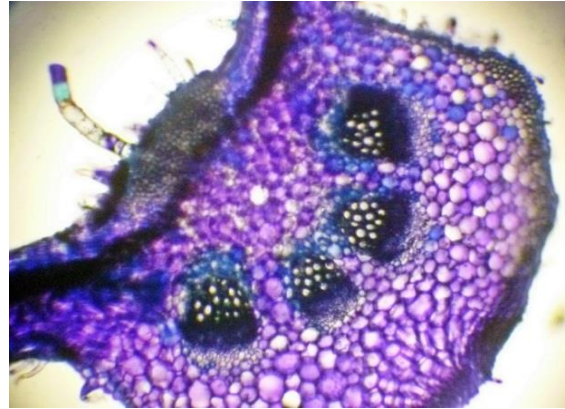
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 41. Pelos pluricelulares largos  
 400x. Tinción: Safranina



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 42. Pelos pluricelulares cortos  
 400x. Tinción: Sulfato férrico



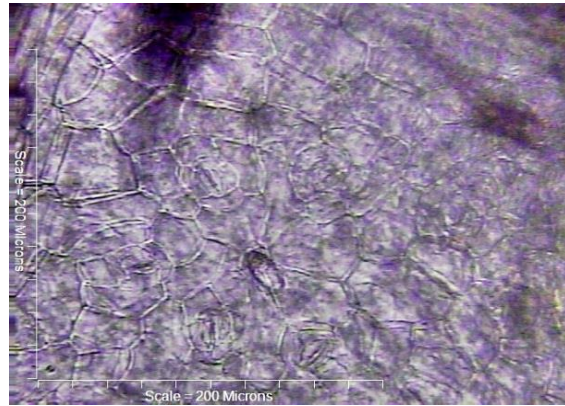
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 43. Pelos unicelulares  
 400x. Tinción: Sulfato férrico



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 44. Pelos pluricelulares largos en  
 nervio medio. 400x. Azul de cresil brillante



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 45. Pelos pluricelulares largos y  
 adpresos. 400x. Diafanizado



Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 46. Pelo glandular con base en roseta.  
 400x. Diafanizado

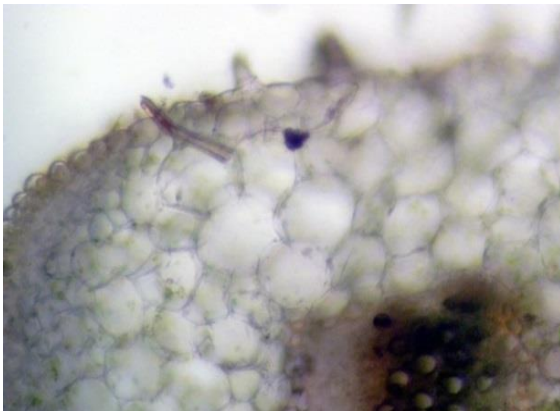


Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 47. Pelo glandular pluricelular  
 400x. Diafanizado

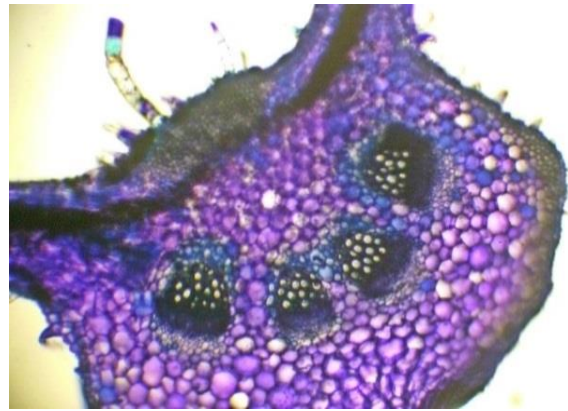


#### 4. Tamizaje histoquímico de *Piper oradendron* Trel. & Standl.

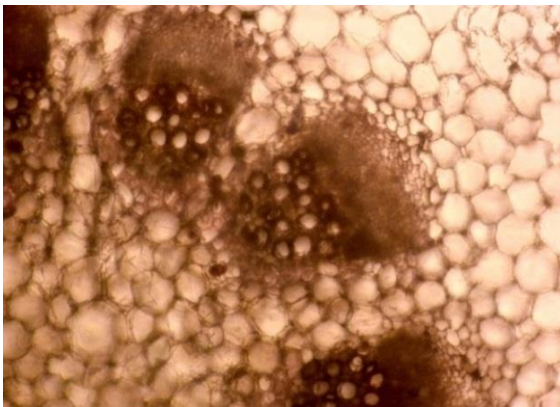
Presentó reacción positiva para almidones en la epidermis (Fotografía 48), mucílagos en xilema y floema (Fotografía 49), alcaloides en epidermis (Fotografía 50), aceites esenciales (Fotografía 51), presencia de lignina (Fotografía 52), saponinas (Fotografía 53) y taninos en parénquima de nervadura central (Fotografía 54).



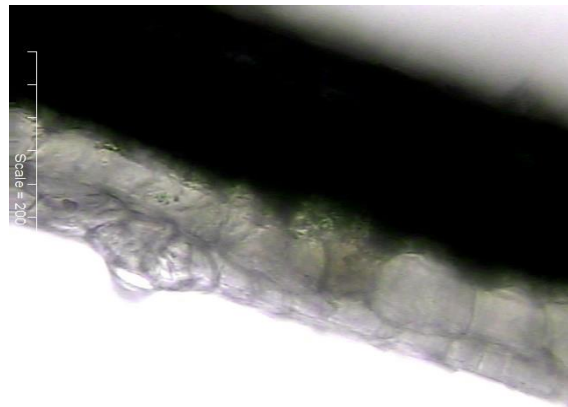
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 48. Presencia de almidones  
400x. Tinción: Lugol



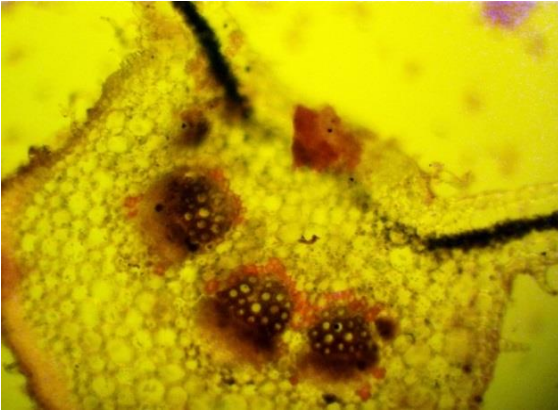
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 49. Presencia de mucílagos  
400x. Tinción: Azul de cresil brillante



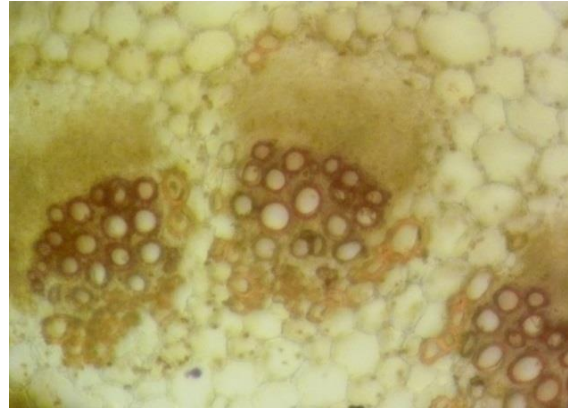
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 50. Presencia de alcaloides  
400x. Tinción: Dragendorff



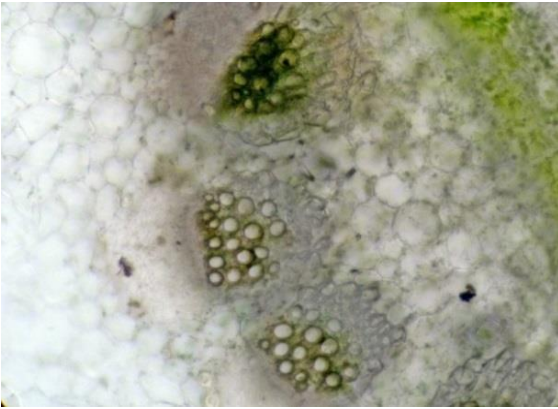
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 51. Glándula de aceite esencial  
400x. Tinción: Sulfato férrico



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 52. Presencia de lignina  
400x. Tinción: Floroglucina



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 53. Presencia de saponinas  
400x. Tinción: Ácido clorhídrico concentrado



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 54. Taninos en escasa presencia  
400x. Tinción: Tinción sulfato férrico

### ***C. Piper umbellatum L.***

#### 1. Descripción botánica

Plantas erectas, de tallos, pecíolos y hojas carnosas, herbáceas, frecuentemente algo leñosas. Hojas palmatinervias, grandes, delgadas, flácidas, ovado-orbiculares, principalmente 20-30 cm de largo e igualmente anchas o incluso un poco mayor, agudas o abruptamente corto agudas en el ápice, profunda y estrechamente cordadas en la base, verde en la haz, glabro. Inflorescencias cortamente pedunculadas, umbeladas, estambres

dos, estigmas tres, estilos ausentes, recurvados. Frutos pequeños (Standley & Steyermark, 1952), presenta un olor levemente cítrico y sabor picante y salado (Fotografía 55).

## 2. Descripción de droga seca

La droga seca se torna café verduzca, quebradiza y fácil de fragmentar (Fotografía 56), de olor dulce y sabor ligeramente amargo. Se preparó e identificó el ejemplar de herbario, el cual fue depositado en el Herbario Biología Guatemala (BIGU), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala con el número 065894 (Anexo 3).



