



UNAP



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**“TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE
EXTRACTOS DE HOJAS Y RAÍZ DE *Piper obtusifolium* C.DC. Y *Piper
divaricatum* G. MEY”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

ANDREA JOHANA CAMAC ISLA
THALIA LIBETH NAVARRO RAMOS

ASESORAS:

Q.F. ROSA DEL CARMEN MILUSKA VARGAS RODRÍGUEZ, Dra.
ING. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.

IQUITOS, PERÚ

2022

ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Facultad de Farmacia y Bioquímica

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°041-PCGT-FFyB-UNAP-2022/OFICIO N°097-DINV-UNAP-2022

En el caserío de Nina Rumi, distrito de Iquitos, departamento de Loreto, a los 25 días del mes de mayo de 2022, a horas 10:00, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE HOJAS Y RAÍZ DE *Piper obtusifolium* C. DC. Y *Piper divaricatum* G. MEY", aprobada con Resolución Decanal N°118-2022-FFyB-UNAP, presentada por las bachilleres: Andrea Johana Camac Isla y Thalia Libeth Navarro Ramos, para optar el Título Profesional de Química Farmacéutica que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°083-2022-FFyB-UNAP, está integrada por:

- | | |
|--|------------|
| - Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr. | Presidente |
| - Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Dr. | Miembro |
| - Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mtra. | Miembro |


Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: satisfactoriamente

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:


La sustentación pública de la tesis ha sido aprobada con la calificación muy buena

Estando las bachilleres aptas para obtener el Título Profesional de Química Farmacéutica.

Siendo las 11:30 se dio por terminado el acto académico.


Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.
Presidente


Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Dr.
Miembro


Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mtra.
Miembro


Q.F. ROSA DEL CARMEN MILUSKA VARGAS RODRÍGUEZ, Dra.
Asesora


Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA DE REÁTEGUI, Dra.
Asesora

Carretera Zungarococha – Nina Rumi
Correo electrónico: farmacia
San Juan – Loreto – Perú. Celular N°942917936
www.unapiquitos.edu.perú

UNIVERSIDAD
LICENCIADA
RESOLUCIÓN N°012-2019-SUNEDU/CD

Lima, 1 de febrero de 2019

JURADOS Y ASESORES



Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.

CQFP N° 05857

Presidente



Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Dr.

CQFP N° 05274

Miembro



Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mtra.

CQFP N° 11601

Miembro



Q.F. ROSA DEL CARMEN MILUSKA VARGAS RODRÍGUEZ, Dra.

CQFP N° 13391

Asesora



Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA DE REÁTEGUI, Dra.

CIP N° 28912

Asesora

A mis padres Cesar Rafael Camac Silvera y Elita Isla Salinas, a mis abuelos Gonzalo Isla Rios y Delicia Salinas Ruiz, a mis hermanas Dora Christina Aspajo Isla y Andrea Maireth Camac Isla, porque me brindan su apoyo incondicional y porque son la fortaleza de mi vida.

Andrea Johana

A mis padres Basilio Navarro Claudio y Rosario Justina Ramos Peña; a mis hermanas Milusca Navarro Ramos y Sara Navarro Ramos y a mis preciados sobrinos Gael, Josías y Danna; por el inmenso amor, ternura y manifestaciones de afecto que me brindan, son una bendición en mi vida.

Thalia Libeth

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a nuestro Padre Celestial, por extender su gracia de vida y misericordia en nosotros; por ser amor y luz en nuestro andar del día a día y por habernos permitido concluir satisfactoriamente este logro.

Queremos agradecer de una manera especial a nuestra querida asesora Q.F. Rosa Del Carmen Miluska Vargas Rodriguez, PhD., por su importante contribución en el conocimiento científico, por la orientación, por su tiempo brindado y por toda la paciencia que nos tuvo para la culminación de este proyecto. En verdad mil gracias.

Queremos expresar también nuestro más sincero agradecimiento a nuestra asesora la Ing. Reyna Gladys Cárdenas Vda. De Reátegui, Dra., por todo su aporte y participación en el desarrollo del proyecto.

Al Ing. Juan Celedonio Ruiz, por el apoyo en la identificación taxonómica y en la colecta de nuestras especies.

A la Blga. María Elena Bendayán Acosta, Mgr., por sus invaluable direcciones científicas en el desarrollo de este proyecto.

Al Blgo. Freddy Orlando Espinoza Campos, Mgr., por toda su colaboración y asesoría en todo el periodo de las pruebas microbiológicas.

A la Ing. Lastenia Ruiz Mesía, Dra., y al Ing. Jorge Manases Rios Rios, MSc., encargados del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonía de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (LIPNAA/UNAP). Gracias por acogernos y brindarnos su apoyo en la realización del tamizaje fitoquímico de nuestra tesis.

A la Ing. Hively Ericka Ricopa Cotrina, por el tiempo y dedicación brindados, por compartirnos sus amplios conocimientos y experiencia para la realización del análisis fitoquímico de los extractos etanólico y triclorometánico.

Al Ing. Gabriel Emilio Vargas Arana, Dr., Jefe del Laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Muchas gracias por su apoyo desinteresado, y por su orientación en el proceso de liofilización de nuestros extractos. La culminación de la presente tesis no habría sido posible sin su soporte.

Queremos extender nuestro agradecimiento especial a la Blga. Selene Pérez Urrea, encargada del Área de Patología de la Clínica Adventista Ana Sthal, por facilitarnos los aislados clínicos bacterianos.

Al Herbarium Amazonense (AMAZ), por la correcta identificación taxonómica de nuestras especies vegetales.

Al Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la UNAP (CIRNA/UNAP), por abrirnos sus puertas y permitirnos realizar todo el proceso investigativo dentro de sus instalaciones.

Al Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana – IIAP, por brindarnos sus instalaciones, préstamo de equipos y materiales para el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A la Clínica Adventista Ana Sthal, por facilitarnos las muestras biológicas, su contribución en este proyecto fue de gran importancia.

A nuestra alma mater UNAP, y a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNAP (FFB/UNAP), por albergarnos en sus aulas para nuestra formación profesional. Así también a nuestros docentes que nos brindaron sus conocimientos y sabiduría. Eterna gratitud queridos maestros.

Al personal administrativo de la FFB/UNAP, Sra. María Nieves Guerra Diaz, por su apoyo en el trámite documentario.

Al Sr. Felipe, encargado de los materiales y reactivos de la FFB/UNAP. por su apoyo en el requerimiento de materiales de laboratorio de la Facultad.

A nuestros amigos que nos apoyaron en la realización de la presente tesis: Winston, Henry, Walter, Renzo, Alfredo y Karen.

A todos los que contribuyeron para el desarrollo de este estudio. A cada uno de ellos nuestra eterna gratitud.

ÍNDICE

	Páginas
PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
JURADO Y ASESOR	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
RESUMEN	xxvi
ABSTRACT	xxvii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Bases teóricas	7
1.3 Definición de términos básicos	17
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	18
2.1. Formulación de la hipótesis	18
2.2. Variables y su operacionalización	18
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	21
3.1. Diseño metodológico	21
3.2. Diseño muestral	21
3.3. Procedimientos de recolección de datos	23
3.4. Procesamiento y análisis de datos	49
3.5 Aspectos éticos	49
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	50
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	140
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	143
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	148
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	149
ANEXOS	156

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Variable independiente	19
Tabla 2.	Variable dependiente	20
Tabla 3.	Identificación de las especies vegetales	25
Tabla 4.	Pesos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey. según el solvente utilizado	28
Tabla 5.	Rendimiento del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	50
Tabla 6.	Rendimiento del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	50
Tabla 7.	Rendimiento del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	51
Tabla 8.	Rendimiento del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	51
Tabla 9.	Rendimiento del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	51
Tabla 10.	Rendimiento del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	52
Tabla 11.	Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	53
Tabla 12.	Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y triclorometánico de hojas de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	61
Tabla 13.	Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y triclorometánico de la raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	62
Tabla 14.	Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	72
Tabla 15.	Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y triclorometánico de hojas de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	81
Tabla 16.	Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y triclorometánico de raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	82

Tabla 17.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) de los controles positivos y negativos frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923	92
Tabla 18.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del control positivo y controles negativos frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	94
Tabla 19.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) de los controles positivos y negativos frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	96
Tabla 20.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923	98
Tabla 21.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente al aislado clínico de <i>S. aureus</i>	99
Tabla 22.	Diámetros de los halos inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923	100
Tabla 23.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente al aislado clínico de <i>S. aureus</i>	101
Tabla 24.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923	102
Tabla 25.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente al aislado clínico de <i>S. aureus</i>	103
Tabla 26.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	104
Tabla 27.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente al aislado clínico de <i>P. aeruginosa</i>	105

Tabla 28.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	106
Tabla 29	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente al aislado clínico de <i>P. aeruginosa</i>	107
Tabla 30.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	108
Tabla 31.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente al aislado clínico de <i>P. aeruginosa</i>	109
Tabla 32.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz <i>P. obtusilimum</i> C.DC frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922 y al aislado clínico	110
Tabla 33.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922 y al aislado clínico	113
Tabla 34.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922 y al aislado clínico	116
Tabla 35.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923	119
Tabla 36.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>S. aureus</i>	120
Tabla 37.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923	121

Tabla 38.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>S. aureus</i>	122
Tabla 39.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923	123
Tabla 40.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>S. aureus</i>	124
Tabla 41.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	125
Tabla 42.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>P. aeruginosa</i>	126
Tabla 43.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	127
Tabla 44.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>P. aeruginosa</i>	128
Tabla 45.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	129
Tabla 46.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de las hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>P. aeruginosa</i>	130
Tabla 47.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922 y al aislado clínico	131

Tabla 48.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	134
Tabla 49.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>E. coli</i>	134
Tabla 50.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	137
Tabla 51.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>E. coli</i>	137

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Especie vegetal <i>P. obtusilimum</i> C.DC. en su hábitat	8
Figura 2.	Especie vegetal <i>P. divaricatum</i> G. Mey. en su hábitat	10
Figura 3.	Flujograma de obtención de los extractos	24
Figura 4.	Recolección de las especies vegetales	25
Figura 5.	Lavado de las muestras	26
Figura 6.	Secado de las hojas de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	26
Figura 7.	Secado de las hojas de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	27
Figura 8.	Molienda de las hojas de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	27
Figura 9.	Maceración de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey. en etanol y triclorometano	29
Figura 10.	Extractos acuosos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	30
Figura 11.	Calentamiento de los extractos acuosos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	30
Figura 12.	Congelamiento de los extractos acuosos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	31
Figura 13.	Extractos acuosos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey. en el liofilizador	31
Figura 14.	Extractos acuosos liofilizados de hojas de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	32
Figura 15.	Filtración de los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	33
Figura 16.	Secado de los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	33
Figura 17.	Raspado de los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	34

Figura 18.	Extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	34
Figura 19.	Tamizaje fitoquímico de los extractos acuosos, etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	36
Figura 20.	Preparación de las diferentes concentraciones de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	41
Figura 21.	Discos de sensibilidad estériles confeccionados con papel filtro	41
Figura 22.	Preparación del medio de cultivo caldo soya tripticasa	42
Figura 23.	Preparación del medio de cultivo agar Mueller-Hinton	43
Figura 24.	Plaqueo del medio de cultivo agar Mueller-Hinton	44
Figura 25.	Selección de tres colonias del mismo tamaño y morfología de la especie bacteriana	45
Figura 26.	Ajuste de la turbidez de la suspensión bacteriana con la turbidez del estándar 0,5 de Mc Farland	46
Figura 27.	Inoculación de las placas de agar Mueller-Hinton con las bacterias en estudio	47
Figura 28.	Distribución de los discos de sensibilidad	48
Figura 29.	Lectura de las placas	49
Figura 30.	Identificación de alcaloides en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	54
Figura 31.	Identificación de triterpenos y/o esteroides en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	54
Figura 32.	Identificación de antraquinona hidroxilada en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	55
Figura 33.	Identificación de naftoquinona y antraquinona en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	55
Figura 34.	Identificación de triterpenos y/o esteroides, quinonas y flavonoides en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	56

Figura 35.	Identificación de leucoantocianidina en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	56
Figura 36.	Identificación de carotenos en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	57
Figura 37.	Identificación de glicósidos cardiotónicos en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	57
Figura 38.	Identificación de fenoles y/o taninos en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	58
Figura 39.	Identificación de saponinas en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	58
Figura 40.	Identificación de lactonas en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	59
Figura 41.	Identificación de azúcares reductores en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	59
Figura 42.	Identificación de cumarinas fijas en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	60
Figura 43.	Identificación de catequinas en el extracto acuoso de la raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	60
Figura 44.	Identificación de alcaloides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. con el reactivo de Dragendorf.	63
Figura 45.	Identificación de alcaloides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. con el reactivo de Mayer	63
Figura 46.	Identificación de alcaloides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. con el reactivo de Hager	64
Figura 47.	Identificación de alcaloides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. con el reactivo de Warner	64

Figura 48.	Identificación de triterpenos y/o esteroides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	65
Figura 49.	Identificación de naftoquinonas y antraquinonas en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	65
Figura 50.	Identificación de flavonoides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	66
Figura 51.	Identificación de quinonas en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	66
Figura 52.	Identificación de carotenos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	67
Figura 53.	Identificación de glicósidos cardiotónicos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	67
Figura 54.	Identificación de leucoantocianidina en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	68
Figura 55.	Identificación de fenoles y/o taninos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	68
Figura 56.	Identificación de lípidos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	69
Figura 57.	Identificación de aminas y/o aminoácidos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	69
Figura 58.	Identificación de saponinas en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	70
Figura 59.	Identificación de azúcares reductores en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	70

Figura 60.	Identificación de cumarinas fijas en el extracto etanólico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	71
Figura 61.	Identificación de catequinas en hojas y raíz del extracto etanólico de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	71
Figura 62.	Identificación de catequinas en el extracto triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC.	71
Figura 63.	Identificación de alcaloides en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	73
Figura 64.	Identificación de triterpenos y/o esteroides en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	73
Figura 65.	Identificación de antraquinona hidroxilada en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	74
Figura 66.	Identificación de naftoquinona y antraquinona en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	74
Figura 67.	Identificación de flavonoides en hojas y raíz del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	75
Figura 68.	Identificación de quinonas en hojas y raíz del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	75
Figura 69.	Identificación de leucoantocianidina en hojas y raíz del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	76
Figura 70.	Identificación de carotenos en hojas y raíz del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	76
Figura 71.	Identificación de glicósidos cardiotónicos en hojas y raíz del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	77
Figura 72.	Identificación de fenoles y/o taninos en hojas y raíz del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	77
Figura 73.	Identificación de lípidos en hojas y raíz del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	78
Figura 74.	Identificación de aminas y/o aminoácidos en hojas y raíz del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	78
Figura 75.	Identificación de saponinas en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	79

Figura 76.	Identificación de lactonas en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	79
Figura 77.	Identificación de azúcares reductores en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	80
Figura 78.	Identificación de antraquinonas en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	80
Figura 79.	Identificación de catequinas en el extracto acuoso de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	80
Figura 80.	Identificación de alcaloides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. con el reactivo de Mayer	83
Figura 81.	Identificación de alcaloides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. con el reactivo Warner	83
Figura 82.	Identificación de alcaloides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. con el reactivo Mayer Hager.	84
Figura 83.	Identificación de alcaloides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. con el reactivo Dragendorf.	84
Figura 84.	Identificación de triterpenos y/o esteroides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	85
Figura 85.	Identificación de antraquinona hidroxilada en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	85
Figura 86.	Identificación de quinonas en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	86
Figura 87.	Identificación de leucoantocianidina en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	86

Figura 88.	Identificación de naftoquinona y antraquinona en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	87
Figura 89.	Identificación de flavonoides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	87
Figura 90.	Identificación de fenoles y/o taninos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	88
Figura 91.	Identificación de lípidos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	88
Figura 92.	Identificación de carotenos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	89
Figura 93.	Identificación de glicósidos cardiotónicos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	89
Figura 94.	Identificación de aminas y/o aminoácidos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	90
Figura 95.	Identificación de saponinas en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	90
Figura 96.	Identificación de lactonas en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	91
Figura 97.	Identificación de azúcares reductores en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	91
Figura 98.	Control de crecimiento, control positivo y control negativo para la evaluación de la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923	93
Figura 99.	Control de crecimiento, control positivo y control negativo para la evaluación de la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del	95

extracto acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

- Figura 100.** Control de crecimiento, control positivo y control negativo para la evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 97
- Figura 101.** Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923 98
- Figura 102.** Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. obtusilimum* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus* 99
- Figura 103.** Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923 100
- Figura 104.** Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. obtusilimum* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus* 101
- Figura 105.** Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923 102
- Figura 106.** Lectura de los discos del extracto triclorometano de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus* 103
- Figura 107.** Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 104
- Figura 108.** Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. obtusilimum* C.DC. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa* 115
- Figura 109.** Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 106
- Figura 110.** Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. obtusilimum* C.DC. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa* 107

- Figura 111.** Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 108
- Figura 112.** Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. obtusilimum* C.DC. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa* 109
- Figura 113.** Lectura de los discos del extracto acuoso de hojas de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico 111
- Figura 114.** Lectura de los discos del extracto acuoso de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico 112
- Figura 115.** Lectura de los discos del extracto etanólico de hojas de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico 114
- Figura 116.** Lectura de los discos del extracto etanólico de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico 115
- Figura 117.** Lectura de los discos del extracto triclorometánico de hojas de *P. obtusilimum* C.DC frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico 117
- Figura 118.** Lectura de los discos del extracto triclorometánico de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico 118
- Figura 119.** Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923 119
- Figura 120.** Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *S. aureus* 120
- Figura 121.** Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923 121
- Figura 122.** Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *S. aureus*. 122

Figura 123.	Lectura de los discos del extracto triclorometánico de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923	123
Figura 124.	Lectura de los discos del extracto triclorometánico de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>S. aureus</i>	124
Figura 125.	Lectura de los discos del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	125
Figura 126.	Lectura de los discos del extracto acuoso de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>P. aeruginosa</i>	126
Figura 127.	Lectura de los discos del extracto etanólico de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	127
Figura 128.	Lectura de los discos del extracto etanólico de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>P. aeruginosa</i>	128
Figura 129.	Lectura de los discos del extracto triclorometánico de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	129
Figura 130.	Lectura de los discos del extracto triclorometánico de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente al aislado clínico de <i>P. aeruginosa</i>	130
Figura 131.	Lectura de los discos del extracto acuoso de hojas de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922 y al aislado clínico	132
Figura 132.	Lectura de los discos del extracto acuoso de la raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922 y al aislado clínico	133
Figura 133.	Lectura de los discos del extracto etanólico de hojas de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922 y al aislado clínico	135
Figura 134.	Lectura de los discos del extracto etanólico de la raíz de <i>P. divaricatum</i> G. Mey. frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922 y al aislado clínico	136

- Figura 135.** Lectura de los discos del extracto triclorometánico de hojas 138
de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al
aislado clínico
- Figura 136.** Lectura de los discos del extracto triclorometánico de la raíz 139
P. divaricatum G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al
aislado clínico

LISTA DE ABREVIATURAS

AE	Aceite esencial
ATCC	American Type Culture Collection (Colección de cultivos de tipo Americano)
Cm	Centímetro
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
G	Gramo
GC-MS	Gas chromatography - mass spectrometry (Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas)
H	Hojas
HPLC	High performance liquid chromatography (Cromatografía líquida de alta resolución)
Kg	Kilogramo
L	Litro
M	Metro
Mg	Miligramo
ml	Mililitro
Mm	Milímetro
µg	Microgramo
µm	Micrómetro
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>P. divaricatum</i>	<i>Piper divaricatum</i>
<i>P. obtusifolium</i>	<i>Piper obtusifolium</i>
R	Raíz
Rpm	Revoluciones por minuto
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
T.A.	Temperatura ambiente

RESUMEN

La resistencia bacteriana es un problema de salud pública, por lo que se ha convertido en una amenaza global que ocasiona que las infecciones causadas por bacterias resistentes se vuelvan cada vez más mortales. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo realizar el tamizaje fitoquímico y determinar la actividad antibacteriana de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922 y a sus aislados clínicos. Fueron utilizados los siguientes métodos: a) Tamizaje fitoquímico, y b) Método por Disco Difusión Kirby-Bauer. Resultados: En el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de ambas especies se encontró abundancia de: triterpenos y esteroides, carotenos, fenoles y taninos, lactonas, glicósidos cardiotónicos, flavonoides, catequinas, cumarinas fijas, quinonas, compuestos grasos, aminas y aminoácidos. Mediante el método por Disco Difusión Kirby-Bauer se estableció que ninguno de las concentraciones de los extractos presentó actividad antibacteriana frente a las cepas controles y a sus aislados clínicos, a las concentraciones de 125 mg/mL, 62,5 mg/mL y 31,25 mg/mL, porque todos los halos de inhibición obtenidos fueron iguales o inferiores a 15 mm, por lo cual fueron considerados resistentes.

Palabras clave: *P. obtusilimum* C.DC., *P. divaricatum* G. Mey., tamizaje fitoquímico, actividad antibacteriana, método por Disco Difusión Kirby-Bauer, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*.

ABSTRACT

Bacterial resistance is a public health problem, which is why it has become a global threat, causing infections caused by resistant bacteria to become increasingly deadly. The objective of this research work was to carry out phytochemical screening and determine the antibacterial activity of the aqueous, ethanolic and trichloromethane extracts of leaves and root of *P. obtusilimum* C.DC. and *P. divaricatum* G. Mey. against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922 and their clinical isolates. The following methods were used: a) Phytochemical screening, and b) Kirby-Bauer Disk Diffusion Method. Results: In the phytochemical screening of the ethanolic and trichloromethane extract of the leaves and roots of both species, an abundance of: triterpenes and steroids, carotenes, phenols and tannins, lactones, cardiotoxic glycosides, flavonoids, catechins, fixed coumarins, quinones, fatty compounds were found. , amines and amino acids. Using the Kirby-Bauer Disc Diffusion method, it was established that none of the concentrations of the extracts presented antibacterial activity against the control strains and their clinical isolates, at the concentrations of 125 mg/mL, 62.5 mg/mL and 31. 25 mg/mL, because all the inhibition halos obtained were equal to or less than 15 mm, for which they were considered resistant.

Keywords: *P. obtusilimum* C.DC., *P. divaricatum* G. Mey., Phytochemical screening, antibacterial activity, Kirby-Bauer Disk Diffusion method, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de diferentes enfermedades. Durante mucho tiempo los productos naturales y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso que satisfacía las necesidades de la atención primaria en salud. Actualmente, el estudio de especies vegetales con propiedades terapéuticas continua en crecimiento, por lo que su investigación se hace esencial debido a los principios activos que de ella se extraen (1).

Los metabolitos secundarios de las plantas del género *Piper*, son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional por su alto potencial terapéutico que presentan; entre otras, principalmente propiedades diuréticas, antiparasitarias, antioxidantes, antiinflamatorias, antiviral, contra mordidas de serpiente, insecticidas, antibacterianas y antifúngicas (2).

Las bacterias son microorganismos microscópicos que pueden vivir en todos los medios, como también se encuentran en el cuerpo de las personas y animales sin causar ningún daño. Bajo ciertas condiciones, la flora bacteriana residente causa enfermedades, comportándose como patógenas (3).

Actualmente el uso inadecuado de antibióticos frente a diferentes enfermedades causadas por microorganismos ha ocasionado que se originen resistencias bacterianas a diferentes fármacos (4).

La familia Piperaceae está constituida principalmente por hierbas que crecen como epífitas de plantas tropicales y subtropicales (5).

Las especies del género *Piper* son plantas aromáticas que se utilizan como especias en la cocina, pero sus metabolitos secundarios también han mostrado efectos biológicos sobre la salud humana (3).

El poco avance en el desarrollo de antibióticos pone de manifiesto la necesidad de explorar nuevas técnicas y métodos innovadores para tratar las infecciones bacterianas. Por consiguiente, el presente estudio buscó identificar cualitativamente metabolitos secundarios presentes en las hojas y raíz de las especies vegetales *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. para determinar su actividad antibacteriana frente a aislados clínicos y cepas de referencia de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

1.1.1 A nivel internacional

Kaveti, B., et al. (2011), en su estudio denominado “Antibacterial activity of *Piper betel* leaves”, evaluaron la actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Piper betel* L. frente a tres bacterias Grampositivas y dos bacterias Gramnegativas. Como estándar antibacteriano emplearon cloranfenicol. Encontraron que los dos extractos mostraron diferente grado de actividad contra los microorganismos investigados, siendo considerablemente más eficaz el extracto etanólico (6).

Al-Tememy, M. K., (2013), en su estudio denominado “Antibacterial activity of *Piper cubeba* Linn. Fruit extracts against selected bacterial pathogens in Basrah city”, evaluaron la actividad antibacteriana del extracto alcohólico, acetónico, clorofórmico y acuoso de los frutos de *Piper cubeba*. Encontraron que los extractos etanólico y acetónico mostraron mayor actividad antibacteriana frente a *S. aureus*; y que el extracto acuoso obtuvo mayor actividad inhibitoria frente a *E. coli* y *P. aeruginosa* (7).

Khan, A., et al.(2013), en su estudio titulado “Antibacterial activity of *Nigella sativa* and *Piper nigrum*”, utilizaron el método de difusión en disco y placa de pocillos de agar. Encontraron que el extracto acuoso y el extracto metanólico de las semillas y frutos tuvieron alta actividad contra *E. coli* y baja actividad frente a *P. aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*; asimismo, que el extracto metanólico de *P. nigrum* no mostró actividad frente a *S. aureus* (8).

Valle Jr, D. L., et al. (2015), en su artículo denominado “Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria”, evaluaron extractos etanólicos crudos de 12 plantas medicinales

para determinar su actividad antibacteriana frente a *S. aureus* Grampositivo resistente a la meticilina (SARM) y a *Enterococcus* resistente a la vancomicina. Encontraron que la especie vegetal *P. betle* mostró mayor actividad antibacteriana frente a estas bacterias en los ensayos de difusión en disco, con diámetros de halos de inhibición de 16 a 33 mm (9).

Madhumita, M., et al. (2019), en su estudio denominado “Extraction of *Betel* leaves (*Piper betle* L.) essential oil and its bio-actives identification: Process optimization, GC-MS analysis and anti-microbial activity”, realizaron la extracción del aceite esencial (AE) de las hojas de *P. betel* frescas y curadas. En la actividad antibacteriana demostraron que el AE de la hoja curada mostró una actividad antimicrobiana significativamente mayor frente a *Mycobacterium smegmatis* que el AE proveniente de la hoja fresca (10).

1.1.2 A nivel regional (América Latina)

Da Silva, J. K. R., et al. (2010), en su investigación denominada “Essential oil composition, antioxidant capacity and antifungal activity of *Piper divaricatum*”, determinaron que mediante la técnica de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS), los principales componentes del AE de *P. divaricatum* G. Mey., fueron: metil eugenol (63,8%) y eugenol (23,6%). El AE presentó concentraciones inhibitorias mínimas (CMI) frente a *Cladosporium cladosporioides* y *Cladosporium sphaerospermum* a las concentraciones de 0,5 µg y 5 µg, respectivamente (11).

Barbosa, Q. P., et al. (2012), en su artículo denominado “Chemical composition, circadian rhythm and antibacterial activity of essential oils of *Piper divaricatum*”, demostraron el alto contenido de safrol presente en las hojas (98%), frutos (87%) y tallos (83%), con rendimientos de 2; 4,8 y 1,7%, respectivamente. Asimismo, concluyeron que el AE de la hoja mostró actividad antibacteriana contra bacterias Gramnegativas, mientras que el

metabolito safrol fue activo frente a *Salmonella typhimurium* y *P. aeruginosa* (12).

Brazao, M. A. B., et al. (2014), en su estudio titulado “Antibacterial activity of the *Piper aduncum* oil and dillapiole, its main constituent, against multidrug-resistant strains”, evaluaron la actividad bactericida de los aceites esenciales de *Piper aduncum* frente a las cepas estándar y multirresistentes de *Staphylococcus* spp. Encontraron que el aceite mostró acción antimicrobiana frente a estas cepas, obteniendo mejores resultados para las cepas de *Staphylococcus epidermidis* y *S. aureus* (13).

Syahidah, A., et al. (2017), en su investigación titulada “Phytochemical analysis, identification and quantification of antibacterial active compounds in *Betel* leaves, *Piper betle* methanolic extract”, determinaron la composición química y la actividad antibacteriana del extracto metanólico de las hojas de *P. betle*. Mediante el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), establecieron presencia de hidroxycavicol y eugenol. Concluyeron que ambos compuestos fueron responsables de la actividad antibacteriana de las hojas de *P. betle* (14).

Avila, A. L. V., et al. (2018), en su estudio titulado “Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de *Piper auritum* Kunth”, identificaron en los extractos etanólicos de las hojas y raíces la presencia de terpenos, flavonoides, cumarinas, taninos y glucósidos cardiotónicos. En la actividad antibacteriana, mediante la técnica de los pocillos, encontraron que ambos extractos tenían actividad antibacteriana frente a *S. aureus* ATCC 25923 y *E. coli* ATCC 25922 (15).

1.1.3 A nivel local (Perú)

Arroyo, J., et al. (2011), en su artículo denominado “Estudio fitoquímico del extracto etanólico y de las fracciones de las hojas de *Piper aduncum*

“Matico””, realizaron el análisis fitoquímico de las fracciones de las hojas de esta especie vegetal, demostrando la presencia de: saponinas, taninos, quinonas, flavonoides y alcaloides (16).

Flores, K., Puente, A., (2016), en su trabajo titulado “Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Piper aduncum* “Matico””, aislaron la bacteria *E. coli*, a partir de una muestra de heces de un paciente diagnosticado con enterocolitis y aplicaron un antibiograma según la técnica de Kirby-Bauer. Emplearon discos embebidos con el AE de *P. aduncum*, como control negativo se utilizaron discos embebidos con agua destilada estéril, y como control positivo emplearon discos de sensibilidad conteniendo el antibiótico trimetropima/sulfametoxazol. Concluyeron que el AE no posee actividad antibacteriana frente a *E. coli* (17).

Salamanca-Rodriguez, S., Galiano-La Rosa, M. A., (2016), en su estudio denominado “Actividad antimicrobiana de cuatro especies del género *Piper* y elucidación estructural de sus aceites esenciales”, evaluaron la actividad antimicrobiana de cuatro especies del género *Piper* mediante el método de difusión en agar. Encontraron que los aceites esenciales de *Piper acutifolium*, *Piper callosum* y *Piper amalago* L., presentaban actividad antimicrobiana frente a *S. epidermidis* y *Bacillus cereus*; el extracto etanólico de *P. acutifolium* también mostró actividad frente a *Bacillus subtilis* con halos de inhibición >18 mm (18).

Díaz-Cieza, C., (2019), en su investigación denominada “Actividad antibacteriana “*in vitro*” del aceite esencial de Matico (*Piper aduncum*) sobre (*Staphylococcus aureus*)””, demostraron que el AE de *P. aduncum* obtuvo halos de inhibición con un promedio de 15,28 mm. Sin embargo, no superaron a los halos de inhibición obtenidos con el medicamento vancomicina, con la que obtuvieron halos de inhibición con un promedio de 18,4 mm. Concluyeron que el AE posee actividad antibacteriana frente a *S. aureus* ATCC 25923 (19).

Zavaleta-Espejo, G., et al. (2019), en su estudio titulado “Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Piper angustifolium* (Piperaceae) sobre *Proteus mirabilis*”, evaluaron la actividad antibacteriana del extracto empleando el método por Disco Difusión Kirby-Bauer. Utilizaron discos conteniendo tres concentraciones del extracto, discos con el control positivo (ciprofloxacino) y un disco con el control negativo. Como resultado, obtuvieron el mayor halo de inhibición (18,7 mm) a la mayor concentración. Concluyeron que el efecto varía según las concentraciones del mismo (20).

1.2 Bases Teóricas

El género *Piper* es uno de los géneros más grandes de la familia Piperaceae, con la mayoría de las especies ampliamente distribuidas a nivel mundial (21).

Las especies del género *Piper* son reconocidos fácilmente en el campo por sus brotes nudosos, inflorescencias picos, y su característico olor "picante" o aromático. Estos pueden ser hierbas, arbustos y con menos frecuencia lianas de hábitos anuales o perennes; glabras o con indumentum variado, frecuentemente punteado de glándulas, con tallos nudosos. Las hojas generalmente son alternas, a veces opuestas, simples, sésiles o pecioladas, con tamaño, forma y venación variables (22).

1.2.1 *P. obtusilimum* C.DC. (23)

1.2.1.1 Clasificación taxonómica de *P. obtusilimum* C.DC. (24,25)

Reino: Plantae

División: Magnoliopsida

Clase: Liliopsida

Familia: Piperaceae

Género: *Piper*

Especie: *P. obtusilimum* C.DC.

1.2.1.2 Descripción botánica

P. obtusilimum C.DC. es un arbusto de 2,5 m, umbrófilo. Presenta hojas glabras en la haz, esparcidamente pubescente en las areolas y densamente pubescente en los nervios de 1°, 2° y 3° orden en el envés, de 22 a 25 cm de ancho y 40 a 47 cm de largo en hojas de nudos floríferos, elípticas, medialmente simétricas; con ápice cortamente acuminado; base cordada, extensión basal asimétrica con el lobo basal sobrelapando el peciolo en nudos floríferos (sin sobrelaparlo en nudos estériles), ancho basal asimétrico, inserción basal asimétrico con un lado extendiéndose 0,7–1 cm más abajo en el peciolo (23).

Tiene nervios secundarios: 7–8 ramificándose a lo largo de toda la longitud de la lámina, broquidódromo festonados a reticulódromos. Con peciolo glabros a ocasionalmente pubescentes en el extremo distal, de 5–18 cm de largo, con margen peciolar hasta 1 cm antes de la inserción con la lámina. Espiga: péndula y pubescente; pedúnculo de 4–5 cm de largo; raquis de 15–35 (40) cm de largo (es común encontrarlo en 15–20 cm de largo ya que se parte por su peso). Flores blancas, con brácteas rojas y largos estigmas color café (23).