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 55. Material vegetal fresco de *P. umbellatum* L.



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 56. Material vegetal seco de *P. umbellatum* L.

## 3. Caracteres micromorfológicos e histológicos para identificar la droga cruda de *Piper umbellatum* L.

### a. Diafanizado de la hoja de *Piper umbellatum* L.

La lámina foliar es hipoestomática. En vista superficial las células de la epidermis adaxial son poligonales y de contorno levemente ondulado (Fotografía 57). Además, se observan grandes espacios celulares, rodeadas de células epidérmicas dispuestas en roseta (Fotografía 58). Las células epidérmicas son cúbicas y levemente grandes (Fotografía 59).



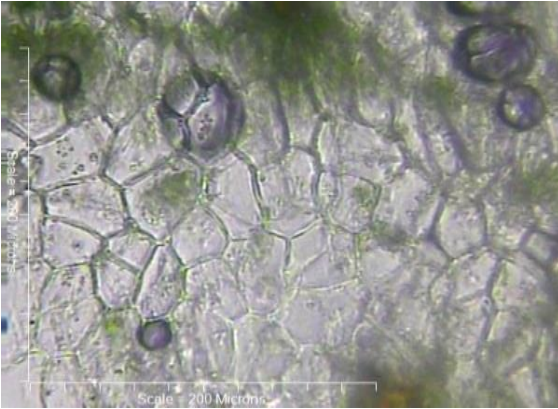
El mesófilo dorsiventral y bifacial posee un parénquima en empalizada uniestratificado, de células largas, delgadas, rectilíneas a escasamente onduladas y un parénquima esponjoso de disposición uniforme, de células isodiamétricas (Fotografía 60 y 61). En la región de la vena central, cara adaxial y cara abaxial se observa colénquima angular. (Fotografía 62).

b. Estructuras micromorfológicas de *Piper umbellatum* L.

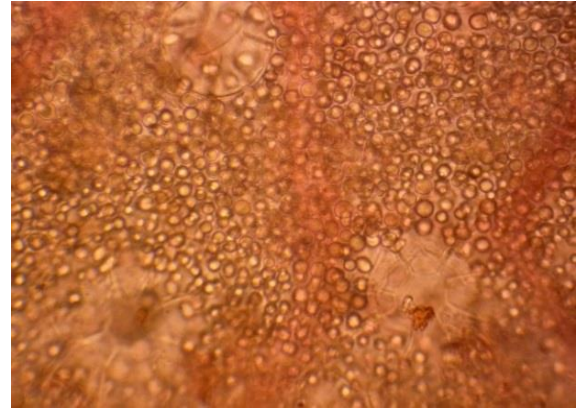
En corte transversal se observa el haz vascular de tipo colateral, con un haz solamente. La vaina de esclerénquima que envuelve a la vena central es discontinua, es más gruesa en la región del xilema (Fotografía 63). Se observan abundantes cristales de oxalatos de calcio en forma de rafidios en el mesófilo (Fotografía 64). Los estomas presentes en la lámina son tetracíticos, ciclocíticos y anomocíticos (Fotografía 65).

En el corte transversal se observan dos tipos de pelos: unicelulares largos y pluricelulares largos (Fotografía 66). La vena central es prominente y se va cerrando hacia el ápice. Estos nervios se subdividen en venas secundarias perpendiculares con respecto a éstas. Estas venas secundarias están levemente arqueada. Los pelos unicelulares y pluricelulares están presentes en toda la superficie de la lámina. El segundo es más abundante en las venas y muy escasos entre éstas. El primero es más abundante que el segundo y está distribuido casi uniformemente en toda la superficie (Fotografías 67 y 68).

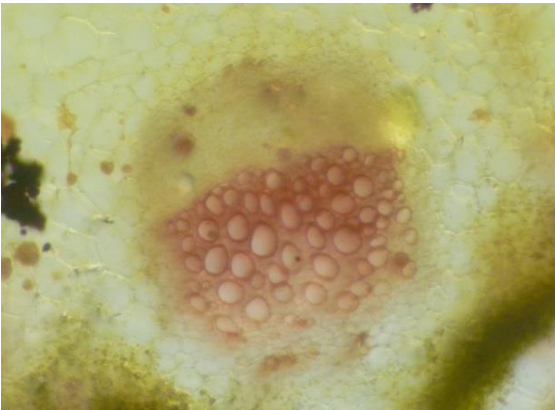
En la epidermis abaxial se observan los dos tipos de pelos descritos para la región adaxial y también pelos glandulares, los cuales presentan un pedúnculo y una porción secretora unicelular de forma ovoide, insertas entre células epidérmicas dispuestas en roseta cuyo número varía (Fotografía 69). Los tres tipos de pelos están presentes en toda la superficie de la lámina.



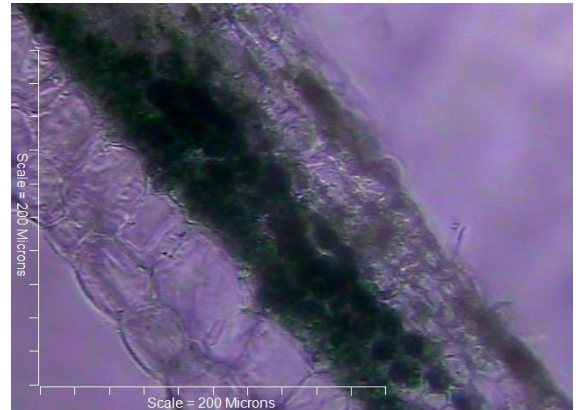
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 57. Células epidérmicas adaxiales  
 400x. Tinción: Tinción sulfato férrico



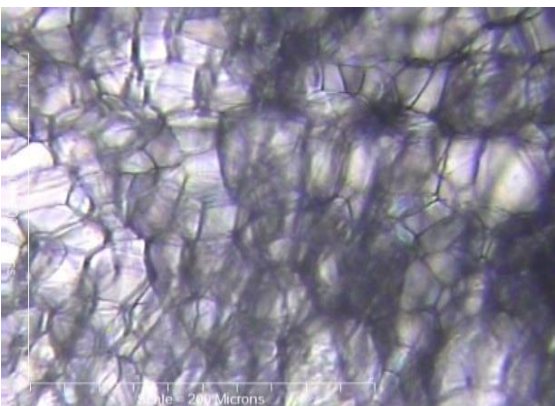
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 58. Células epidérmicas dispuestas en roseta; 400x. Tinción: Diafanizado



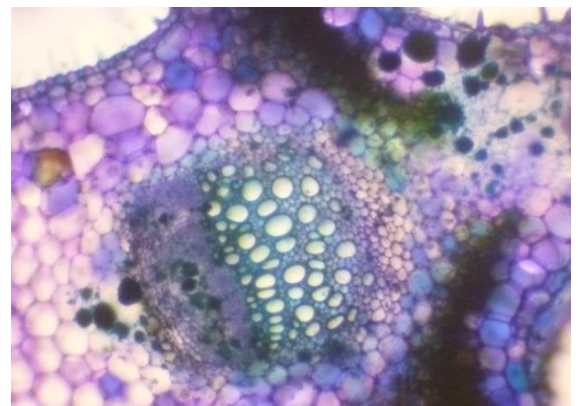
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 59. Células epidérmicas  
 400x. Tinción: Floroglucina



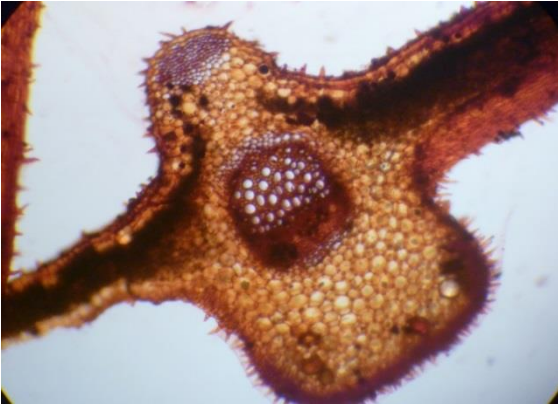
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 60. Parénquima empalizada y esponjoso. 400x. Tinción: Sulfato férrico



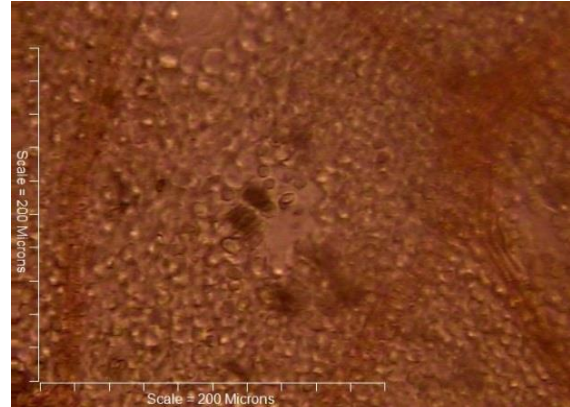
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 61. Células parenquimáticas  
 400x. Tinción: Tinción sulfato férrico



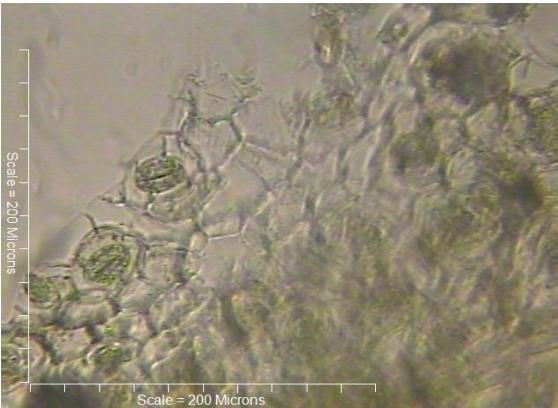
Fuente: Datos experimentales  
 Fotografía 62. Colénquima angular  
 400x. Tinción: Azul de cresil