Figura 1. Especie vegetal *P. obtusilimum* C.DC. en su hábitat



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

1.2.1.3 Distribución y hábitat

-Se distribuye por Panamá, Ecuador Perú y Colombia, por debajo de los 500 m de altitud. Es una especie que se encuentra creciendo en el sotobosque de bosques húmedos tropicales de tierra firme. Se considera una especie poco tolerante a la luz, pues siempre se la ha visto desarrollándose bajo la cubierta del bosque (26).

1.2.1.4 Usos medicinales

Esta especie se utiliza popularmente como anestesia; la raíz se mastica para aliviar el dolor de dientes, la aplicación de las hojas sobre heridas es empleada como hemostático, otro uso dado es la cocción de las hojas; se usa como desinflamante lavando varias veces la parte afectada, el cocimiento de las hojas se toma como diurético (26).

1.2.2 *P. divaricatum* G. Mey. (27)

1.2.2.1 Clasificación taxonómica de *P. divaricatum* G. Mey. (28)

Reino: Plantae

División: Magnoliopsida

Clase: Liliopsida

Familia: Piperaceae

Género: *Piper*

Especie: *P. divaricatum* G. Mey.

1.2.2.2 Descripción botánica

P. divaricatum G. Mey. conocido popularmente también como palo de angola, jaborandi manso, "escarabajo" (29). Es un arbusto de 2 a 4 m de altura; posee ramas de 2 a 4 mm de diámetro, acanaladas, cilíndricas, lisas y

glabras. Tiene hojas con pecíolo de 0,4 a 1,2 cm de largo, acanaladas, cilíndricas, glabras; vaina basal; hoja 9,5-15,5 × 3,8-6,5 cm, verde decolorada, papirácea o membranosa, un lado difiere 2 a 3 mm del otro (30).

Por la otra cara presenta estigma ápice agudo o acuminado, contiene glabra a ambos lados; venas secundarias partiendo de la vena principal 5-8, insertadas desde la base hasta el tercio superior, o arriba, llegando al ápice del limbo, dirigidas hacia el ápice; Patrón nervioso eucaliptodrómico (30).

Posee oreja 4,5-7,7 × 0,4-1 cm, erecta, pendular o curvada, raquis glabra; pedúnculo de 0,5-0,8 cm de largo, glabro; bráctea floral redondeada, triangular, peluda, con flecos y peluda; flores sésiles; 4 estambres; ovario con estilete sésil, 3 estigmas (30) .

Figura 2. Especie vegetal *P. divaricatum* G. Mey. en su hábitat



Fuente: camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

1.2.2.3 Distribución y hábitat

Esta especie tiene una alta distribución en el noreste y sureste del sur América. Su dominio fitogeográfico es el Amazonas (31) .

1.2.2.4 Usos medicinales

Esta especie es empleada tradicionalmente como insecticida (32). Sus aceites esenciales en particular inhiben el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos que causan infecciones importantes en el hombre (33).

Las hojas y raíces se utilizan popularmente, cocidas para baños antirreumáticos y, en infusión, se utilizan internamente contra el dolor reumático y los cólicos (31).

1.2.3 Método para el análisis fitoquímico

1.2.3.1 Tamizaje fitoquímico

Es una técnica que se emplea para detectar metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, desde el punto de vista cualitativo y se basa en la realización de reacciones químicas con diferentes reactivos, donde la aparición de determinado color o precipitado coloreado o no, es indicativo de la presencia de un determinado metabolito (34).

Los tipos de metabolitos secundarios aislados de especies de piperáceas son mayormente amidas, fenilpropanoides, terpenos, flavonoides, crómenos, derivados de ácido benzoico y pironas (32).

1.2.4 Características de las cepas de estudio

1.2.4.1 *S. aureus*

1.2.4.1.1 Características de *S. aureus* (35)

Reino: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *Staphylococcus*

Especie: *S. aureus*

1.2.4.1.2 Descripción

Es un patógeno principal del ser humano, positivo a coagulasa. Son células esféricas de cerca de 1 μm de diámetro distribuidas en grupos irregulares. Son microorganismo no móviles. No forman esporas (36).

Crecen con mayor rapidez a 37°C, pero forman mejor pigmento a la temperatura ambiental (20 a 25 °C). Forman colonias de color gris a amarillo dorado intenso (36).

1.2.4.1.3 Patogenia

La capacidad patógena de una cepa determinada de *S. aureus* es el efecto combinado de los factores y las toxinas extracelulares simultáneamente, con las propiedades invasoras de las cepas. *S. aureus*, patógeno invasor que produce coagulasa y tiende a producir un pigmento amarillo y a ser hemolítico (36).

1.2.4.1.4 Resistencia

Los patógenos oportunistas clínicamente relevantes como *S. aureus* han adquirido resistencia contra múltiples antibióticos como la penicilina, la meticilina y la vancomicina. El *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) se ha convertido en un problema mundial y se detecta cada vez más en hospitales y comunidades. El componente lateral de la evolución del genoma microbiano (LGT/HGT) ha desempeñado un papel esencial en la conformación del contenido bacteriano y sus capacidades metabólicas (37).

El gen *MecA* de la bacteria es responsable de la resistencia a los antibióticos betalactámicos junto con sus proteínas reguladoras que se encuentran en el único elemento genético móvil llamado *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCCmec). Hasta ahora, se han identificado 12 tipos de SCCmec, designados como I a XII y diferentes subtipos se han identificado y la capacidad de resistencia de las especies varía en función de sus tipos de SCCmec (37–39).

1.2.4.2 *P. aeruginosa*

1.2.4.2.1 Características de *P. aeruginosa* (40,41).

Reino: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Pseudomonadales

Familia: Pseudomonadaceae

Género: *Pseudomonas*

Especie: *P. aeruginosa*

1.2.4.2.2 Descripción

Es un microorganismo saprófito, constituido por bastoncillos aerobios Gramnegativos, mótils, alguno de los cuales producen pigmentos solubles en agua. Coloniza al ser humano. Suele estar en cantidad pequeña en la flora intestinal normal y en la piel humana (40).

Es mótil y tiene forma de bastoncillo, mide más o menos 0,6 x 2 µm, bacteria Gramnegativa que se encuentra de manera aislada, en pares y, a veces, en cadenas cortas. Forman colonias muy mucoides como resultado de la producción excesiva del polisacárido alginato (40).

Se caracteriza por ser parte del grupo de no fermentadores que tienen en común la incapacidad de fermentar lactosa, con la capacidad de utilizar fuentes de carbono y nitrógeno así como acetato y amoníaco, obteniendo energía de la oxidación de azúcares (41).

Es un aerobio que crece con mucha facilidad en muchos medios de cultivos. Algunas cepas hemolizan la sangre. Forma colonias redondas, lisas, con color verdoso fluorescente. Con frecuencia, produce el pigmento azuloso no fluorescente piocianina, que se difunde en agar. Muchas cepas de *P. aeruginosa* elaboran también el pigmento fluorescente pioverdina, que imparte un color verdoso al agar. Algunas cepas producen el color rojo oscuro piorrubina, o el pigmento negro piomelanina (40).

1.2.4.2.3 Patogenia

Es patógena solo cuando se introduce en zonas desprovistas de defensas normales. La bacteria se fija a las mucosas y a la piel y las coloniza, las invade de manera local y produce enfermedad general (40). El flagelo de *P. aeruginosa* contiene la proteína flagelar FliD, que le confiere a la bacteria la capacidad de adherirse en la mucosa de las vías respiratorias (41). El

lipopolisacárido desempeña una función directa en la producción de fiebre, choque, oliguria, leucocitosis y leucopenia, coagulación intravascular diseminada y síndrome de dificultad respiratoria del adulto (40).

El pigmento denominado piocianina (un pigmento azul verdoso), uno de los factores de virulencia característico de *P. aeruginosa*, es un metabolito secretado que causa disfunción ciliar en el tracto respiratorio, provocando efectos pro-inflamatorios y oxidativos que daña a las células. mediante la disrupción de la catalasa y la cadena transportadora de electrones mitocondriales, jugando un efecto protector contra las especies reactivas de oxígeno y especies de nitrógeno producidas por células del sistema inmune (41).

1.2.4.2.4 Resistencia

Se han identificado en *P. aeruginosa* mutaciones en genes cromosomales que le confieren resistencia a penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos (41). Dichas mutaciones se encuentran en los genes involucrados en la síntesis de péptidoglucano (*ampD*, *dacB*, and *ampR*). Así mismo, las mutaciones específicas en *ampC* incrementan la resistencia a cefalosporinas antipseudomonas (41,42).

La resistencia a carbapenémicos como imipenem y meropenem se da mediante la impermeabilidad de la membrana externa gracias a una mutación en la codificación del gen *OprD* que disminuye la expresión de la proteína en este sitio. Se ha demostrado también que las mutaciones en los genes resultan en mutaciones en la ADN girasa (*GyrA7*, *GyrB*) y la topoisomerasa tipo IV (*ParC/ParE*) inducen la resistencia a fluoroquinolonas. También se ha encontrado que cepas que codifican para el gen *rmtA*, que metila la subunidad 16s ARNr, presentan resistencia a aminoglucósidos (41,42).

1.2.4.3 *E. coli*

1.2.4.3.1 Características de *E. coli* (40,43) .

Reino: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Escherichia*

Especie: *E. coli*

1.2.4.3.2 Descripción

Bastoncillos Gramnegativos cortos; parte de la flora normal y producen, de manera incidental, enfermedad. Son anaerobias o aerobias facultativas, que fermentan gran variedad de carbohidratos, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas y otros factores de virulencia (40).

Forman colonias circulares, convexas y lisas, con bordes definidos. Algunas cepas de *E. coli* producen hemólisis en agar sangre. Producen de manera típica, pruebas positivas a indol, descarboxilasa de la lisina y fermentación del manitol, así como formación de gas a partir de glucosa (40).

1.2.4.3.3 Patogenia

Produce de manera típica, hemólisis. Las infecciones son causadas mayormente por la *E. coli* con un número pequeño de antígeno O. El antígeno K parece ser importante en la patogenia de la infección de las vías urinarias superiores. La pielonefritis se relaciona con un tipo de pilus, el pilus P, que se fija a la sustancia de grupo sanguíneo P (40).

1.3 Definición de términos básicos

Tamizaje fitoquímico: Método para determinar la presencia o ausencia de los principales grupos de metabolitos en una especie vegetal (44).

Actividad antibacteriana: Es la efectividad antibacteriana que presenta un compuesto y la susceptibilidad de bacterias frente a las concentraciones conocidas de los antibióticos (45).

Aislado clínico: Muestra biológica de un paciente clínico, tomada para la identificación del presunto agente etiológico y determinación de su sensibilidad in vitro a los antimicrobianos (46).

Extracto: Son concentrados obtenidos por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados; extraídos bajo diferentes condiciones de obtención (47,48) .

Extracto acuoso: Concentrado obtenido a partir de la maceración de la especie vegetal con agua destilada (49).

Extracto etanólico: Concentrado obtenido a partir de la maceración de la especie vegetal con etanol (50).

Extracto triclorometánico: Concentrado obtenido a partir de la maceración de la especie vegetal con triclorometano (51).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1 Formulación de la hipótesis

Los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. presentan actividad antibacteriana frente a aislados clínicos y cepas controles de *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27856 y *E. coli* ATCC 25922, mediante el método de Disco de Difusión Kirby-Bauer.

2.2 Variables y su operacionalización

2.2.1 Variable independiente

Extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y de *P. divaricatum* G. Mey.

2.2.2 Variable dependiente

Actividad antibacteriana.

2.2.3 Operacionalización de las variables

La operacionalización de las variables se muestra en las Tablas 1 y 2:

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Tabla 1. Variable independiente

Variable independiente	Definición conceptual	Tipo de variable por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categoría	Valor de la categoría	Medio de verificación
Extracto acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de <i>P. obtusilimum</i> C.DC. y de <i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Extracto obtenido a partir de la maceración de la especie vegetal con agua, etanol y triclorometano.	Cuantitativa	Concentración (mg/mL)	Ordinal	Bajo	31,25 mg/mL	Ficha de registro
					Medio	62,5 mg/mL	
					Alto	125 mg/mL	

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 2. Variable dependiente

Variable dependiente	Definición conceptual	Tipo de variable por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categoría	Valor de la categoría	Medio de verificación
Actividad antibacteriana	Capacidad que presenta un compuesto para inhibir el crecimiento bacteriano en ensayos <i>in vitro</i>	Cualitativa	Halo de inhibición (mm)	Nominal	Resistente (R) Intermedio (I) Sensible (S)	<15 mm 16 a 20 mm > 21 mm	Ficha de registro

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1 Diseño metodológico

Se aplicó un diseño experimental-analítico, prospectivo y transversal.

Experimental-analítico: Porque se realizaron comparaciones de la variable en estudio, entre los grupos experimentales y el control.

Prospectivo: Porque en el registro de la información se tuvieron en cuenta los hechos a partir de la fecha de ejecución.

Transversal: Porque se estudiaron las variables en función del tiempo.

3.2 Diseño muestral

Se ejecutó la identificación de los metabolitos secundarios de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de las especies vegetales *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey., mediante el tamizaje fitoquímico. Asimismo, se estableció la actividad antibacteriana de ambas especies vegetales frente a microorganismos ATCC y aislados clínicos, utilizando para ello el método de Disco Difusión Kirby-Bauer.

3.2.1 Población vegetal

Las hojas y raíces de *P. obtusilimum* C.DC. y de *P. divaricatum* G. Mey. fueron recolectados en el Km 5,3 de la Carretera Iquitos-Nauta, perteneciente al distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas, Departamento Loreto. ubicado geográficamente por el sur 9577460 y por el oeste 0686844.

Se recolectó un 1 Kg tanto de las hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.

3.2.1.1 Criterios de selección

3.2.1.1.1 Criterios de inclusión

- Material vegetal con una correcta identificación taxonómica.
- Hojas sanas y frescas.
- Raíces sanas y libres de hongos y moho.
- Hojas y raíces en buen estado de conservación.

3.2.1.1.2 Criterios de exclusión

- Material vegetal que no obtenga una correcta identificación taxonómica.
- Hojas enfermas.
- Raíces enfermas e infestados con hongos y moho.
- Hojas y raíces en mal estado de conservación.

3.2.2 Población bacteriana

Está constituida por las cepas bacterianas puras de *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922, procedentes del Laboratorio MICROBIOLOGIC con sede en la ciudad de Lima y aislados clínicos de estas tres bacterias procedentes de la Clínica Adventista Ana Stahl.

3.2.2.1 Criterios de selección

3.2.2.1.1 Criterios de inclusión

- Colonias sin presencia de contaminantes
- Colonias que posean las características microscópicas y macroscópicas del microorganismo.
- Colonias de bacterias jóvenes.

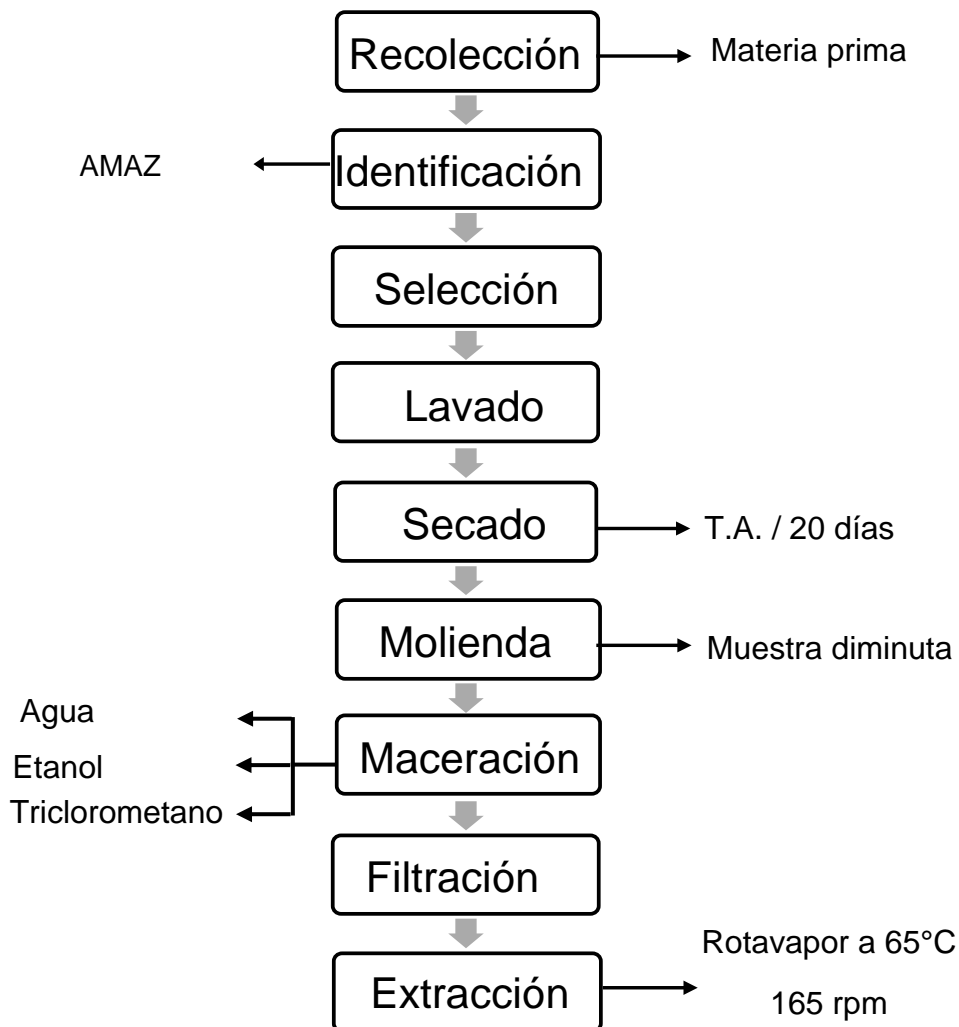
3.2.2.1.2 Criterios de exclusión

- Colonias con presencia de contaminantes.
- Colonias que no posean las características microscópicas y macroscópicas del microorganismo.
- Colonias adultas (con un tiempo de incubación mayor a las 24 horas).