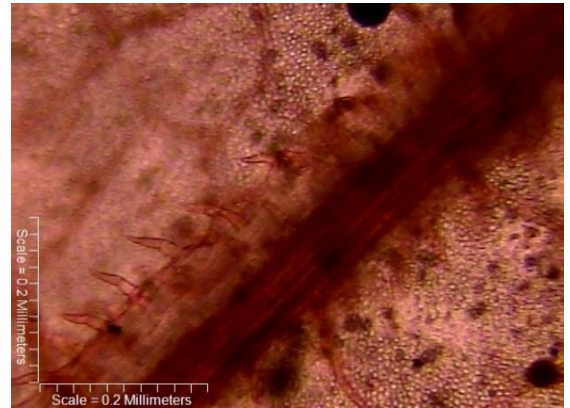
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 63. Haz vascular único  
400x. Tinción: Safranina



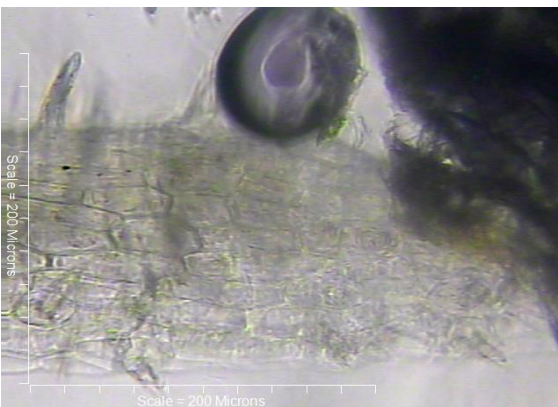
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 64. *P. umbellatum*: Cristales rafidos;  
400x. Tinción: Diafanizado



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 65. Estomas tetracíticos y ciclocíticos  
400x. Tinción: Lámina en fresco



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 66. *P. umbellatum*; Pelos pluricelulares  
y unicelulares en nervadura (adpresos)  
400x. Tinción: Safranina

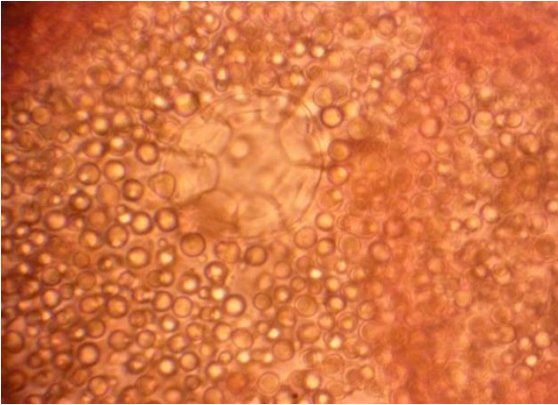


Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 67. Pelos pluricelulares y unicelulares  
en venas secundarias  
400x. Tinción: Sulfato férrico



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 68. Pelos cortos y glandulares en la  
superficie de la lámina  
400x. Tinción: Dragendorff

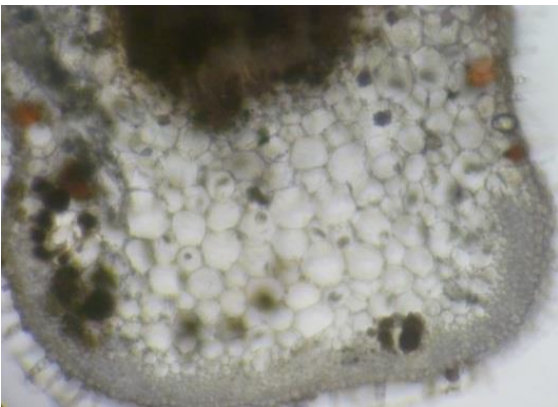




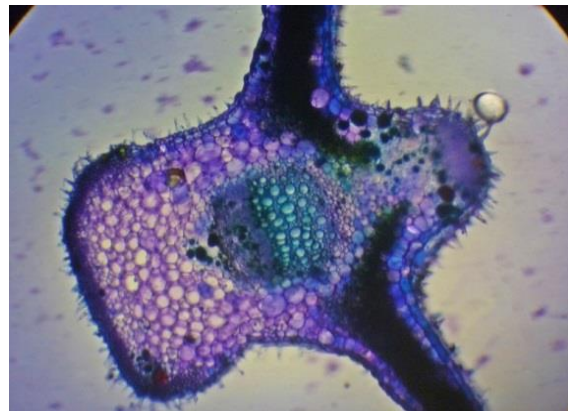
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 69. Base en roseta de pelos en superficie.  
400x. Diafanizado

#### 4. Tamizaje histoquímico de *Piper umbellatum* L.

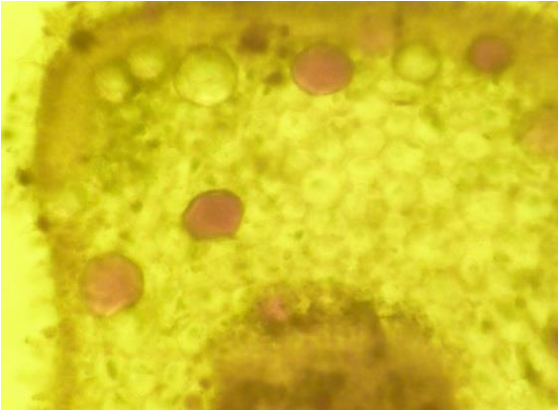
La prueba para almidones resultó positiva aunque en escasa cantidad (Fotografía 70), al igual que la prueba de mucílagos (Fotografía 71), también hay presencia de alcaloides (Fotografía 72), aceites esenciales (Fotografía 73), saponinas (Fotografía 74), lignina (Fotografía 75), la reacción resultó negativa para taninos (Fotografía 76).



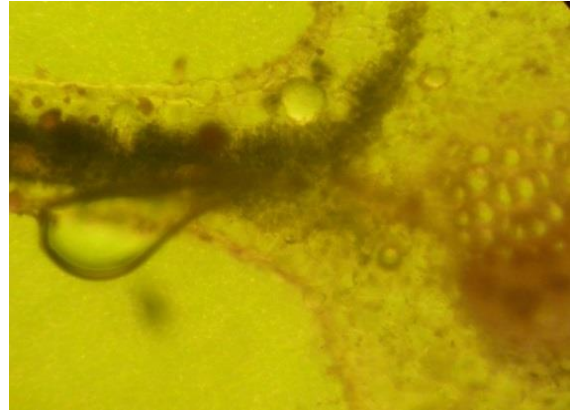
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 70. Presencia de almidones  
400x. Tinción: Lugol



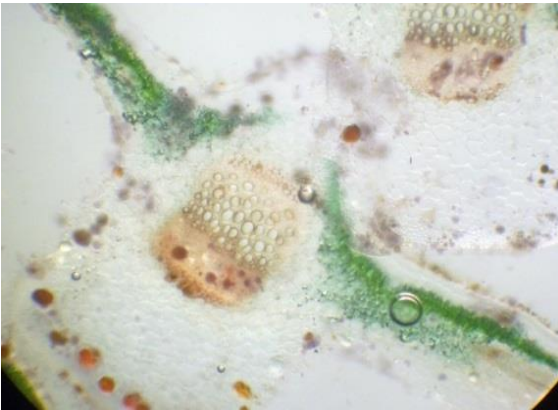
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 71. Presencia de Mucílagos  
400x. Tinción: Azul de cresil brillante



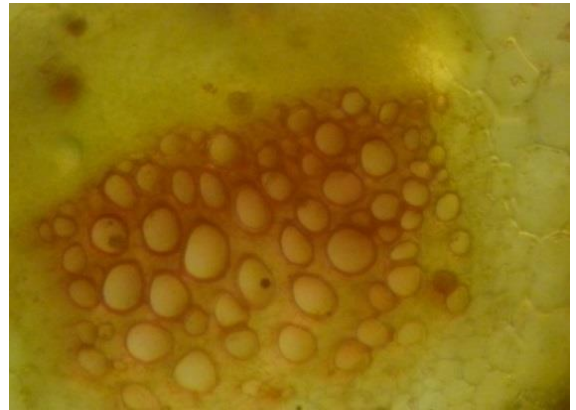
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 72. Presencia de alcaloides  
400x. Tinción: Dragendorff



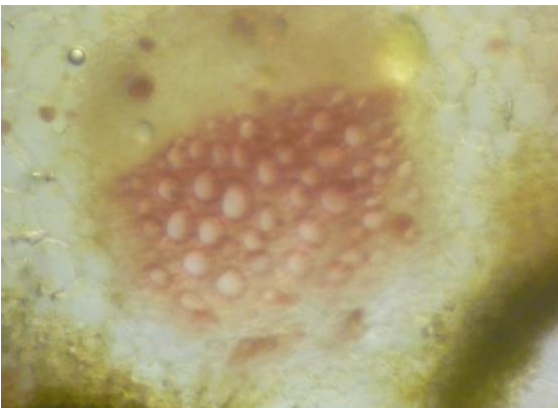
Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 73. Presencia de aceites esenciales  
400x. Tinción: Sudan IV