3.3 Procedimientos de recolección de datos

3.3.1 Flujograma de obtención de los extractos de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.

Figura 3. Flujograma de obtención de los extractos



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.2 Descripción de la obtención de los extractos

3.3.2.1 Recolección de las materias primas vegetales

La recolección de las hojas y raíces de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey., se realizó en el Km 5,3 de la Carretera Iquitos-Nauta (cerca al centro poblado Quistococha), durante los meses de agosto y setiembre del 2020. Después se tomó una muestra de cada especie y se llevó al Herbarium Amazonense (AMAZ) para su posterior identificación.

Figura 4. Recolección de las especies vegetales



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.2.2 Identificación de las especies vegetales

Se llevó a cabo en el AMAZ, entidad que emitió la constancia indicando el código, familia y nombre científico de ambas especies vegetales, bajo la asesoría del especialista botánico responsable (Tabla 3).

Tabla 3. Identificación de las especies vegetales

Familia	Especie vegetal
Piperaceae	<i>P. obtusilimum</i> C.DC.
Piperaceae	<i>P. divaricatum</i> G. Mey.

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.2.3 Tratamiento de la especie vegetal

Se seleccionaron las hojas mediante los criterios de inclusión, posteriormente se realizó el lavado con agua corriente para eliminar todas las impurezas de la muestra recolectada; después, para garantizar el correcto lavado se enjuagó con agua destilada.

Figura 5. Lavado de las muestras



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Se ejecutó el secado a temperatura ambiente durante 20 días bajo sombra, removiendo tres veces al día para favorecer el secado. Se acondicionó con una tela para facilitar el flujo de aire.

Figura 6. Secado de las hojas de *P. obtusilimum* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 7. Secado de las hojas de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.2.4 Molienda

En cada especie se efectuó la molienda de sus respectivos órganos en estudio con ayuda de un molino manual, reduciendo el tamaño de las muestras en lo más mínimo, para que favorezca el contacto entre la muestra y el solvente (Figura 8). Posteriormente, se realizó el pesado de las muestras, obteniendo así el peso inicial (Tabla 4).

Figura 8. Molienda de las hojas de *P. obtusilimum* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 4. Pesos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. según el solvente utilizado

Especie y órgano	Peso de la muestra	Solvente
<i>P. obtusilimum</i> Hojas	16g	750 mL Agua
	149 g	600 mL Etanol
	149 g	600 mL Triclorometano
<i>P. obtusilimum</i> Raíz	28 g	1000 mL Agua
	122,5 g	600 mL Etanol
	122,5 g	600 mL Triclorometano
<i>P. divaricatum</i> Hojas	29g	1000 mL Agua
	250 g	600 mL Etanol
	250 g	600 mL Triclorometano
<i>P. divaricatum</i> Raíz	28 g	1000 mL Agua
	200 g	600 mL Etanol
	200 g	600 mL Triclorometano

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.2.5 Maceración

Las muestras secas y molidas de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey., fueron pesadas y maceradas separadamente con los solventes agua, etanol y triclorometano. Posteriormente, los macerados fueron almacenados en frascos de vidrio de color ámbar. Luego fueron rotulados y conservados en un lugar seco y fresco. El proceso de maceración duró tres meses (Figura 9).

Figura 9. Maceración de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. en etanol y triclorometano



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Para la preparación del extracto acuoso, las muestras de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y de *P. divaricatum* G. Mey., pasaron por un proceso de infusión y decocción para, posteriormente, ser llevadas al liofilizador y así obtener los extractos acuosos. Este procedimiento se realizó en el Laboratorio de Química de Productos Naturales del IIAP.

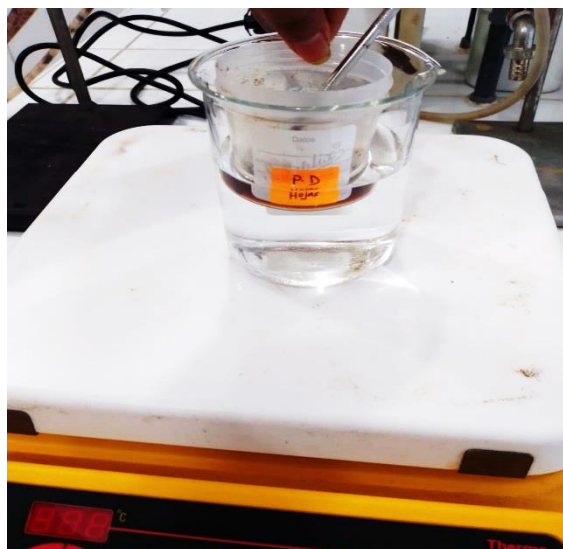
Los pasos para la obtención del extracto acuoso fueron los siguientes: Calentamiento (por cinco minutos en una cocina eléctrica), congelamiento (24 horas en una congeladora), secado al vacío (temperatura ambiente) y secado principal (en el liofilizador durante 72 horas) (Figuras 10-14).

Figura 10. Extractos acuosos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 11. Calentamiento de los extractos acuosos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 12. Congelamiento de los extractos acuosos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 13. Extractos acuosos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. en el liofilizador



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 14. Extractos acuosos liofilizados de hojas de *P. obtusilimum* C.DC. y de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Los extractos acuosos después de la liofilización pasaron por un proceso de lavado con etanol, éter y agua, esto debido a la gran viscosidad que presentaron las muestras. Para tal objetivo, se disolvió una alícuota de cada extracto en 4 mL de etanol, después se adicionó 4 mL de agua destilada y se agitó. Por último, se añadió 5 mL de éter y se centrifugó a 500 rpm durante 10 minutos. Se repitió la adición de éter hasta que el sobrenadante quedó transparente.

3.3.2.6 Filtrado

Terminado el tiempo de maceración, se filtraron los macerados con ayuda de un embudo con gasa; posteriormente se filtró con papel filtro como se observa en la Figura 15.

Figura 15. Filtración de los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.2.7 Obtención de los extractos

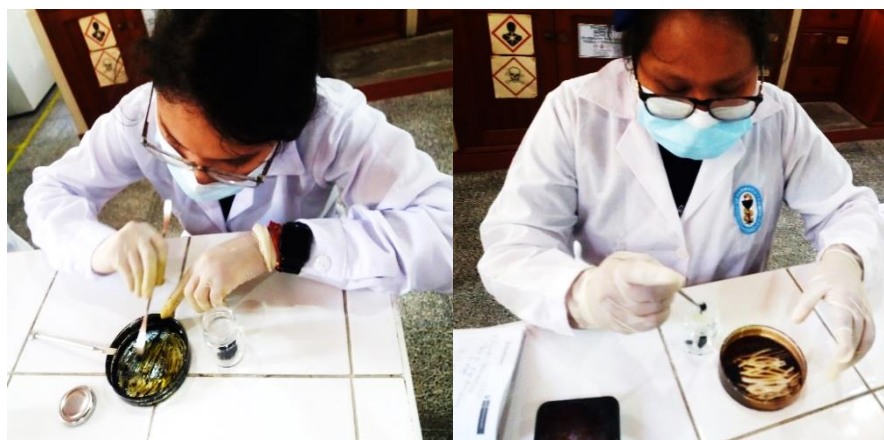
Para la obtención de los extractos se llevó al rotavapor a una temperatura de 65°C con una velocidad de 165 rpm. Posteriormente obtenidos los extractos fueron colocados en placas Petri y secados a temperatura ambiente durante tres días. Una vez secadas las muestras fueron raspadas y llevadas a frascos previamente pesados para realizar después el cálculo del porcentaje de rendimiento. Finalmente, para garantizar la conservación de las muestras, se rotularon y sellaron herméticamente los envases (Figuras 16 y 18).

Figura 16. Secado de los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 17. Raspado de los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 18. Extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.2.8 Obtención del porcentaje de rendimiento

Para realizar los cálculos del porcentaje de rendimiento de cada extracto, se empleó la siguiente fórmula:

$$\%Rendimiento = \frac{\text{Peso de extracto}}{\text{Peso de la muestra total}} \times 100$$

3.3.3 Tamizaje fitoquímico

El análisis fitoquímico se realizó conforme el protocolo del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales (CIRNA-UNAP), que fue estandarizado en el Laboratorio de Fitoquímica del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonía de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (LIPNAA-UNAP), mediante el método de Schabra y cols. (1984). La identificación de los metabolitos secundarios se desarrolló a través de reacciones químicas, obteniéndose como resultado manifestaciones sensibles como cambio de color, formación de precipitado o desprendimiento de gas, indicando así la presencia o ausencia de un determinado metabolito secundario.

Para realizar este procedimiento se procedió a obtener tres patrones de cada uno de los extractos según las rutas, que son:

3.3.3.1 Ruta 1: dilución etanólica

Una alícuota de los extractos acuosos, etanólicos y triclorometánicos se diluyeron en etanol, se filtraron en tubos de ensayos patrones y se separaron en ocho tubos de ensayos para cada extracto, para su posterior identificación cualitativa.

3.3.3.1.1 Identificación para alcaloides (ensayo de Dragendorff-Mayer-Hager- Warner)

A cuatro tubos de ensayos de cada extracto previamente rotulados, se les añadió 1 mL de ácido clorhídrico al 1% y se agitó, inmediatamente al primer tubo se le adicionó 3 ó 4 gotas del reactivo de Dragendorff; al segundo tubo se agregó 3 ó 4 gotas del reactivo de Mayer; al tercer tubo, 3 ó 4 gotas del reactivo de Hager; al cuarto tubo se adicionó 3 ó 4 gotas del reactivo de Warner. Se disolvieron y se los dejó reposar (52).

- **Primer tubo (Dragendorff):** La reacción se considera positiva cuando existe presencia de precipitado de color rojo ladrillo.
- **Segundo tubo (Mayer):** La reacción se considera positiva cuando existe presencia de precipitado crema.
- **Tercer tubo (Hager):** La reacción se considera positiva cuando existe presencia de precipitado amarillo.
- **Cuarto tubo (Warner):** La reacción se considera positiva cuando existe presencia de precipitado cuya coloración varía entre café claro, rojo o pardo oscuro.

Figura 19. Tamizaje fitoquímico de los extractos acuosos, etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.3.1.2 Identificación de fenoles y taninos (ensayo de cloruro férrico)

En el quinto tubo de ensayo de cada extracto, se adicionó 1 a 2 gotas de una solución de cloruro férrico al 5% en solución salina (cloruro de sodio al 85%). La presencia de un precipitado o coloración verde a rojo indica que la reacción es positiva para fenoles; la manifestación de un color o precipitado azul a negro, indica presencia de taninos (52).

3.3.3.1.3 Identificación de aminoácidos y aminos (ensayo de ninhidrina)

En el sexto tubo de ensayo de cada extracto, se añadió 1 mL de disolución de ninhidrina al 5% en etanol, luego se llevó a baño maría durante 5 a 10 minutos. La aparición de una coloración azul violácea indica la presencia de aminos y/o aminoácido (52).

3.3.3.1.4 Ensayo para saponinas (ensayo de espuma)

En el séptimo tubo de ensayo de cada extracto, se adicionó 10 mL de agua destilada y se agitó la mezcla fuertemente durante dos minutos, después se dejó reposar. Si la aparición de espuma es persistente por más de 2 minutos, se considera resultado positivo (52).

3.3.3.1.5 Identificación de lactonas (ensayo de Balijet)

En el octavo tubo de ensayo de cada extracto, se añadió 1 mL de una mezcla de ácido pícrico al 1% en etanol y 1 mL de hidróxido de sodio al 10% en agua. La presencia de agrupamiento lactónicos se indica con la aparición de un color o precipitado rojo anaranjado (52).

3.3.3.1.6 Identificación de catequinas

En un papel filtro con la ayuda de un capilar se sembró dos puntos de la muestra del patrón etanólico de cada extracto, y en uno se sembró un punto de carbonato de sodio; después se visualizó en una lámpara ultravioleta de 115 V 60 Hz. La presencia de una mancha verde carmelita a la luz UV en el punto donde se sembró la muestra con carbonato de sodio, indica un resultado positivo (52).

3.3.3.1.7 Identificación de cumarinas fijas

Se sembró en un papel filtro dos puntos de la muestra del patrón etanólico de cada extracto. En uno de los puntos se sembró un punto de hidróxido de potasio; después se visualizó en una lámpara ultravioleta de 115 V 60 Hz. La presencia de una mancha fluorescencia amarillo verdosa a la luz UV en el punto donde se sembró la muestra con hidróxido de potasio, indica un resultado positivo (52).

3.3.3.2 Ruta 2: clorofórmica

Se tomó una alícuota de los extractos acuoso, etanólico y se diluyeron en cloroformo, se filtraron en los tubos de ensayos patrones, y se separó en dos tubos de ensayos de cada extracto para su posterior identificación (52).

3.3.3.2.1 Identificación de esteroides y triterpenos (Ensayo de Liebermann-Buchard)

En el primer tubo de cada extracto, se agregó 1 mL de anhídrido acético, al instante se añadió 3 ó 4 gotas de ácido sulfúrico concentrado por la pared del tubo de ensayo y se agitó. La presencia de coloración verde a azul se considera positivo para las estructuras esteroidales; y rosado o púrpura para estructuras triterpénicas (52).

3.3.3.2 Identificación de quinonas (ensayo de Börntrager)

En el segundo tubo de ensayo de cada extracto, se agregó 1 mL de la solución de hidróxido de sodio al 5%, se agitó fuertemente y se dejó reposar. Se caracteriza por la formación de una fase alcalina y otra clorofórmica. La presencia de una fase sobrenadante de color rosa a rojo intenso es considerada como positivo (52).

3.3.3.3 Ruta 3: etanol/agua

Se preparó una solución hidroalcohólica (etanol: agua 1:7), la cual se utilizó para diluir una alícuota de los extractos etanólico, diclorometánico y etéreo; luego se filtró en los tubos de ensayos patrones, después se repartió en dos tubos de ensayo de cada extracto para su posterior identificación (52).

3.3.3.3.1 Identificación de naftoquinona y antraquinona (ensayo de Bornträger-Kraus)

En el primer tubo de ensayo de cada extracto se añadió cinco gotas de peróxido de hidrógeno y dos gotas de ácido sulfúrico, se procedió a calentar a baño maría, luego se alcalinizó con hidróxido de amonio al 2% y se dejó en reposo. El ensayo se considera positivo cuando en las fases que se separan, la capa alcalina (inferior) adquiere una coloración que va del rosado al rojo intenso (52).

3.3.3.3.2 Identificación de flavonoides (ensayo de Shinoda)

En el segundo tubo de ensayo de cada extracto se adicionó un trozo de cinta de magnesio, después se adicionó 1 mL de ácido clorhídrico concentrado por las paredes del tubo de ensayo hasta que se desprenda el hidrogeno. La presencia de una coloración rojiza, violeta o anaranjada se considera positivo para flavonoides (52).

3.3.4 Determinación de la actividad antibacteriana

Para la determinación de la sensibilidad de las cepas ATCC y aislados clínicos de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, frente a las concentraciones de 125 mg/mL, 62,5 mg/mL y 31,25 mg/mL, respectivamente, de los extractos de las especies *Piper obtusifolium* C.DC. y *Piper divaricatum* G. Mey., se utilizaron como control positivo los siguientes discos de sensibilidad (antibiótico):

- ✓ Para *S. aureus*: ampicilina, penicilina y oxacilina;
- ✓ Para *P. aeruginosa*: gentamicina;
- ✓ Para *E. coli*: ampicilina, gentamicina y sulfametozaxol/trimetoprima.

3.3.4.1 Preparación de las concentraciones de los discos

Se emplearon tres concentraciones (125 mg/mL, 62,5 mg/mL y 31,25 mg/mL) de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de las hojas y raíces de *P. obtusifolium* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.. Estas concentraciones fueron diferentes para el caso del extracto acuoso de las hojas y raíces de *P. obtusifolium* C.DC, debido a la poca cantidad de muestra vegetal recolectada. Por tal motivo, fueron empleadas las concentraciones de 10,5 mg/mL, 5,25 mg/mL y 2,63 mg/mL del extracto acuoso de las hojas de *P. obtusifolium* C.DC en los ensayos de sensibilidad antibacteriana *in vitro*. En el caso de las raíces de esta misma especie vegetal, fueron utilizadas las concentraciones de 14 mg/mL, 7 mg/mL y 3,5 mg/mL, respectivamente, del extracto acuoso. Las soluciones de trabajo se cerraron herméticamente, se rotularon y almacenaron entre 2 y 8°C hasta su utilización.

Figura 20. Preparación de las diferentes concentraciones de los extractos acuosos, etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.4.2 Preparación de los discos de sensibilidad

Se prepararon discos de papel filtro de 6,6 mm de diámetro, empleando papel Whatmann N° 90, los cuales fueron previamente esterilizados en autoclave. Luego, de su secado y enfriamiento, fueron cargados con 10 μ L de cada concentración de cada uno de los extractos vegetales.

Figura 21. Discos de sensibilidad estériles confeccionados con papel filtro



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.4.3 Preparación del estándar 0,5 de McFarland

En un tubo con tapa rosca se preparo 10 mL del estándar 0,5 McFarland, para lo cual se adicionó 0,5 mL de una solución de BaCl_2 1% a 9,95 mL de una solución de H_2SO_4 1%. Después se rotuló y se almacenó a temperatura ambiente protegidos de la luz.

3.3.4.4 Preparación del medio de cultivo Caldo Soya Trypticasa

El medio de cultivo fue preparado a partir de la base deshidratada, se disolvió 30 g de polvo en 1 L de agua destilada, luego se dejó reposar durante 5 minutos (Figura 22).

Figura 22. Preparación del medio de cultivo caldo soya tripticasa



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.4.5 Preparación del medio de cultivo Agar Soya Trypticasa

El medio de cultivo fue preparado a partir de la base deshidratada, disolviendo 40 g de polvo en 1 L de agua destilada. Luego se dejó reposar durante 5 minutos. Seguidamente se calentó la solución en baño María por 1 ó 2 minutos, agitando suavemente, hasta su disolución total. Después se distribuyó en recipientes apropiados para esterilizar la disolución en autoclave.

3.3.4.6 Preparación del medio de cultivo Agar Mueller-Hinton

El medio de cultivo fue preparado a partir de la base deshidratada, disolviendo 38 g de polvo en 1 L de agua destilada, luego se calentó la solución en baño maría, agitando suavemente, hasta su disolución total.

Figura 23. Preparación del medio de cultivo agar Mueller-Hinton



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Seguidamente se distribuyó 15 mL de la solución preparada en tubos de ensayo apropiados para esterilización en autoclave.

Figura 24. Plaqueo del medio de cultivo agar Mueller-Hinton



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.4.7 Preparación del inóculo

De los cultivos de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli* se seleccionaron tres colonias del mismo tamaño y morfología. Cada colonia fue sembrada en un tubo de ensayo conteniendo Caldo Soya Trypticasa; posteriormente se llevaron a incubar durante 24 horas a una temperatura de 37°C.

Figura 25. Selección de tres colonias del mismo tamaño y morfología de la especie bacteriana



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Luego el cultivo obtenido de cada bacteria, se replicó en placas con Agar Soya Trypticasa, el cual se sembró por estrías y por duplicado, y se incubó durante 24 horas a una temperatura de 37°C para obtener cultivos jóvenes. Después del tiempo de incubación, con ayuda de una aza bacteriológica se transfirió cada colonia bacteriana a un tubo de ensayo conteniendo 3 mL de NaCl 0,9%. La turbidez de cada suspensión bacteriana fue ajustada a la turbidez del estándar 0,5 de la escala de McFarland mediante comparación visual.

Figura 26. Ajuste de la turbidez de la suspensión bacteriana con la turbidez del estándar 0,5 de Mc Farland



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.4.8 Inoculación de las placas

Una vez preparado el inóculo, se sumergió un hisopo estéril en cada suspensión bacteriana. Luego fue diseminado en las superficies de las placas de agar Mueller-Hinton, en ángulo de 60°, asegurando la distribución uniforme del inóculo. Finalmente, se esperó de 3 a 5 minutos después que las placas Petri fueron inoculadas.

Figura 27. Inoculación de las placas de agar Mueller-Hinton con las bacterias en estudio



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.4.9 Aplicación y distribución de los discos

Se aplicaron los discos esteriles impregnados con las tres concentraciones ensayadas de cada extracto de las especies de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. sobre la superficie del agar Mueller-Hinton, y para asegurar la adherencia de la superficie con el agar se presionó suavemente con la ayuda de una pinza estéril. Luego de la aplicación de los discos, se incubaron las placas en posición invertida a 35°C durante 18 horas.

Figura 28. Distribución de los discos de sensibilidad



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.3.4.10 Lectura de las placas e interpretación de los resultados.

Culminado el tiempo de incubación, se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición que se obtuvieron en los ensayos. Esto se realizó con la ayuda de una regla milimétrica sobre una superficie oscura pero bien iluminada. Es importante mencionar que no se incluyó velo de crecimiento o colonias muy pequeñas detectadas en el borde de las zonas.

Figura 29. Lectura de las placas



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

3.4 Procesamiento y análisis de los datos

Se elaboraron tablas y gráficos en el Programa Microsoft office Excel 2019.

3.1. Aspectos éticos

En el LIPNAA/UNAP y en el Laboratorio de Química de Productos Naturales del IIAP, se eliminaron correctamente los desechos de los productos químicos utilizados en la parte fitoquímica, evitando la contaminación ambiental.

En el Laboratorio de Investigación de Microbiología del CIRNA/UNAP, Se empleó un método alternativo *in vitro* de mayor sensibilidad. Además se emplearon estrictas normas de bioseguridad con la finalidad de garantizar resultados confiables y evitar la contaminación con los productos biológicos que pueden ocasionar enfermedades infecciosas.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Porcentaje de rendimiento de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *Piper divaricatum* G. Mey.

Tabla 5. Rendimiento del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.

Nombre científico	Parte utilizada	Rendimiento %
<i>P. obtusilimum</i> C.DC.	Hojas	8,94
<i>P. obtusilimum</i> C.DC.	Raíz	5,41

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 5, se muestran los porcentajes de rendimiento del extracto acuoso de hojas y raíz del *P. obtusilimum* C.DC., observándose que el mayor porcentaje de rendimiento se encuentra en las hojas, con el 8,94%; mientras que la raíz tienen un rendimiento del 5,41%.

Tabla 6. Rendimiento del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.

Especie vegetal	Parte utilizada	Rendimiento %
<i>P. obtusilimum</i> C.DC.	Hojas	7,38
<i>P. obtusilimum</i> C.DC.	Raíz	2,98

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 6, se muestran los porcentajes de rendimientos del extracto etanólico de hojas y raíz del *P. obtusilimum* C.DC., observándose que el mayor porcentaje de rendimiento se encontró en las hojas, con el 7,38%; mientras que la raíz presentó un porcentaje de rendimiento del 2,98%.

Tabla 7. Rendimiento del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.

Especie vegetal	Parte utilizada	Rendimiento %
<i>P. obtusilimum</i> C.DC.	Hojas	5,54
<i>P. obtusilimum</i> C.DC.	Raíz	1,54

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 7, se muestran los porcentajes de rendimiento del extracto triclorometánico de hojas y raíz del *P. obtusilimum* C.DC., observándose que el mayor porcentaje de rendimiento se encontró en las hojas con el 5,54%, mientras que la raíz presentó un porcentaje de rendimiento del 1,54%.

Tabla 8. Rendimiento del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.

Nombre científico	Parte utilizada	Rendimiento %
<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Hojas	10,47
<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Raíz	4,06

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 8, se muestran los porcentajes de rendimiento del extracto acuoso de hojas y raíz del *P. divaricatum* G. Mey., observándose que el mayor porcentaje de rendimiento se encuentra en las hojas con el 10,47%, mientras que la raíz presenta un rendimiento del 4,06%.

Tabla 9. Rendimiento del extracto etanólico de las hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.

Nombre científico	Parte utilizada	Rendimiento %
<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Hojas	18,32
<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Raíz	7,29

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 9, se muestran los porcentajes de rendimiento del extracto etanólico de hojas y raíz del *P. divaricatum* G. Mey., observándose que el mayor porcentaje de rendimiento se encuentra en las hojas, con el 18,32%, mientras que la raíz presenta el 7,29%.

Tabla 10. Rendimiento del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey

Nombre científico	Parte utilizada	Rendimiento %
<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Hojas	22,4
<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Raíz	2,79

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 10, se muestran los porcentajes de rendimiento del extracto triclorometánico de hojas y raíz del *P. divaricatum* G. Mey., observándose que el mayor porcentaje de rendimiento se encontró en las hojas con el 22,4 %, mientras que la raíz presentó un porcentaje de rendimiento del 2,79%.

4.2 Tamizaje fitoquímico

4.2.1 Tamizaje fitoquímico de hojas y raíz de los extractos acuoso, etanólico y triclorometano de *P. obtusilimum* C.DC.

Tabla 11. Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.

<i>P. obtusilimum</i> C.DC.	Extracto acuoso	
	Hojas	Raíz
Alcaloides	-	-
Triterpeno y/o esteroide	-	+
Antraquinona hidroxilada	+	+
Naftoquinona y antraquinona	-	-
Flavonoides	+	++
Quinonas	-	-
Leucoantocianidina	+	-
Carotenos	-	-
Glicósidos cardiotónicos	-	-
Fenoles y/o taninos	-	-
Lípidos	+	+
Aminas y/o aminoácidos	-	-
Saponinas	++	+
Lactonas	+	++
Azúcares reductores	+	+
Cumarinas fijas	+	++
Catequina	-	+

Resultados: (+++) Abundante; (++) moderado; (+) levemente; (-) negativo.

Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitario de la Amazonía – CIRNA – UNAP.

En la Tabla 11, se observa que en el extracto acuoso de las hojas de *P. obtusilimum* C.DC., se encontró presencia moderada de saponinas y leve presencia de antraquinona hidroxilada, flavonoides, leucoantocianidina, lípidos, lactonas, azúcares reductores y cumarinas fijas. No presentó alcaloides, triterpenos/esteroides, naftoquinona/antraquinona, quinonas, carotenos, glicósidos cardiotónicos, fenoles/taninos, aminas /aminoácidos ni catequina.

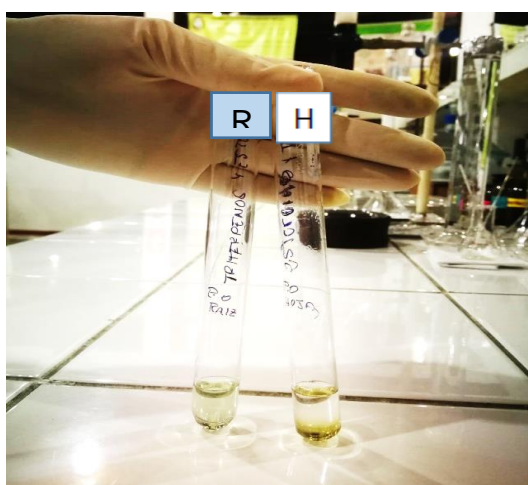
De otro lado, en el extracto acuoso de la raíz se encontró moderada presencia de flavonoides, lactonas y cumarinas fijas; así como leve presencia de triterpenos/esteroides, antraquinona hidroxilada, lípidos, saponinas, azúcares reductores y catequinas. No presentó alcaloides, naftoquinona/antraquinona, quinonas, leucoantocianidinas, carotenos, glicósidos cardiotónicos, fenoles/taninos ni aminos/aminoácidos.

Figura 30. Identificación de alcaloides en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



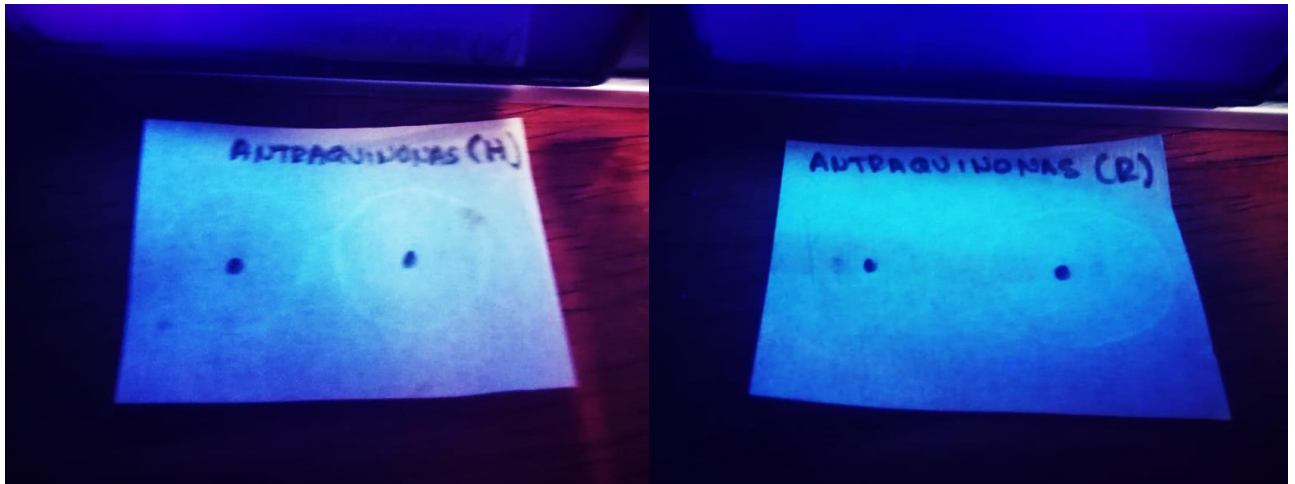
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 31. Identificación de triterpenos y/o esteroides en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



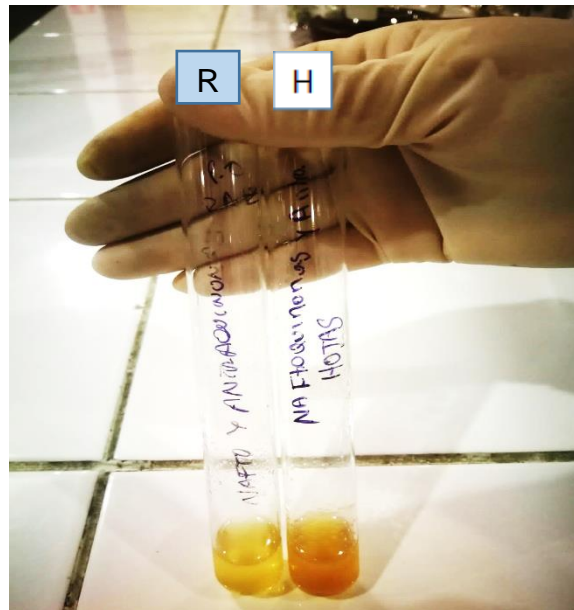
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 32. Identificación de antraquinona hidroxilada en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



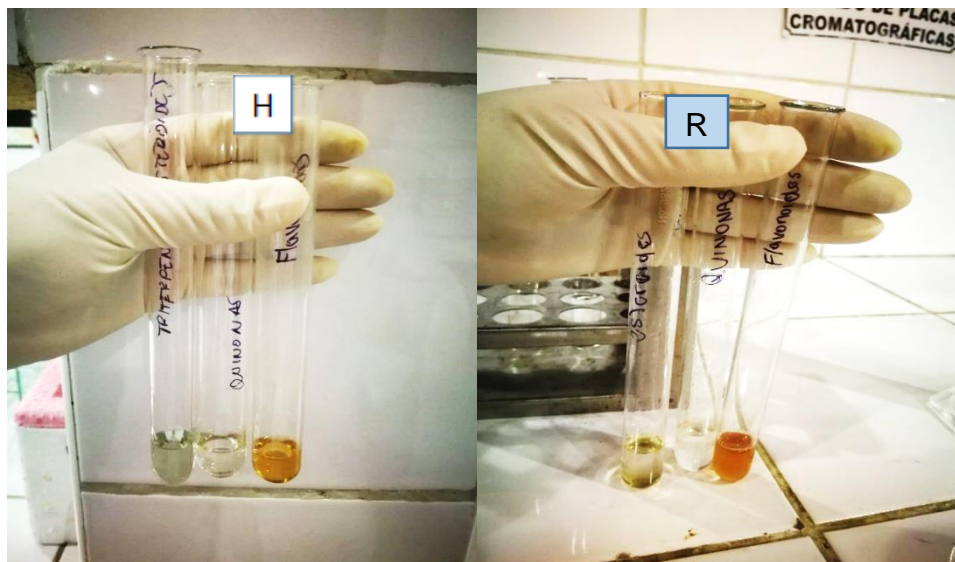
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 33. Identificación de naftoquinona y antraquinona en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



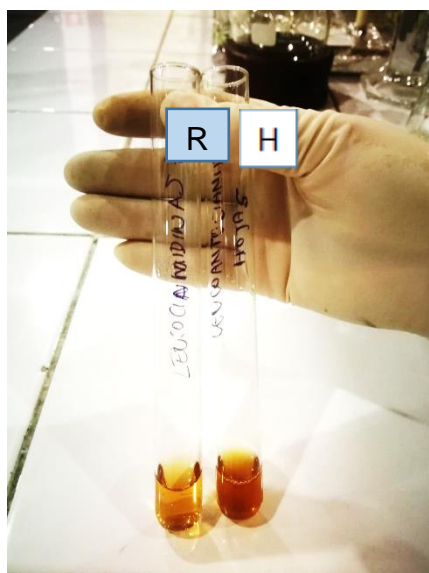
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 34. Identificación de triterpenos y/o esteroides, quinonas y flavonoides en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