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 74. Presencia de saponinas  
400x. Tinción: Ácido sulfúrico concentrado



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 75. Presencia de lignina  
400x. Tinción: Floroglucina



Fuente: Datos experimentales  
Fotografía 76. Taninos negativos  
400x. Tinción: Tinción sulfato férrico

**Cuadro 1.** Resumen de las características microquímicas más importantes de tres plantas de uso medicinal en Guatemala

Planta	<i>Piper hispidum</i> Swartz.	<i>Piper oradendron</i> Trel. & Standl.	<i>Piper umbellatum</i> L.
Taninos	-	-	-
Mucilagos	-	+	+
Almidones	+	+	+
Alcaloides	+	+	+
Saponinas	+	+	+
Lignina	+	+	+
Grasas y Aceites	+	+	+

Fuente: Datos experimentales

+: Positivo

-: Negativo

**Cuadro 2.** Determinación de humedad del material botánico en estudio.

Datos de porcentaje de humedad del material botánico

	<i>Piper hispidum</i> Swartz.	<i>Piper oradendron</i> Trel. & Standl.	<i>Piper umbellatum</i> L.
Tiempo de secado (Horas)	56	56	56
Peso (gr)	8.55	7.35	7.10
% Humedad	8.70	8.15	7.41
Límite autorizado*	≤10%	≤10%	≤10%

\* World Health Organization. Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials, World Health Organization, Geneva, Switzerland; 1998. Disponible en <http://www.who.org>

**Cuadro 3.** Determinación de Porcentaje de Cenizas Totales (CT)<sup>1</sup> de las muestras.

	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5	Media ± **SD	Mediana	Rango establecido
<i>Piper hispidum</i> Swartz.	12.75	14.24	14.35	13.80	13.25	13.68±0.72	13.80	12.75-14.35
<i>Piper oradendron</i> Trel. & Standl.	13.13	14.80	14.74	14.22	13.40	14.06±0.68	14.22	13.13-14.80
<i>Piper umbellatum</i> L.	1.17	1.34	1.23	1.25	1.28	1.25±0.06	1.25	1.17-1.34

\*Límite autorizado de cenizas totales  $\leq 10\%$

\* World Health Organization.

\*\*Desviación estándar

<sup>1</sup> Cenizas totales

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para alcanzar el objetivo general del presente estudio, el de establecer caracteres farmacobotánicos de tres piperáceas de uso medicinal en Guatemala: *P. hispidum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum*, se realizaron cortes transversales de hoja donde se identificaron glándulas de aceite, distintos tipos de pelos los cuales fueron: pluricelular largo, adpreso, corto, unicelular corto, largo y glandulares, los cuales pueden cumplir funciones protectoras en la planta o en el caso de los pelos glandulares secretar diferentes metabolitos secundarios, como aceites esenciales, característicos de cada especie.

A nivel macroscópico las hojas (frescas) de *P. hispidum* son pinnatinervias, asimétricas, elíptico-ovadas, con ápice acuminado, consistencia flexible, el color del haz es verde oscuro y poco lustroso, áspero al tacto, con un indumento hirsuto en toda la superficie (Fotografía 1). El material seco aporta poca información para ser una característica específica de identificación (Fotografía 2).

En la epidermis adaxial podemos observar con la técnica de diafanizado y con tinción de lugol células de tipo poligonal, con xilema helicoidal (Fotografías 3-5), con mesófilo dorsiventral donde también se observa el parénquima en empalizada uniestratificado de células alargadas (fotografías 6 y 7), mientras que el parénquima esponjoso está formado por células levemente desordenadas y con pocos espacios intracelulares (Fotografía 8).

Otra característica de resaltar es que posee de dos a cuatro haces vasculares, dispuestos en semi-luna (Fotografías 9 y 10), los cuales pueden estar cubiertos por una capa esclerenquimática discontinua y bastante delgada (Fotografía 11).

En el disociado se observaron varios acúmulos de cristales aciculares, constituidos de oxalato de calcio, los cuales se agrupan en haces denominados rafidios (Fotografía 12); estos actúan como agujas, pinchando y lesionando las estructuras celulares del animal o insecto que ataca a la planta (Curtis, 1986).



En el material botánico de *P. hispidum* se determinó en el diafanizado que la nerviación de la hoja es abierta y reticulada (Nervios secundarios en la lámina foliar que forman un sistema anastomosado, pareciéndose el conjunto a una red). Los estomas son de tipo tetracíticos (cuatro células anexas), anisocíticos (tres células), ciclocíticos (numerosas células anexas) en el envés. (Fotografías 13-15). Éstos le sirven a la hoja de sistema respiratorio y su principal función es la fotosíntesis. El agua absorbida por la planta es liberada por los estomas a través de los procesos de difusión de la transpiración (Curtis, 1986).

Las características micromorfológicas de *P. hispidum* es que posee pelos pluricelulares largos y cortos, unicelulares largos, adpresos y cortos glandulares unicelulares en la hoja; los cuales actúan como barreras que dificultan el acceso o el movimiento de los insectos (Fotografías 16-23). Los pelos glandulares además, eliminan compuestos pegajosos que atrapan a los insectos o sustancias tóxicas que los irritan, matan o modifican su comportamiento (Curtis, 1986). Albiero, A. *et al.* (2006), encontraron los mismos pelos descritos en este estudio.

Otro objetivo era demostrar la presencia de metabolitos secundarios en cada una de las plantas en estudio ya que estas son especies que se utilizan para el uso medicinal y se caracterizan por la presencia de determinados compuestos de origen natural, los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas por lo que se consideró necesario evaluar la presencia de metabolitos secundarios específicos, que le confieran a las plantas en estudio, su actividad medicina, esto por medio del tamizaje histoquímico (Cuadro 1).

Se encontraron almidones en escasa cantidad en las células en empalizada de la hoja (Fotografía 24) aunque los almidones lo común es encontrarlos en tallo y raíz porque es un constituyente de la reserva energética y del tejido de sostén de las plantas que es muy difícil de digerir (Rodríguez, 2005; DuPont, M. *et al.* 1990).

El tamizaje histoquímico del material vegetal mostró aceites esenciales a lo largo de toda la nervadura central de la hoja en forma de depósitos (Fotografía 25). Los aceites esenciales

son el constituyente fundamental de los principios odoríferos de la planta, los cuales actúan como repelentes de insectos (Rodríguez, 2005; Curtis, 1986; DuPont, M. *et al.* 1990).

Presentó además alcaloides en hoja (Fotografía 26); metabolitos en forma de sales que regularmente se encuentran en las plantas combinados con los ácidos más simples de los vegetales y que le confieren a la planta su acción antibacteriana (Curtis, 1986; DuPont, M. *et al.* 1990).

Además se evidenció una reacción positiva para los mucílagos en la hoja (Fotografía 27), únicamente en las células del parénquima lo cual le confiere protección contra los microorganismos fitopatógenos y su capacidad de retención de agua (Rodríguez, 2005; DuPont, M. *et al.* 1990). No se evidenció una reacción positiva para taninos (Fotografía 28).

En *P. oradendron* el material fresco (hojas) son ovadas u ovado-elípticas, largamente acuminadas, con indumento glabrescente y color verde lustroso (Fotografía 29), al igual que *P. hispidum* el material seco aporta poca información para ser una característica específica de identificación (Fotografía 30).

Se determinó en el diafanizado de *P. oradendron* que la epidermis adaxial es uniestratificada, delgada y formada por células cúbicas, mesófilo dorsiventral y xilema de tipo helicoidal (Fotografías 31 y 32), con parénquima esponjoso formado por células isodiamétricas y disposición irregular (Fotografía 33), el colénquima es de tipo angular (Fotografía 34).

Una característica de resaltar es que posee tres y cuatro haces vasculares (Fotografía 35 y 36), también se observó la presencia de cristales de oxalato de calcio en las epidermis (Fotografía 37), de lo que se deduce que el suelo donde fueron recolectadas es muy rico en minerales (Curtis, 1986).

Se determinó en diafanizado de *P. oradendron* que la nervación de la hoja es pinnatinervias (nervios que parten de uno principal) y reticulada (nervios principales se ramifican en una multitud de nervículos). Los estomas son de tipo anomocítico (sin células anexas), tetracíticos (cuatro células anexas), anisocíticos (tres células), ciclocíticos (numerosas células anexas) en el envés (Fotografías 38-40), los estomas son el sistema respiratorio de la planta y su principal función es la fotosíntesis. El agua absorbida por la planta es liberada por los estomas a través por procesos de difusión de la transpiración (Curtis, 1986).

En el disociado débil se determinó la presencia de pelos de tipo pluricelular largo y corto, unicelular largo y corto y glandulares (Fotografías 41-47); los cuales actúan como barreras que dificultan el acceso o el movimiento de los insectos. Los pelos glandulares además, eliminan compuestos pegajosos que atrapan a los insectos o sustancias tóxicas que los irritan, matan o modifican su comportamiento (Curtis, 1986).

Los almidones se encontraron dispersos en poca cantidad en las células en empalizada de la hoja (Fotografía 48), siendo ésta la principal reserva carbonada de la planta y de sostén (Álvarez, 2009), los mucílagos se evidenciaron en las hojas (Fotografía 49), que es el metabolito que le confiere su alta capacidad para retener agua, ya que esta planta crece en ambientes muy cálidos o secos (Standley & Steyermark, 1952).