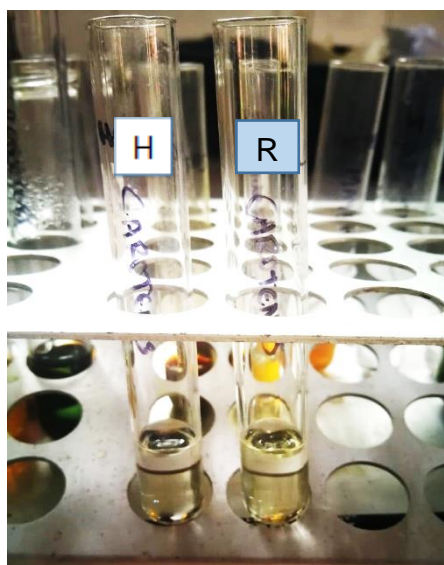
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 35. Identificación de leucoantocianidina en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



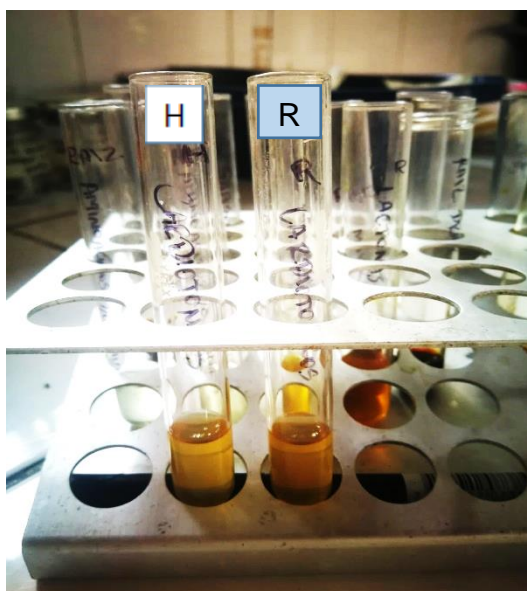
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 36. Identificación de carotenos en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 37. Identificación de glicósidos cardiotónicos en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



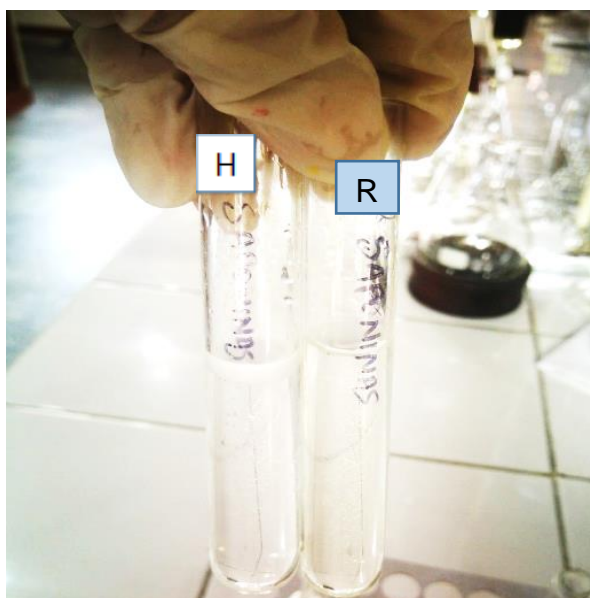
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 38. Identificación de fenoles y/o taninos en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



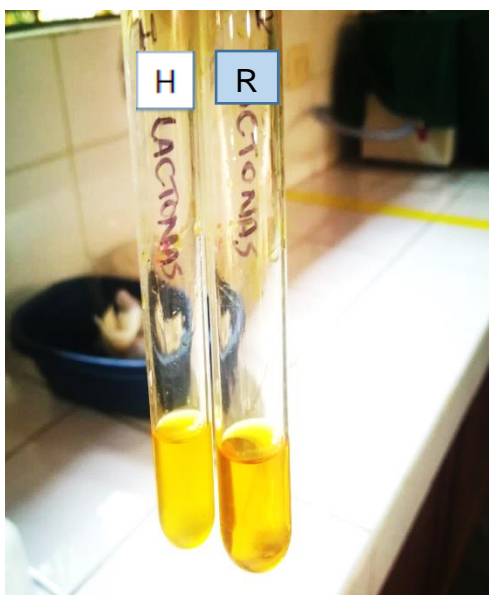
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 39. Identificación de saponinas en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



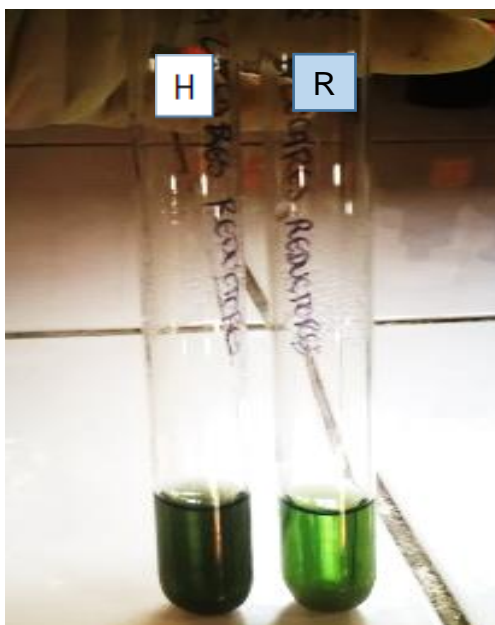
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 40. Identificación de lactonas en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



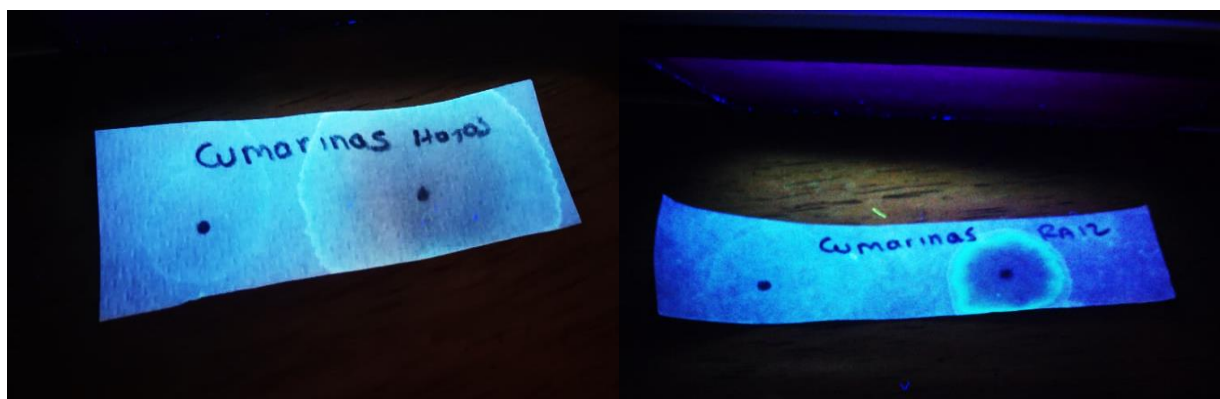
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 41. Identificación de azúcares reductores en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



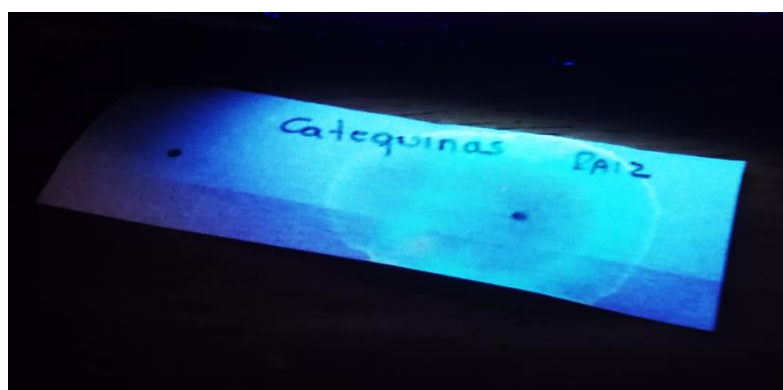
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 42. Identificación de cumarinas fijas en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 43. Identificación de catequinas en el extracto acuoso de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 12. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y triclorometánico de las hojas de *P. obtusilimum* C.DC.

<i>P. obtusilimum</i> C.DC.	Extracto	
	Etanólico	Triclorometánico
Alcaloides	-	+
Triterpeno y/o esteroide	++	+++
Antraquinona hidroxilada	-	-
Naftoquinona y antraquinona	+	-
Flavonoides	++	-
Quinonas	-	-
Leucoantocianidina	-	-
Carotenos	+++	+++
Glicósidos cardiotónicos	-	++
Fenoles y/o taninos	++	++
Lípidos	+	+
Aminas y/o aminoácidos	-	-
Saponinas	+	-
Lactonas	+	+
Azúcares reductores	-	-
Cumarinas fijas	+	+
Catequina	+	+

Resultados: (+++) Abundante; (++) moderado; (+) levemente; (-) negativo.

Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitario de la Amazonía – CIRNA – UNAP.

En la Tabla 12, se observa que en el extracto etanólico de las hojas de *P. obtusilimum* C.DC., se encontró abundante presencia de carotenos, mediana presencia de triterpeno/esteroide, flavonoides y fenoles/taninos; así como leve presencia de naftoquinonas/antraquinonas; lípidos, saponinas, lactonas, cumarinas fijas y catequinas. No presentó alcaloides, antraquinona hidroxilada, quinonas, leucoantocianidina, glicósidos cardiotónicos, aminas/aminoácidos ni azúcares reductores.

En el extracto triclorometánico, se encontró abundante presencia de triterpenos/esteroides y carotenos; moderada presencia de glicósidos cardiotónicos y fenoles/taninos; así como leve presencia de alcaloides, lípidos, lactonas, cumarinas fijas y catequinas. No se encontró antraquinona hidroxilada, naftoquinona/antraquinona, flavonoides, quinonas,

leucoantocianidina, aminos/aminoácidos, saponinas ni azúcares reductores.

Tabla 13. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y triclorometánico de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC.

<i>P. obtusilimum</i> C.DC.	Extracto	
	Etanólico	Triclorometánico
Alcaloides	+	++
Triterpeno y/o esteroide	+	+
Antraquinona hidroxilada	+	-
Naftoquinona y antraquinona	+	-
Flavonoides	+++	+++
Quinonas	++	+
Leucoantocianidina	-	-
Carotenos	++	+
Glicósidos cardiotónicos	+	+
Fenoles y/o taninos	+	-
Lípidos	++	+++
Aminas y/o aminoácidos	+++	-
Saponinas	-	-
Lactonas	+++	++
Azúcares reductores	+	++
Cumarinas fijas	++	+++
Catequina	+++	+++

Resultados: (+++) Abundante; (++) moderado; (+) levemente; (-) negativo.

Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitario de la Amazonía – CIRNA – UNAP.

En la Tabla 13, se observa que en el extracto etanólico de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC., se encontró abundante presencia de flavonoides, aminos/aminoácidos, lactonas y catequinas; moderada presencia de quinonas, carotenos, lípidos y cumarinas fijas; así como leve presencia de alcaloides, triterpenos/esteroides, antraquinona hidroxilada, naftoquinonas/antraquinonas, glicósidos cardiotónicos, fenoles/taninos y azúcares reductores. No se encontró presencia de leucoantocianidinas ni saponinas.

En el extracto triclorometánico se encontró abundante presencia de flavonoides, lípidos, cumarinas fijas y catequinas; también moderada

presencia de alcaloides, lactonas y azúcares reductores; así como leve aparición de triterpenos y/o esteroides, quinonas, carotenos y glicósidos cardiotónicos. No se encontró presencia de antraquinona hidroxilada, naftoquinona/antraquinona, leucoantocianidina, fenoles/taninos, aminas/aminoácidos ni saponinas.

Figura 44. Identificación de alcaloides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. con el reactivo de Dragendorff.



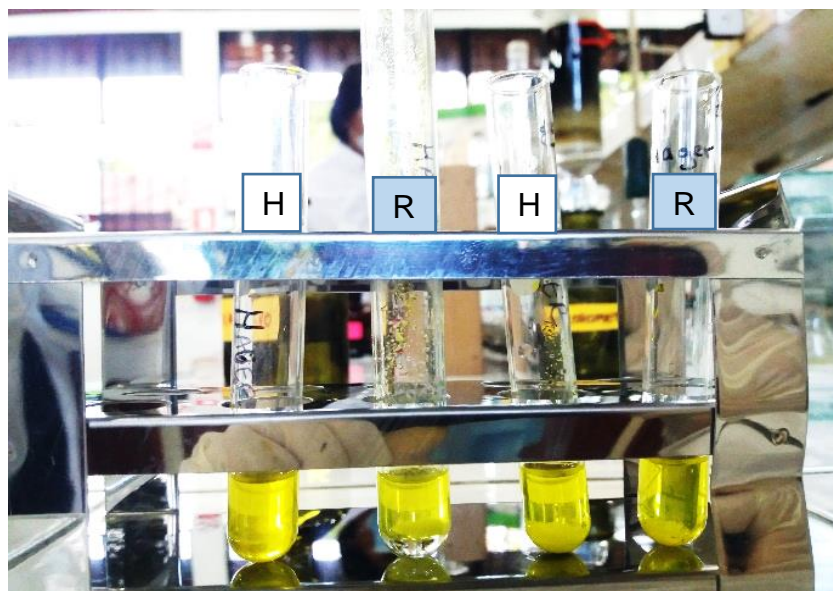
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 45. Identificación de alcaloides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. con el reactivo de Mayer



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021)

Figura 46. Identificación de alcaloides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. con el reactivo de Hager



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021)

Figura 47. Identificación de alcaloides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. con el reactivo de Warner



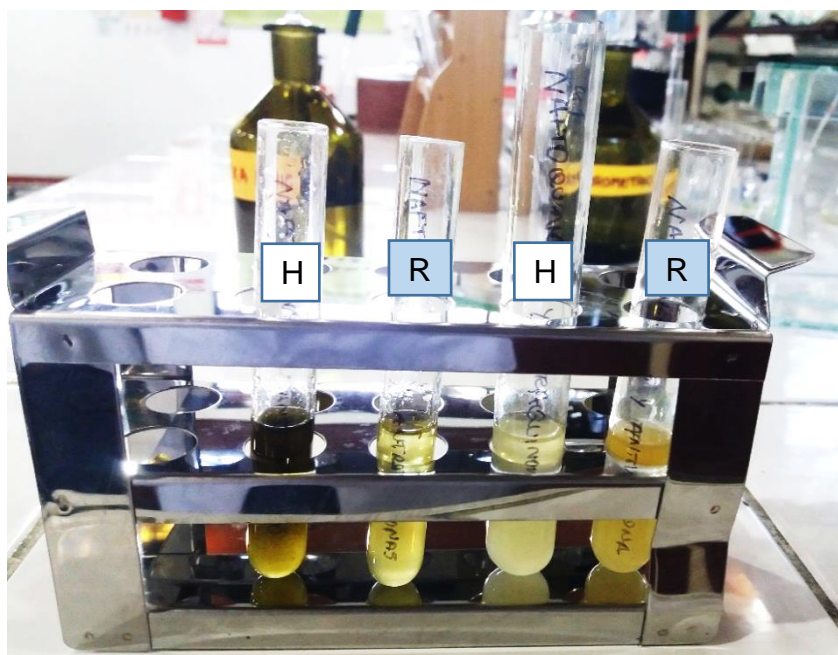
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 48. Identificación de triterpenos y/o esteroides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 49. Identificación de naftoquinonas y antraquinonas en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



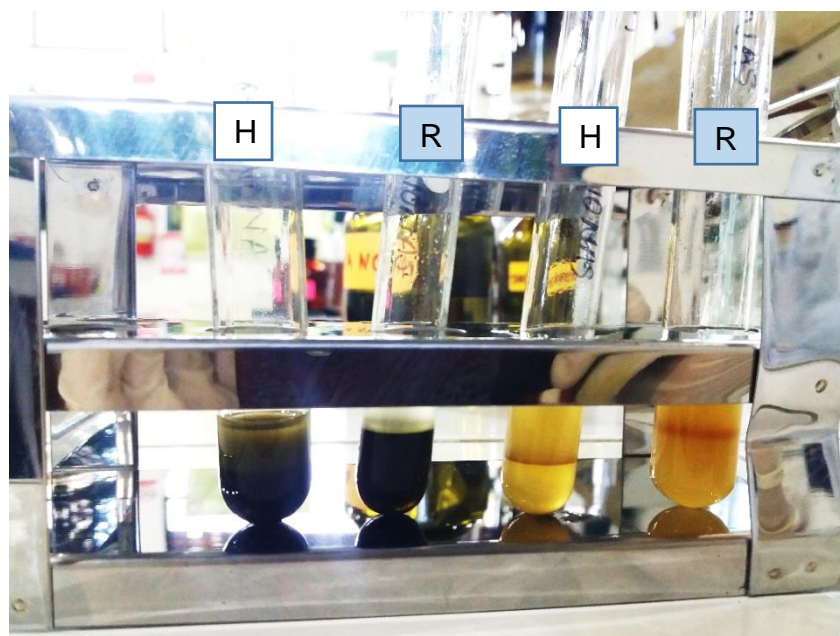
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 50. Identificación de flavonoides en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 51. Identificación de quinonas en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 52. Identificación de carotenos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 53. Identificación de glicósidos cardiotónicos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