El tamizaje histoquímico de *P. oradendron* (Cuadro 1), se encontró alcaloides dentro en células del parénquima de la hoja (Fotografía 50), metabolitos en forma de sales que regularmente se encuentran en las plantas combinados con los ácidos más simples de los vegetales y que le confieren a la planta su acción analgésica, anestésica y estimulante (Cruz *et al.*, 2008; Martínez, 2009), también posee aceites esenciales en parénquima (Fotografía 51), confiriéndole una de sus características odoríferas a la planta los cuales actúan como repelentes de insectos. Presentó lignina (Fotografía 52), éste le confiere a la hoja rigidez aunque en el tallo es donde hay más presencia de éste compuesto. También presentó reacción positiva para saponinas (Fotografía 53) lo que le confiere a la planta una actividad mucolítica. No hubo reacción para la prueba de taninos (Fotografía 54).

En *P. umbellatum* las hojas (frescas) son palmatinervias (nervios que nacen todos del ápice del peciolo y divergen como los dedos de una mano), ovado-orbiculares, grandes y delgadas, cortamente agudas en el ápice con indumento glabro y color verde (Fotografía 55), al igual que las otras dos especies el material seco aporta poca información para ser una característica específica de identificación (Fotografía 56).

En el diafanizado de *P. umbellatum* se observó que las células de la epidermis adaxial son poligonales con grandes espacios celulares rodeadas de células dispuestas en roseta (Fotografías 57-59), el mesófilo es dorsiventral y bifacial con parénquima en empalizada uniestratificado de células largas y delgadas, el parénquima esponjoso de disposición uniforme (Fotografía 60-61), el colénquima es de tipo angular (Fotografía 62).

La característica en la micromorfología de *P. umbellatum* es que posee un solo haz vascular (Fotografía 63), característica que hace a esta especie, diferente a las otras dos especies antes mencionadas. También se observa la presencia de cristales de oxalato de calcio en forma de rafidios en el mesófilo (Fotografía 64).

Además se determinó que la hoja posee estomas tetracíticos (cuatro células anexas) y ciclocíticos (numerosas células anexas) en el envés (Fotografía 65). Los estomas son el sistema respiratorio de la planta y su principal función es la fotosíntesis. El agua absorbida por la planta es liberada por los estomas a través de procesos de difusión de la transpiración (Curtis, 1986).

Posee los mismos tipos de pelos que las otras dos especies antes mencionadas, como lo son pluricelulares largos y cortos, unicelulares cortos y glandulares (Fotografías 66-69), como se mencionó anteriormente los pelos glandulares además eliminan compuestos pegajosos que atrapan a los insectos o sustancias tóxicas que los irritan, matan o modifican su comportamiento (Curtis, 1986).

El tamizaje histoquímico demostró que *P. umbellatum* posee almidones en escasa cantidad (Fotografía 70), lo cual evidencia la presencia de otros mecanismos de metabolismo

energético y de sostén en esta planta (Rodríguez, 2005; DuPont, M. *et al.* 1990), se encontraron mucílagos en el esclerénquima de la hoja (Fotografía 71), lo que le confiere su alta capacidad para retener agua y formación de coloides o geles no digeribles por parásitos del suelo, también se le atribuye la propiedad de proteger los conductos digestivos y las mucosas ante cualquier agente irritante (Rodríguez, 2005; DuPont, M. *et al.* 1990).

También posee alcaloides (Fotografía 72) dentro de las células del colénquima de la hoja, los cuales le confieren a la planta su acción antibacteriana (Standley & Steyermark, 1952); (Cuadro 1) y aceites esenciales (Fotografía 73), confiriéndole una de sus características odoríferas a la planta y así poder repeler insectos.

Se encontró una regular cantidad de saponinas (Fotografía 74) lo que le confiere a la planta un efecto emulsificante y espumante (Curtis, 1986). Posee lignina lo cual le confiere a la rigidez a la planta (Fotografía 75). Al igual que *P. hispidum* y *P. oradendron* no hay presencia de taninos (Fotografía 76).

Todas estas características agrupadas le confieren a las plantas en estudio la actividad de repelente de insectos, cicatrizante, tratamiento de úlceras (Gupta, 2008); dolores úlceras, fiebres por malaria, amigdalitis, digestivo (Otero, 2000); antiinflamatoria, repelente, antifúngica, antibacteriana (Martínez, 1979); antiséptico de la piel, incrementar el flujo de leche ((Standley & Steyermark, 1952; MOBOT, 11 mar. 2009).

Correlacionando estos resultados con los obtenidos en la cromatografía del Proyecto FODECYT 17-2009 “Caracterización de la actividad antioxidante de extractos de especies nativas del género *Piper* y cuantificación de metabolitos secundarios con potencial de desarrollo”, donde se incluyeron a las tres piperáceas de este estudio donde se observa que las cromatografías realizadas a *P. hispidum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum* dieron resultados que coinciden con las pruebas histoquímicas que se realizaron en ésta oportunidad a estas plantas. Es preciso mencionar que la actividad antioxidante de las tres especies, las hojas de *P. hispidum* presentó regular actividad mientras que *P. oradendron* y *P. umbellatum* presentaron una mayor actividad antioxidante. En cuanto a los taninos los

resultados que se obtuvieron fueron diferentes, ya que dependió del disolvente utilizado, cuando se utilizó el diclorometano (apolar) el resultado fue negativo y cuando se utilizó el disolvente metanol (polar) los resultados fueron positivos, esto debido a que los taninos son solubles en agua e insolubles en disolventes orgánicos. Los otros dos metabolitos saponinas y alcaloides dieron un resultado positivo tanto en la cromatografía como en la histoquímica, esto demuestra una buena correlación entre la histoquímica y la cromatografía en capa fina.

También se determinó el porcentaje de humedad que para una buena conservación, el contenido ha de ser inferior al 10 %. Este proceso de deshidratación de la materia vegetal se realiza para interrumpir los procesos de degradación causados por enzimas o fermentos, los cuales impiden el desarrollo de microorganismos y reacciones de oxidación e hidrólisis, por lo que se sugiere que el secado debe hacerse tan pronto como la recolección haya concluido. En general el material vegetal de las tres especies analizadas en este estudio tenían un importante contenido de agua, además se demostró que éstas presentaron factibilidad del secado en horno a 42 °C, con un tiempo de 56 horas para las tres especies y de esta forma se eliminó la cantidad de agua adecuada y se obtuvo un porcentaje que se encontró dentro de los valores autorizados por la OMS para materia de uso medicinal y evitar el crecimiento microbiano (Cuadro 2).

Se realizó el análisis del contenido de cenizas totales, parámetros que aportan información importante en el control de calidad de la materia vegetal. Al verificar los resultados para cenizas totales, se encontró que únicamente *P. umbellatum* se encontró dentro de los valores referidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para concentraciones de cenizas totales en materia vegetal para uso médico (menor a 10%); aunque estos valores varían, debido a que los límites permitidos son muy amplios, por tanto, tiene escaso valor para fines de tipificación, por lo que su importancia radica en mostrar el comportamiento del material vegetal de cada especie analizada (Cuadro 3).

Es importante mencionar que al material obtenido de *P. hispidum* y *P. oradendron* se les realizó la determinación de cenizas insolubles en ácidos, ya que presentaron valores de cenizas totales fuera del rango de referencia (> 10 %) (Cuadro 3). El contenido de cenizas

proporciona una idea sobre el contenido total de minerales en la muestra. Es necesario decir que éstos ejemplares poseían cristales aciculares tipo rafidio en colénquima.

Los valores de la media y la mediana tanto para la determinación del contenido de humedad como para cenizas totales son muy similares entre sí, lo que refleja una media representativa de los datos obtenidos en cada determinación (Cuadro 3).

Existen pequeñas diferencias entre las tres especies, en cuanto a caracteres organolépticos, tales como el sabor y el olor, tanto en la droga fresca como seca (Anexo 4). El alto contenido de cenizas ácidas en *P. umbellatum* y diferencias a nivel microscópico, como la cantidad y disposición de haces vasculares, para *P. hispidum* es de dos y cuatro, *P. oradendron* posee tres y cuatro, finalmente *P. umbellatum* tiene un solo haz vascular otra diferencia es de la presencia de estomas de tipo anomocítico solamente en *P. oradendron*.

## X. CONCLUSIONES

1. Se demostró histoquímicamente la presencia de alcaloides, grasas, aceites esenciales, mucílagos, almidones, lignina y saponinas, ausencia de taninos en hoja de los tres ejemplares estudiados.
2. Existen pequeñas diferencias entre las tres especies, en cuanto a caracteres organolépticos, tales como el sabor y el olor, tanto en la droga fresca como seca.
3. *P. oradendron* y *P. hispidum* poseen de dos a cuatro haces vasculares mientras *P. umbellatum* posee uno y la presencia de estomas de tipo anomocítico en *P. oradendron* son características diagnósticas de estas tres *Piperaceas*.



## XI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios fitoquímicos cuantitativos que permitan una mejor discriminación entre las especies estudiadas.
2. Recabar aún más información sobre las diferentes propiedades de las especies vegetales estudiadas, tales como: materia extraña, contaminación microbiana, aflatoxinas, radioactividad, constantes físicas, residuos tóxicos, metales pesados, condiciones de cultivo, etc., para enriquecer la ficha informativa de las especies.
3. Realizar cuantificación de metabolitos secundarios para comparar si la concentración de los mismos varía con aspectos ambientales o etapas fenológicas.
4. Determinar las propiedades farmacológicas de *P. hispidum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum* a través de distintos bioensayos como actividad antiinflamatoria, antidiarreica, antifúngica, antimicrobiana.
5. Identificar microscópicamente y macroscópicamente a todas las plantas medicinales de uso popular en Guatemala para obtener los resultados esperados, incentivando así el uso de medicina natural para el tratamiento de enfermedades en la población.
6. Regular la venta de plantas medicinales bajo estrictos certificados de calidad que garanticen la inocuidad y originalidad del producto destinado al consumo.

## XII. REFERENCIAS

- Abdalla, K., Juárez, L., Ovalle, A., & Palacios E. (2012). *Fraccionamiento Bioguiado de Cuatro Especies Nativas del Género Piper con actividad demostrada en modelos in vitro*. Seminario de Investigación de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Adams, C.D. (1972). *Flowering plants of Jamaica*. Mona, Jamaica: The University Press University of the West Indies.
- Agbor, G.A., Vinson, J.A., Oben, J.E., & Ngogan, J.Y. (2006). Comparative analysis of the *in vitro* antioxidant activity of White and black pepper. *Nutrition Research*, 26, 659-663.
- Agbor, G.A., Vinson, J.A., Oben, J.E., & Ngogan, J.Y. (2007). *In vitro* antioxidant activity of three *Piper* species. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 7, 49-64.
- Aguilar, A., Camacho, J.R., Chino, S., Jáquez, P., & López, M.E. (1994). *Herbario medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social: información etnobotánica*. México: Redacta.
- Albiero, A.L.M., Paoli, A.A.S., Souza, L.A., & Mourão, K.S.M. (2005a). Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper crassinervium* HBK (Piperaceae). *Acta Botânica Brasilica*, 19, 305-312.
- Albiero, A.L.M., Souza, L.A., Mourão, K.S.M., de Almeida, O.J.G., & Lopes, W.A.L. (2005b). Morfo-anatomia do caule e da folha de *Piper guadichaudianum* Kuntze (Piperaceae). *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 24, 550-554.

- Albiero, A.L.M., Paoli, A.A.S., Souza, L.A., & Mourão, K.S.M. (2006). Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper hispidum* Sw. (Piperaceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, *16*, 379-391.
- Akendengue, B., & Louis, A.M. (1994). Medicinal plants used by the masango people in Gabon. *Journal of Ethnopharmacology*, *41*, 193-200.
- Alécio, A.C., Bolzani, V., Young, M.C.M., Kato, M.J., & Burlan, M. (1998). Antifungal amide from leaves of *Piper hispidum*. *Journal of Natural Products*, *61*, 637-639.
- Álvarez, L. (2009). Micrografía de dos plantas del género *Piper* de la región norte del departamento de Alta Verapaz. Proyecto de investigación EPS, Biología. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC, Guatemala.
- Arambewela, L.S.R., Arawwawala, L.D.A.M., & Ratnosooriya, W.D. (2005). Antidiabetic activities of aqueous and ethanolic extracts of *Piper betle* leaves in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, *102*, 239-245.
- Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2000). *Fundamentos de Fisiología vegetal*. Barcelona: McGraw-Hill.
- Ballvé, A., Saraiva, N.C., Auler, L., de Assis-Brasil G.A., & Deud K.F. (1995). *Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacognóstico*. Canoas, Brasil: Edita ULBRA.
- Barrett, B. (1994). Medicinal plants of Nicaragua's Atlantic coast. *Economic Botany*, *48*, 8-20.
- Bouquet, A., & Debray, M. (1974). Medicinal Plants of the Ivory Coast. *Trav Doc Orstom* (Serv Cent Document Orstom Bondy 93140 France), *32*, 1.

- Bioka, D., & Abena, A. (1990). Psychopharmacological profile of *Piper umbellatum* aqueous extract. *L'encéphale*, *16*, 205-208.
- Cáceres, A. (1996). *Plantas de Uso Medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Cáceres, A. (1999). Manual de Procedimientos del Proyecto Biodiversidad Tropical de Centro América. Organización de Estados Americanos. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Castro-Silva, W., Martins, J.R.S., de Souza, H.E.M., Heinzen, H., Cesio, M.V., Mato, M. Albrecht, F. *et al.*, (2009). Toxicity of *Piper aduncum* L. (Piperales: Piperaceae) from the Amazon forest to cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, *164*, 267-274.
- Chicago Field Museum, USA. s.f. Museo de Historia Natural: Base de datos colecciones botánicas (en línea). Consultado el 9 mar. 2012. Disponible en <http://fm1.fieldmuseum.org/vrrc>.
- Chonpathompikunlert, P., Wattanathorn, J. & Muchimapura, S. (2010). Piperine, the main alkaloid of Thai black pepper, protects against neurodegeneration and cognitive impairment in animal model of cognitive deficit like condition of Alzheimer's disease. *Food and Chemical Toxicology*, *48*, 798-802.
- Cleaves, C. (2001). Etnobotánica participativa en siete comunidades de la zona de influencia del Parque Nacional Laguna Lachúa, Cobán, Alta Verapaz, (Tesis Licenciatura, Biología). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala.
- Coe, F.G., & Anderson, G.J. (1996). Ethnobotany of the garifuna of eastern Nicaragua. *Economic Botany*, *50*, 71-107.

- Cruz, S.M. (2005). *Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de Piperaceae*. (Tesis de Maestría). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia USAC. Guatemala.
- Cruz, S.M., Véliz, R., Gómez, A., Alvarez, L., Cáceres, A., Morales, J. *et al.*, (2008). Caracterización química de los aceites esenciales y extractos de especies mesoamericanas del género *Piper* como nuevos recursos aromáticos. *Revista Científica*, 4, 25-29.
- Curtis, R. (1986). *Micromorfología Vegetal*. México D.F, México: Editorial Trillas.
- Cutler, S.J., & Cutler H.G. (2000). *Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals*. Boca Ratón, Florida, CRC Press LLC.
- Danelutte, A.P., Lago, J.H., Young, M.C., & Kato, M.J. (2003). Antifungal flavanones and prenylated hydroquinones from *Piper crassinervium* Kunth. *Phytochemistry*, 64, 555-559.
- Dasgupta, A., & Datta, P.C. (1980). Medicinal Species of Piper, Pharmacognostic Delimitation. *Quarterly Journal of Crude Drug Research*, 18(1), 17-25.
- De las Heras, B., Slowing, K., Benedí, J., Carretero, E., Ortega, T., Toledo, C., *et al.*, (1998). Antiinflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador. *Journal of Ethnopharmacology*, 61, 161-166.
- Desmarchelier, C., Barros, S., Repetto, M., Latorre, L.R., Kato, M., Coussio, J. *et al.* (1997). 4-nerolidylacetochol from *Pothomorphe* spp. scavenges peroxy radicals and inhibits Fe(ii)-dependent DNA damage. *Planta Medica*, 63, 561-563.

- Dewick, P. (2002). *Medicinal Natural Products-A Biosynthetic Approach* (Segunda edición ed.). Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd.
- Días dos Santos, P., de Lima Moreira, D., Guimarães, E.F., & Coelho, M.A. (2001). Essential oil of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic forest. *Phytochemistry*, 58, 547-551.
- Domínguez, X. (1988). *Métodos de investigación fitoquímica*. México D.F, México: Limusa.
- Duarte, M., & Siebenrock, M.C.N. (2010). Caracteres anatômicos de folha e caule de *Piper mikianianum* (Kunth) Steud., Piperaceae. *Latin American Journal of Pharmacy*, 29(1), 45-51.
- Duke, J.A., & Vásquez, R. (1994). *Amazonian ethnobotanical dictionary*. Boca Ratón, Florida, USA: CRC Press.
- DuPont, M. et al. (1990). Preparación y uso de plaguicidas naturales. Altermec. Guatemala.
- Facundo, V.A., Polli, A.R., Rodrigues, R.V., Militão J.S.L., Stabelli, R.G., & Cardoso, C.T. (2008). Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* HBK. *Acta Amazónica*, 38, 733-742.
- Felipe, D., Dias, B., Nakamura, C. & Cortéz, D. (2008). Evaluation of the antimicrobial activity of *Piper rengellii* (Miq.) C. DC. var. *Pallascens* (C. DC.) Yunck. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27, 618-620.
- Figuroa, R. (2008). *Un científico popular*. Cienfuegos, Cuba: Ediciones Mecenás.
- Font, P. (1982). *Diccionario de Botánica*. Barcelona: Editorial Labor, S. A.

- François T., Pierre, J.D., Lambert, S.M., Ndifor, F., Arlette, W.N., Paul, A.Z., et al. (2009). Comparative essential oils composition and insecticidal effect of different tissues of *Piper capense* L., *Piper guineense* Schum. et. Thonn., *Piper nigrum* L. and *Piper umbellatum* L. grown in Cameroon. *African Journal of Biotechnology*, 8, 424-431.
- García, A., Leyva, M.A., Martínez, J.R., & Stashenko, E.E. (2007). Determinación de la composición química y actividad antioxidante in vitro de aceites esenciales de *Piper auritum* Kunth. (Piperaceae) difundida en la costa colombiana. *Scientia et Technica*, 13, 439-442.
- Gattuso, M.A. y Gattuso, S.J. (1999b). *Manual de procedimientos de drogas en polvo*. Rosario, Argentina: UNR Editora.
- Germósen, R.L. (2005). *Farmacopea vegetal caribeña* (2a ed.). León, Nicaragua: Editorial Universitaria UNAN.
- Gómez A. (2008). *Caracterización de extractos y aceites esenciales y evaluación de la actividad biológica de hoja de tres especies de Piperaceas (P. Jacquemontianum, P. oradendron, P. umbellatum)*. (Tesis de Licenciatura, Química Farmacéutica). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia USAC. Guatemala.
- Gola, G., Negri, G. & Cappeletti, C. (1965). *Tratado de Botánica*. (2a. Ed). Barcelona: Editorial Labor, S. A.
- Gülcin, I. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 56, 491-499.
- Gupta M. (2008). *270 Plantas Medicinales Iberoamericanas*. Bogotá, Colombia: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología. CYTED. Convenio Andrés Bello.