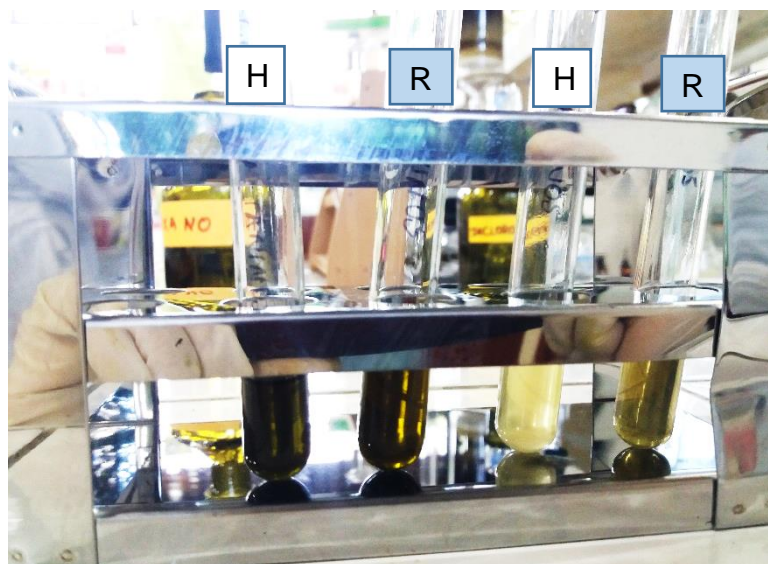
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 54. Identificación de leucoantocianidina en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



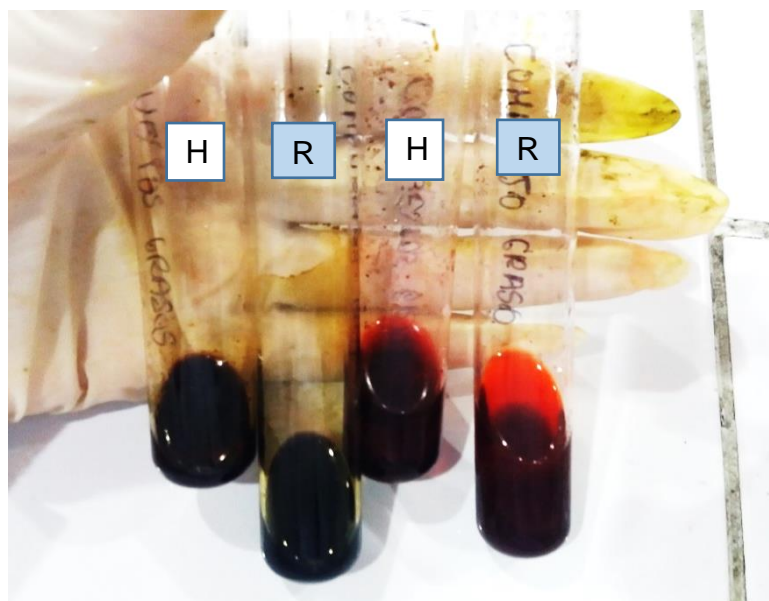
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 55. Identificación de fenoles y/o taninos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



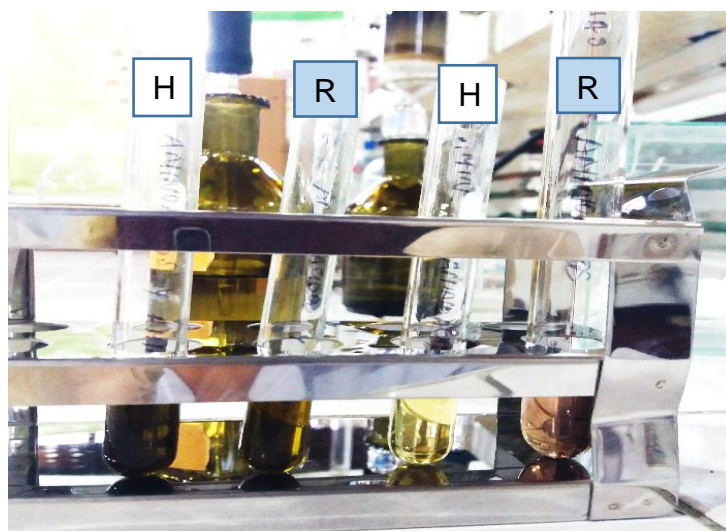
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 56. Identificación de lípidos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 57. Identificación de aminas y/o aminoácidos en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 58. Identificación de saponinas en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



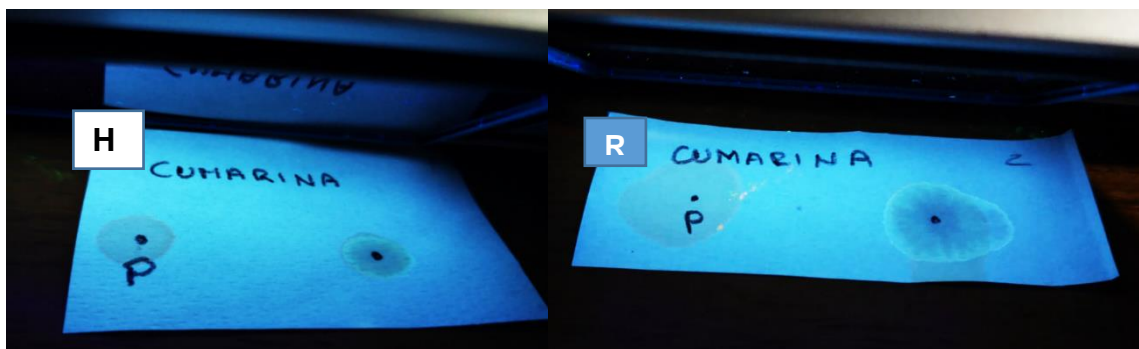
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 59. Identificación de azúcares reductores en los extractos etanólicos y triclorometánicos de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC.



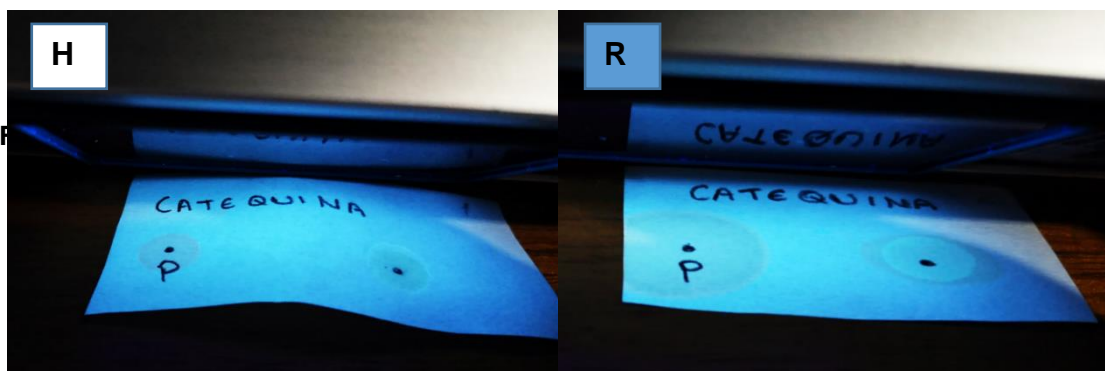
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 60. Identificación de cumarinas fijas en el extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



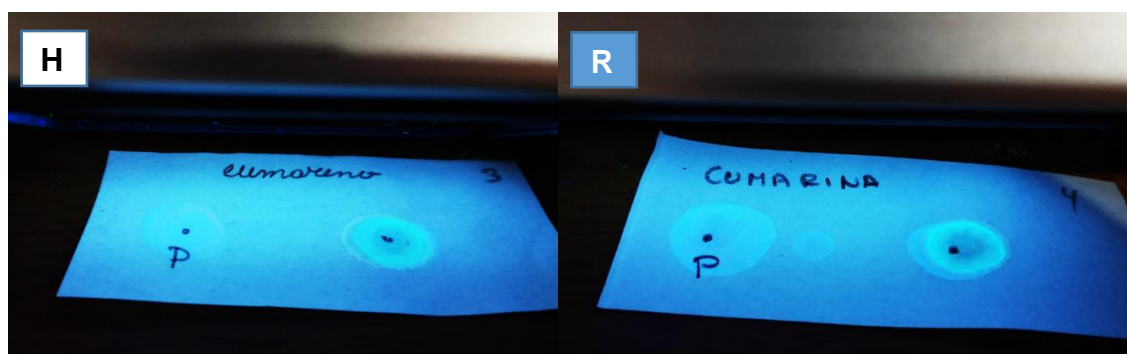
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 61. Identificación de catequinas en hojas y raíz del extracto etanólico de *P. obtusilimum* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 62. Identificación de catequinas en el extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

4.2.2 Tamizaje fitoquímico de hojas y raíz de los extractos acuoso, etanólico y triclorometano de *P. divaricatum* G. Mey.

Tabla 14. Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.

<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Extracto acuoso	
	Hojas	Raíz
Alcaloides	+	-
Triterpeno y/o esteroide	+	-
Antraquinona hidroxilada	-	-
Naftoquinona y antraquinona	-	-
Flavonoides	+	-
Quinonas	-	-
Leucoantocianidina	-	-
Carotenos	+	-
Glicósidos cardiotónicos	-	-
Fenoles y/o taninos	-	-
Lípidos	++	-
Aminas y/o aminoácidos	-	-
Saponinas	-	+
Lactonas	+	++
Azúcares reductores	-	-
Cumarinas fijas	-	-
Catequina	-	-

Resultados: (+++) Abundante; (++) moderado; (+) levemente; (-) negativo.

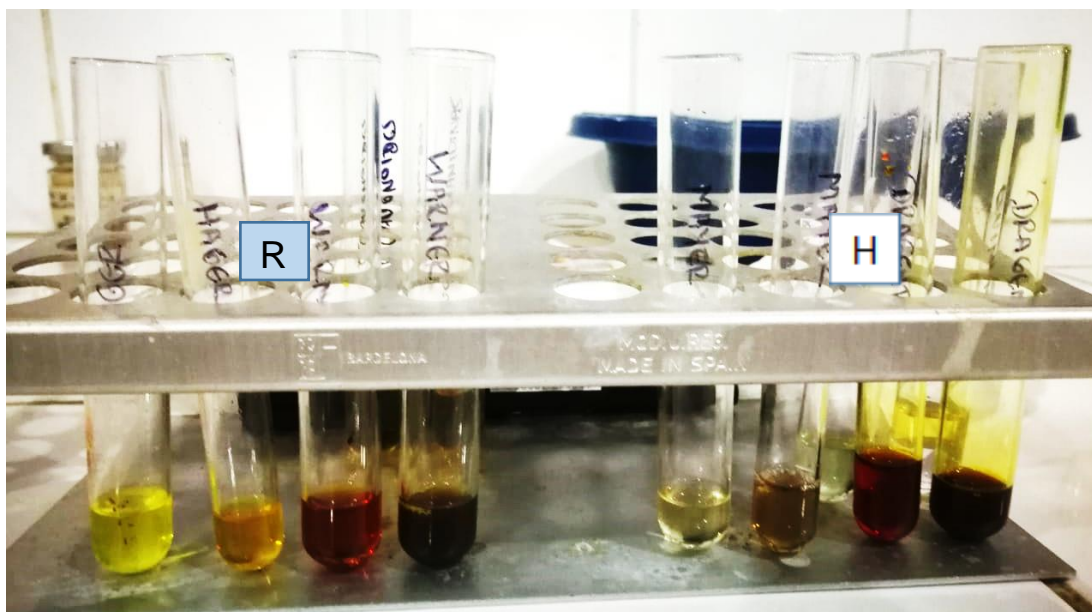
Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitario de la Amazonía – CIRNA – UNAP.

En la Tabla 14, se observa que en el extracto acuoso de las hojas de *P. divaricatum* G. Mey., se encontró moderada presencia de lípidos y leve aparición de alcaloides, triterpenos/esteroides, flavonoides, carotenos y lactonas. No se encontró presencia de antraquinona hidroxilada, naftoquinona/antraquinona, quinonas, leucoantocianidina, glicósidos cardiotónicos, fenoles y/o taninos, aminas/aminoácidos, saponinas, azúcares reductores, cumarinas fijas y catequina.

En la raíz se encontró moderada presencia de lactonas y leve aparición de saponinas. No se encontró presencia de alcaloides, triterpeno y/o esteroide, antraquinona hidroxilada, naftoquinona/antraquinona, flavonoides,

quinonas, leucoantocianidina, carotenos, glicósidos cardiotónicos, fenoles y/o taninos, lípidos, aminas/aminoácidos, azúcares reductores, cumarinas fijas y catequina.

Figura 63. Identificación de alcaloides en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



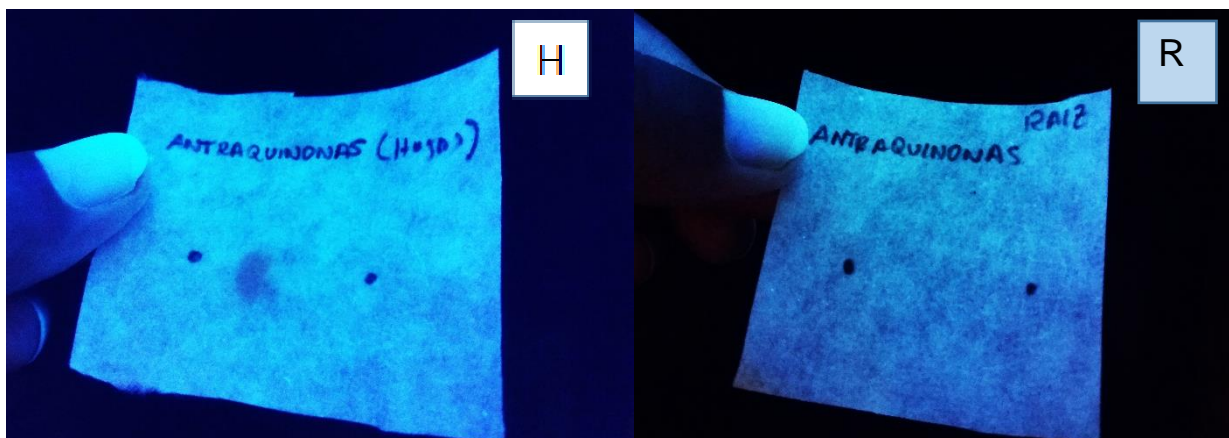
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 64. Identificación de triterpenos y/o esteroides en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



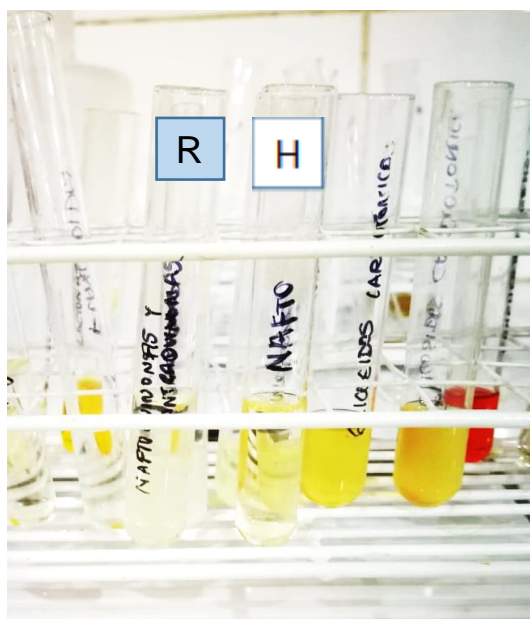
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 65. Identificación de antraquinona hidroxilada en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 66. Identificación de naftoquinona y antraquinona en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 67. Identificación de flavonoides en las hojas y raíz del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 68. Identificación de quinonas en hojas y raíz del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 69. Identificación de leucoantocianidina en hojas y raíz del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey.



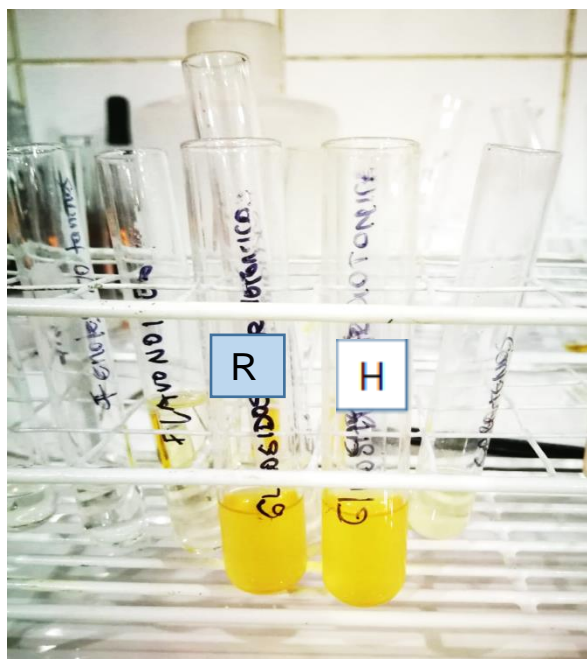
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 70. Identificación de carotenos en hojas y raíz del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 71. Identificación de glicósidos cardiotónicos en hojas y raíz del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 72. Identificación de fenoles y/o taninos en hojas y raíz del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 73. Identificación de lípidos en hojas y raíz del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey.