- Hammer, M.L.A., & Johns, E.A. (1993). Tapping an amazonian plethora: four medicinal plants of Marajo Island, Para (Brazil). *Journal of Ethnopharmacology*, 40, 53-75.
- Heide L. (1991). Traditionelle Arzneipflanzen in der Gesundheitsversorgung der dritten Welt-Möglichkeiten und Grenzen. *Zeitschrift für Phytotherapie*, 12, 1-8.
- Hosana, M., Alécio, A.C., Kato, M.J., Bolzani, V., Young, M.C.M., Cavalheiro, A.J. et al., (2000). Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, 55, 621-626.
- Jayasuriya DC. The regulation of medicinal plants - a preliminary review of selected aspects of national legislation. Unpublished Report.
- Jenett-Siems, K. (1999). Actividad antiplasmódica *in vitro* de plantas medicinales de Centro América. *Tropical Medicine & International Health*, 4, 611-615.
- Kerharo, J., & Bouquet, A. (1950). *Plantes médicinales et toxiques de la Cote-d'Ivoire Haute-Volta*. Paris: Éditions Vigot frères.
- Kijjoo, A., Giesbrecht, M.A., Akisue, K.M., Gottlieb, R.O., & Gottlieb, E.H. (1980). 4-nerolidylcatechol from *Potomorphe umbellata*. *Planta Medica*, 39, 85-87.
- Kokwaro, J.O. (1976). *Medicinal plants of east Africa*. Nairobi, Kenya: University of Nairobi Press.
- Lehrl, S. (2004). Clinical efficacy of kava extract WS® 1490 in sleep disturbances associated with anxiety disorders. *Journal of Affective Disorders*, 78, 101-110.
- Lentz, D.L., Clark, A.M., Hufford, C.D., Meurer-Grimes, B., Passreiter, C.M., Cordero, J., et al. (1998). Antimicrobial properties of Honduran medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 63, 253-263.



Ley de sistema nacional de la calidad decreto 78 – 2005. Constitución Política de la República de Guatemala.

Machado, M.F., Militão, J.S.L.T., Morais, S.M., & Machado, M.I.L. (1994). Leaf oils of two Brazilian *Piper* species: *Piper arboreum* Aublet var. *latifolium* (C. DC) Yuncker and *Piper hispidum* Sw. *Journal of Essential Oil Research*, 6, 643-644.

Mahecha, G. (1997). Fundamentos y metodología para la identificación de plantas. Bogotá: Proyecto Biopacífico. Ministerio del Medio Ambiente.

Marquis, R.J. (2004). Biogeography of neotropical Piper. In: Dyer, L.E. & Palmer, A.D.N. – *Piper. A model genus for studies of phytochemistry, ecology and evolution*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publisher.

Martins, A.P., Salgueiro, L., Vila, R., Tomi, F., Cañigual, S., Casanova, J., *et al.* (1998). Essential oils from four *Piper* species. *Phytochemistry*, 48, 2019-2023.

Martínez-Alfaro, M.A. (1984). Medicinal plants used in a Totonac community of the Sierra Norte de Puebla: Tuzamapan de Galeana, Puebla, México. *Journal of Ethnopharmacology*, 11, 203-221.

Martínez, J.V. (2008). Caracterización morfológica, ecológica, genética y química de tres especies de *Piper* (*Piper jacquemontianum*, *Piper donnell smithii* y *Piper oradendron*) con fines de conservación y mejoramiento para su aprovechamiento como nuevos recursos aromáticos y/o medicinales en Guatemala. Proyecto FODECYT 114-2006.

Martínez, J.V. (2009). Caracterización morfológica, ecológica, genética y química de 3 especies de *Piper* (*Piper jacquemontianum*, *Piper donnell smithii* y *Piper oradendron*) con fines de conservación y mejoramiento para su aprovechamiento

como nuevos recursos aromáticos y/o medicinales en Guatemala. Guatemala: Proyecto FODECYT No. 114-2006.

Martínez, M. (1979). *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*. México: Fondo de Cultura Económica.

Medinilla, B. (2009). Documento de apoyo, Introducción a la farmacognosia, concepto y desarrollo, ciencias relacionadas, importancia y futuro. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Michel, J., Duarte, R.E., Bolton, J.L., Huang, Y., Caceres, A. & Veliz, M. (2007). Medical potential of plants used by the Q'eqchi Maya of Livingston, Guatemala for the treatment of women's health complaints. *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 92–101.

Michel, J.L., Chen, Y., Zhang, H., Huang, Y., Kronic, A., Orjala, J. *et al.* (2010). Estrogenic and serotonergic butenolides from the leaves of *Piper hispidum* Swingle (Piperaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 129, 220-226.

MOBOT (Missouri Botanical Garden, USA). S.f. Museo de Historia Natural: Base de datos colecciones botánicas del mundo (en línea). USA. Consultado 03 nov. 2012. Disponible en <http://tropicos.org>

Moreira, D.L., Guimarães, E.F., & Kaplan, M.A. (1998). Essential oil analysis of two *Piper* species (Piperaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 70, 751-754.

Nascimento, M.E., & Vilhena-Potiguara, R.C. (1999). Aspectos anatómicos dos órgãos vegetativos de *Piper hispidinervium* C.DC. (Piperaceae) e suas estruturas secretoras. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Botânica*, 15, 39-104.

- Navickiene, H.M.D., Alécio, A.C., Kato, M.J., Bulzani, V.S., Young, M.C.M., Cavalheiro, A.J., & Furlan, M. (2000). Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, 55, 621-626.
- New York Botanical Garden, USA. s.f. Museo de Historia Natural: Base de datos colecciones botánicas (en línea). Consultado el 13 mar. 20012. Disponible en <http://sciweb.nybg.org/science2/hcol/allvasc/index.asp>.
- Noumi, E., & Yomi, A. (2001). Medicinal plants used for intestinal diseases in mbalmayo region, Central Province, Cameroon. *Fitoterapia*, 72, 246-254.
- Nuñez, V. (2005). Inhibitory effects of *Piper umbellatum* and *Piper peltatum* extracts towards mytoxic phospholipases A2 from *Bothrops* snake venoms: Isolation of 4-nerolidylcatechol as active principle. *Phytochemistry*, 66, 1017-1025.
- Okunade, A.L., Hufford, C.D., Clark, A.M., & Lentz, D. (1997). Antimicrobial properties of the constituents of *Piper aduncum*. *Phytotherapy Research*, 2, 142-144.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2005). *Políticas y regulación; curso de gestión de calidad para Laboratorios*. Ginebra. Extraído el 31 de enero de 2012 de <http://www.who.int/medicinedocs/pdf/s5527s/s5527s.pdf>
- Orjala, J., Erdelmeier, C., Wright, A., Rali, T., & Sticher, O. (1993). Five new prenylat p-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and molluscicidal activity from *Piper aduncum* leaves. *Planta Medica*, 59, 546-551.
- Orozco, I. (2005). *Medicina Homeopática en Guatemala*. (Tesis de Maestría MUPLAN), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC, Guatemala.
- Osasuna, L. (2005). *Plantas Medicinales de la Medicina Tradicional Mexicana para Tratar Afecciones Gastrointestinales*. Barcelona: s.e.

- Otero, R., Fonnegra, R., Jiménez, S.L., Núñez, V., Evans, N., Alzate, S.P., et al. (2000). Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia; Part I: Traditional use of plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 493-504.
- Parmar, V.S., Jain, S.C., Bisht, K.S., Jain, R., Tameja, P., Jha, A., et al. (1997). Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*, 46, 597-673.
- Parmar, V.S., Jain, S.C., Gupta, S. Talwar, S., Rajwanshi, V.K., Kumar, R. et al. (1998). Polyphenols and alkaloids from *Piper* species. *Phytochemistry*, 49, 1969-1978.
- Pathak, N. & Khandelwal, S. (2007). Cytoprotective and immunomodulating properties of piperine on murine splenocytes: An *in vitro* study. *European Journal of Pharmacology*, 576, 160-170.
- Pessini, G.L., Albiero, A.L.M., Mourão, K.S.M., Nakamura, C.V., Dias Filho, B.P., & Cortez, D.A.G. (2003). Análise farmacognóstica de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallenscens* (C. DC.) Yunck.: Aspectos botânicos e enfoque físico-químico preliminar. *Latin American Journal of Pharmacy*, 22(3), 209-216.
- Plazas, E., Cuca, L., & Delgado, W. (2008). Flavonoides aislados de las inflorescencias de *Piper hispidum* Kunth (Piperaceae) y derivados acetilados. *Revista Colombiana de Química*, 37, 135-144.
- Programa de conservación de la biodiversidad y desarrollo sustentable en los humedales del este, (PROBIDES). (s.f.). Ficha 6: La flora entre las manos, ¿Cómo elaborar un herbario? Uruguay. Recuperado de: <http://www.pocitosdayschool.edu.uy/images/HERBARIO%5B1%5D.pdf>

- Puertas-Mejía, M.A., Gómez-Chabala, L., Rojano, B., & Saéz-Vega, J.A. (2009). Capacidad antioxidante *in vitro* de fracciones de hojas de *Piper peltatum* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 14, 1-11.
- Quijano, M.A., Callejas, R., & Miranda, D.R. (2006). Areas of endemism and distribution patterns for neotropical *Piper* species (*Piperaceae*). *Journal of Biogeography*, 33, 1266-1278.
- Ríos, M. (1993). *Plantas útiles en el noroccidente de la provincial de Pichincha*. Cayambe, Ecuador: Editorial Abyala.
- Roersch, C. (2010). *Piper umbellatum* L.: A comparative cross-cultural analysis of its medicinal uses and an ethnopharmacological evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 522-537.
- Rodríguez, H. (2005). *Plantas Plaguicidas en Costa Rica*. Trad. Michael Grainge y Saleen Ahmed. Primera Edición. Editorial Universitaria Nacional de Heredia. San José de Costa Rica. ISBN 1977-65-213-9.
- Ruangrungsi, N., Prathanturug, S., Lange, G.L., & Organ, M.G. (1992). An N-methyl aristolactam and oxygenated cyclohexane derivative from *Piper ribesioides*. *Phytochemistry*, 31, 2397-00.
- Sandoval, E., y Rojas, A. (s.f.). *Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal*. México: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Schultes, R.E. (1975). De Plantis Toxicariis e Mundo Novo Tropicale Commentationes. XII; Notes on biodynamic piperaceous plants. *Rhodora*, 77, 165-170.

- Schultes, R.E. (1980). De Plantis Toxicariis e Mundo Novo Tropicale Commentationes. XXVI; Ethnopharmacological notes on the flora of northwestern South America. *Botanical Museum Leaflets of Harvard University*, 28, 1-45.
- Schultes, R.E., & Raffauf, R.F. (1990). Field notes on curare constituents in the northwest Amazonia Curare, 13, 105-120.
- Sengupta, S. & Ray, A. (1987). The Chemistry of Piper species: *Fitoterapia*, 58, 147-166.
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Colombia: CYTED, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Subprograma X Química Fina Farmacéutica.
- Shobana, S. & Naidu, K.A. (2000). Antioxidant activity of selected Indian spices. *Prostaglandin, Lekotrienes and Essential Fatty Acids*, 62, 107-110.
- Soler B.A. (2005). *Aspectos de control de calidad de las drogas crudas*. Guatemala: MUPLAM- Curso de Farmacognosia y Control de Calidad. Documento Técnico.
- Solís, P., De Solís, N., Gattuso, & Cáceres, A. (2005). Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterapéuticos. Guatemala: OEA/AICD.
- Solís, P.N., Guerrero, N., Gattuso, M., & Cáceres, A. (2004). *Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos*. Guatemala: Organización de los Estados Americanos.
- Soria, R. (1994). Farmacobotánica. Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

- Souza, L.A., Moscheta, I.S., & Oliveira, J.H.G. (2004). Morfología y anatomía comparativa de la hoja y tallo de *Peperomia dahlstedtii* C. DC., *Ottonia martiana* Miq y *Piper diospyrifolium* Kunth. (Piperaceae). *Gayana Botánica*, 61(1), 6-17.
- Standley, P.C. & Steyermark, J.A (1952). Piperaceae. Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 24, 228-337.
- Standley P. (1926). Trees and Shrubs of México. Washington Government Printing Office, Smithsonian Institution: United States National Museum.
- Standley, P.C. (1937). Flora of Costa Rica. *Fieldiana: Botany*, 18, 329-370.
- Stevens, W.D., Uloa, U., Pool, A. & Montiel, O.M. (2001). Flora de Nicaragua. St. Louis, USA. Missouri Botanical Garden Press, 1911-2666.
- Stehmann, J.R., & Brandao, M.G.L. (1995). Medicinal plants of Lavras Novas (Minas Gerais, Brazil). *Fitoterapia*, 56, 515-520.
- Störh, J., Xiao, P. & Bauer, R. (2001). Constituents of Chinese Piper species and their inhibitory activity on prostaglandin and leukotriene biosynthesis *in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology*, 75, 133-139.
- Sunila, E.S. & Kuttan, G. (2006). Piper longum inhibits VEGF and proinflammatory cytokines and tumor-induced angiogenesis in C57BL/6 mice. *International Immunopharmacology*, 6, 733-741.
- Szallasi, A. (2005). Piperine: researchers discover new flavor in an ancient spice. *Trends in Pharmacological Sciences*, 26, 437-439.
- Tabopda, T.K., Ngoupayo, J., Liu, J., Mitaine-Offer, A.C., Tanoli, S.A., Khan, S.N. *et al.* (2008). Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. *Phytochemistry*, 69, 1726-1731.

- Trabadela, C., Sánchez-Fidalgo, S., Miño, P., Berenguer, B., Quilez, A., de la Puerta, R., Martín, M.J. (2008). Gastroprotective effects of *Piper carpunya* against diclofenaco induced gastric lesions in rats. *Pharmaceutical Biology*, 46, 829-837.
- Valadeau, C., Pabon, A., Deharo, E., Albán-Castillo, J., Estevez, Y., Lores, F.A. *et al.* (2009). Medicinal plants from the Yanasha (Peru): Evaluation of the lesihmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 413-422.
- Vasilev, A. (1969). *Plantas medicinales de Guinee*. Conakry, Republique de Guinee. Roig, J.T. (1988). *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba* (2a ed.). La Habana, Cuba: Editorial Científico-Técnica.
- Vasisht, K. (2001). Standarization of Herbal Medicine. Guatemala: Doc. Tec. Production and Quality Evaluation of Medicinal and Aromatic Plants.
- Vianna, W.O., & Akisue, G. Caracterização morfológica de *Piper aduncum* L. *Lecta*, 15, 141-62.
- Villacres, V. (1995). *Bioactividad de plantas amazónicas*. Quito, Ecuador: Ediciones Abya-Yala.
- Villar, L. & Villavicencio, V. (2001). *Manual de Fitoterapia*. Lima, Perú: Organización Panamericana de la Salud.
- Yano, H.E. (2002). *Disulfite proteome in the analysis of protein function and structure*. Madrid: Universal.



Yao, C.Y., Wang, J., Dong, D., Qian, F.G., Xie, J. & Pan, S.L. (2009). Laetispicine, an amide alkaloid from *Piper laetispicum*, presents antidepressant and antinociceptive effects in mice. *Phytomedicine*, *16*, 823-829.

Zakaria, Z., Patahuddin, H., Mohamad, A., Israf, D. & Sulaiman, M. (2010). In vivo antinociceptive and antiinflammatory activities of the aqueous extract of the leaves of *Piper sarmentosum*. *Journal of Ethnopharmacology*, *128*, 42-48.

Zamora-Martínez, M.C., & Pola, C.N.P. (1992). Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, *35*, 229-257.

### XIII. ANEXOS

**Anexo 1.** Fotografía de herbario *Piper hispidum* Swartz.

Número de herbario en BIGU: 065896



Fuente: Datos experimentales

**Anexo 2.** Fotografía de herbario *Piper oradendron* Trel. & Standl.

Número de herbario en BIGU: 065897



Fuente: Datos experimentales

**Anexo 3.** Fotografía de herbario *Piper umbellatum* L.

Número de herbario en BIGU: 065894



Fuente: Datos experimentales

**Anexo 4.** Ficha para identificación *Piper hispidum* Swartz.

- **Identificación botánica**

Nombre Científico: *Piper hispidum* Swartz.

Nombre Común: Cordoncillo

Procedencia: Eco-parcela el Kakawatal, Samayac, San Antonio Suchitepéquez.

Número de Herbario: Registro No. 065896

- **Análisis organoléptico material fresco**

Color: Verde

Olor: Cítrico

Sabor: Picante

Aspecto: Flexible

- **Análisis organoléptico material seco**

Color: Café-varduzco

Olor: Especiadao

Sabor: Ligeramente picante

Aspecto: Quebradiza

- **Parámetros físicos y químicos**

% De Humedad: 8.70

% De Cenizas: 13.68

**Anexo 5.** Ficha para identificación para *Piper oradendron* Trel. & Standl.

- **Identificación botánica**

Nombre Científico: *Piper oradendron* Trel. & Standl.

Nombre Común: Cordoncillo

Procedencia: Eco-parcela el Kakawatal, Samayac, San Antonio Suchitepéquez.

Número de Herbario: Registro No. 065897

- **Análisis organoléptico material fresco**

Color: Verde claro

Olor: Levemente cítrico

Sabor: Escasamente salado

Aspecto: Hoja flexible

- **Análisis organoléptico material seco**

Color: Verde oscuro

Olor: Especiado

Sabor: Ligeramente a menta

Aspecto: Quebradiza

- **Parámetros físicos y químicos**

% De Humedad: 8.15

% De Cenizas: 14.06

**Anexo 6.** Ficha para identificación para *Piper umbellatum* L.

- **Identificación botánica**

Nombre Científico: *Piper umbellatum* L.

Nombre Común: Santa María

Procedencia: Eco-parcela el Kakawatal, Samayac, San Antonio Suchitepéquez.

Número de Herbario: Registro No. 065894

- **Análisis organoléptico material fresco**

Color: Verde a verde amarillento

Olor: Levemente ácido

Sabor: Algo picante y salado

Aspecto: Flexible

- **Análisis organoléptico material seco**

Color: Café-verduzco

Olor: Levemente dulce

Sabor: Ligeramente amargo

Aspecto: Quebradizo

- **Parámetros físicos y químicos**

% De Humedad: 7.41

% De Cenizas: 1.25