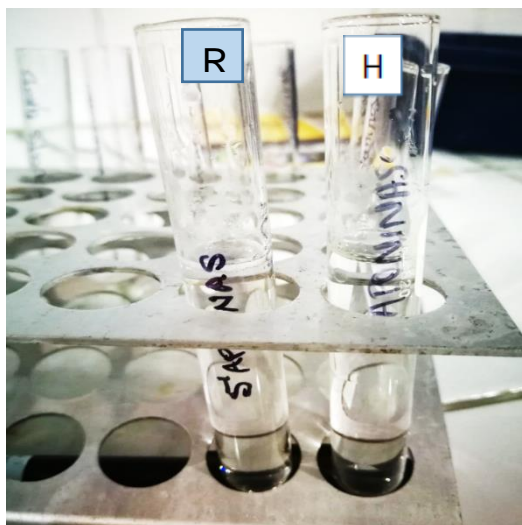
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 74. Identificación de aminos y/o aminoácidos en hojas y raíz del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 75. Identificación de saponinas en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



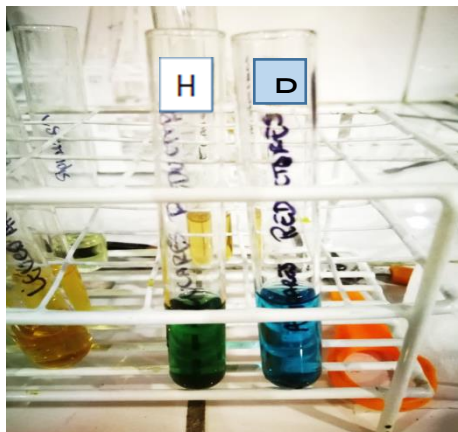
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 76. Identificación de lactonas en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



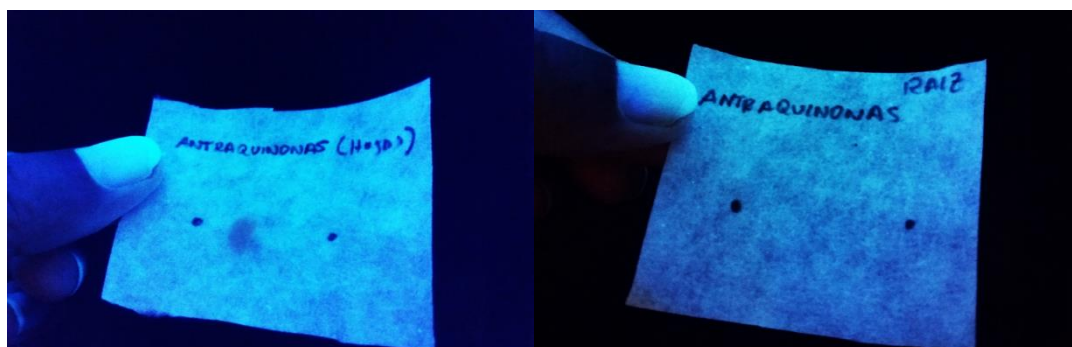
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 77. Identificación de azúcares reductores en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



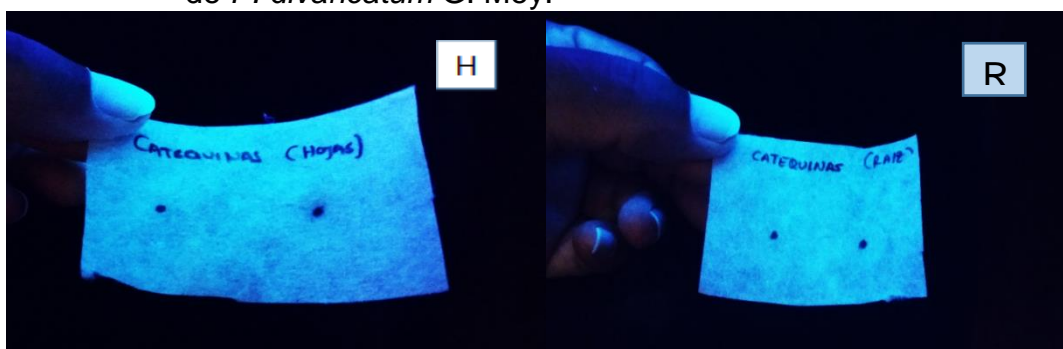
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 78. Identificación de antraquinonas en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 79. Identificación de catequinas en el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 15. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y triclorometánico de hojas de *P. divaricatum* G. Mey.

<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Extracto	
	Etanólico	Triclorometánico
Alcaloides	-	-
Triterpeno y/o esteroide	+++	+++
Antraquinona hidroxilada	-	-
Naftoquinona y antraquinona	-	-
Flavonoides	+	+
Quinonas	++	+
Leucoantocianidina	-	-
Carotenos	+	++
Glicósidos cardiotónicos	+++	++
Fenoles y/o taninos	+++	+++
Lípidos	++	++
Aminas y/o aminoácidos	-	-
Saponinas	-	-
Lactonas	+++	+++
Azúcares reductores	-	-
Cumarinas fijas	+	+
Catequina	+	+

Resultados: (+++) Abundante; (++) moderado; (+) levemente; (-) negativo.

Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitario de la Amazonía – CIRNA – UNAP.

En la Tabla 15, en el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *P. divaricatum* G. Mey., se encontró abundante presencia de: triterpenos/esteroides, fenoles/taninos, glicósidos cardiotónicos y lactonas; con moderada presencia de quinonas y lípidos; y leve aparición de flavonoides, carotenos, cumarinas fijas y catequinas. No se encontró presencia de alcaloides, antraquinona hidroxilada, naftoquinona/antraquinona, leucoantocianidina, aminas/aminoácidos, saponinas y azúcares reductores. En el extracto triclorometánico de las hojas de *P. divaricatum* G. Mey. se encontró abundante presencia de triterpenos/esteroides, fenoles/taninos y lactonas; con moderada presencia de: carotenos, glicósidos cardiotónicos y lípidos; y leve aparición de flavonoides, quinonas, cumarinas fijas y catequinas. No presentó alcaloides, antraquinona hidroxilada, naftoquinona/antraquinona, leucoantocianidina, aminas/aminoácidos, saponinas y azúcares reductores.

Tabla 16. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y triclorometánico de la raíz de *P. divaricatum* G. Mey.

<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Extracto	
	Etanólico	Triclorometánico
Alcaloides	+	-
Triterpeno y/o esteroide	++	++
Antraquinona hidroxilada	-	-
Naftoquinona y antraquinona	+	+
Flavonoides	+	+
Quinonas	+++	+++
Leucoantocianidina	-	-
Carotenos	-	++
Glicósidos cardiotónicos	+++	++
Fenoles y/o taninos	++	+
Lípidos	+++	+++
Aminas y/o aminoácidos	-	-
Saponinas	-	-
Lactonas	+++	++
Azúcares reductores	+++	+
Cumarinas fijas	++	-
Catequina	+++	+

Resultados: (+++) Abundante; (++) moderado; (+) levemente; (-) negativo.

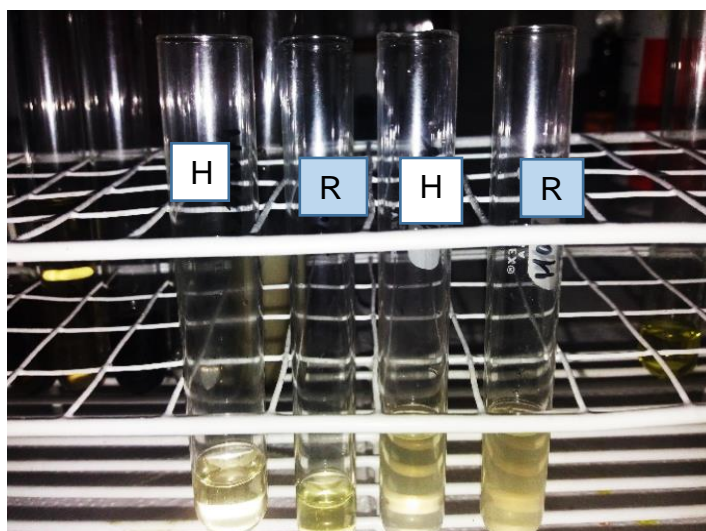
Fuente: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitario de la Amazonía – CIRNA – UNAP.

En la Tabla 16, en el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de *P. divaricatum* G. Mey., se encontró abundante presencia de: quinonas, glicósidos cardiotónicos, lípidos, lactonas, azúcares reductores y catequinas; moderada presencia de triterpenos y/o esteroides, fenoles/taninos y cumarinas fijas; y leve aparición de alcaloides, naftoquinonas y antraquinonas, y flavonoides. No presentó antraquinona hidroxilada, leucoantocianidina, carotenos, aminas/aminoácidos y saponinas.

En el extracto triclorometánico de su raíz se encontró abundante presencia de: quinonas y lípidos y moderada presencia de: triterpenos/esteroides, carotenos, glicósidos cardiotónicos y lactonas; y leve aparición de: naftoquinonas y antraquinonas, flavonoides, fenoles/taninos, azúcares reductores y catequinas. No se encontró presencia de alcaloides,

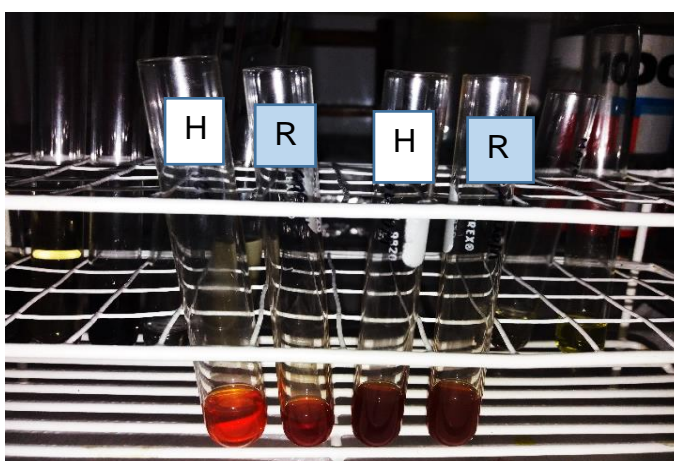
antraquinona hidroxilada, leucoantocianidina, aminas/aminoácidos, saponinas y cumarinas fijas.

Figura 80. Identificación de alcaloides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. con el reactivo de Mayer



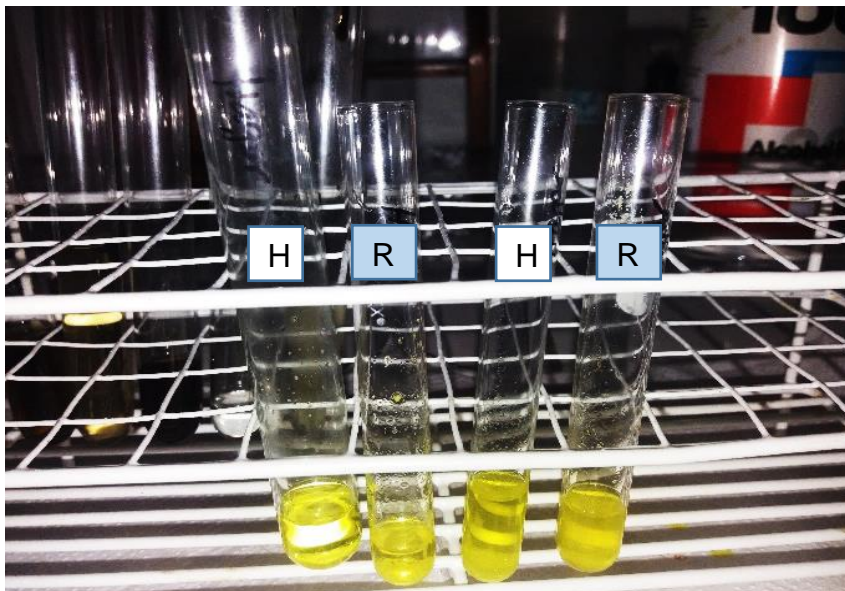
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 81. Identificación de alcaloides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. con el reactivo de Warner



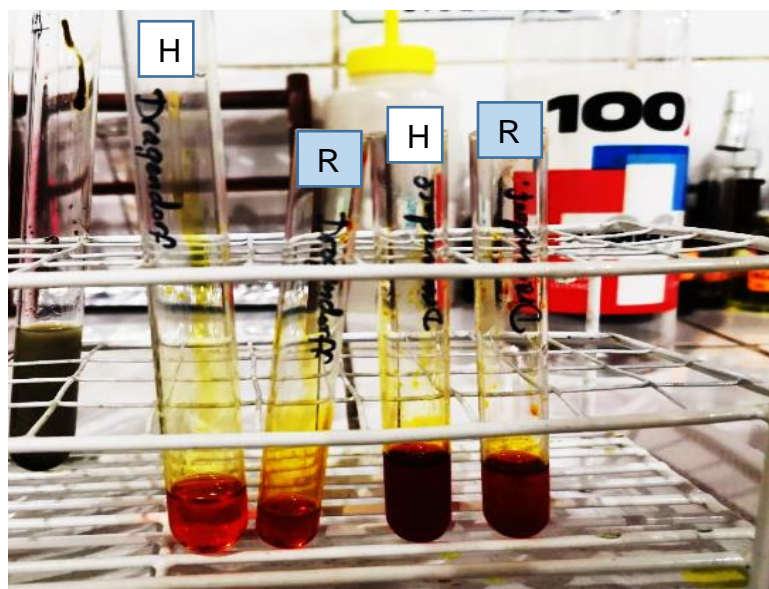
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021)

Figura 82. Identificación de alcaloides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. con el reactivo Mayer Hager.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 83. Identificación de alcaloides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. con el reactivo Dragendorf.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 84. Identificación de triterpenos y/o esteroides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 85. Identificación de antraquinona hidroxilada en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



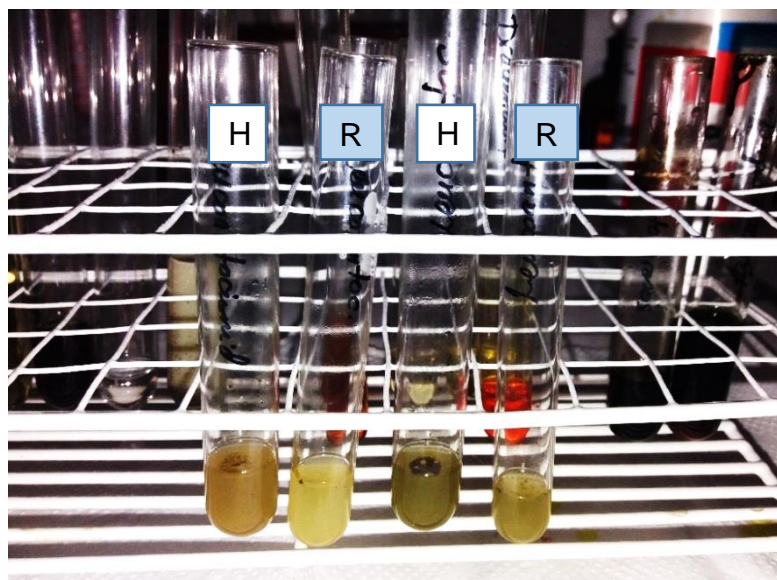
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 86. Identificación de quinonas en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 87. Identificación de leucoantocianidina en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



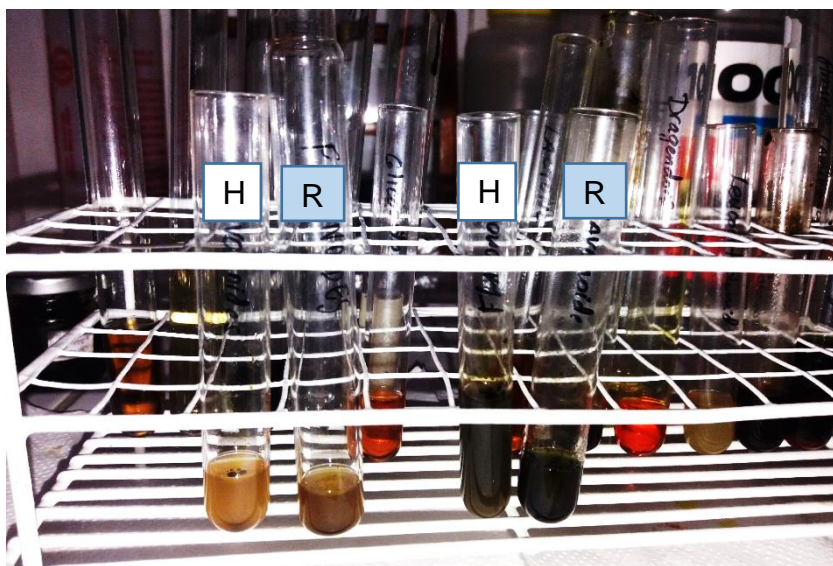
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 88. Identificación de naftoquinona y antraquinona en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



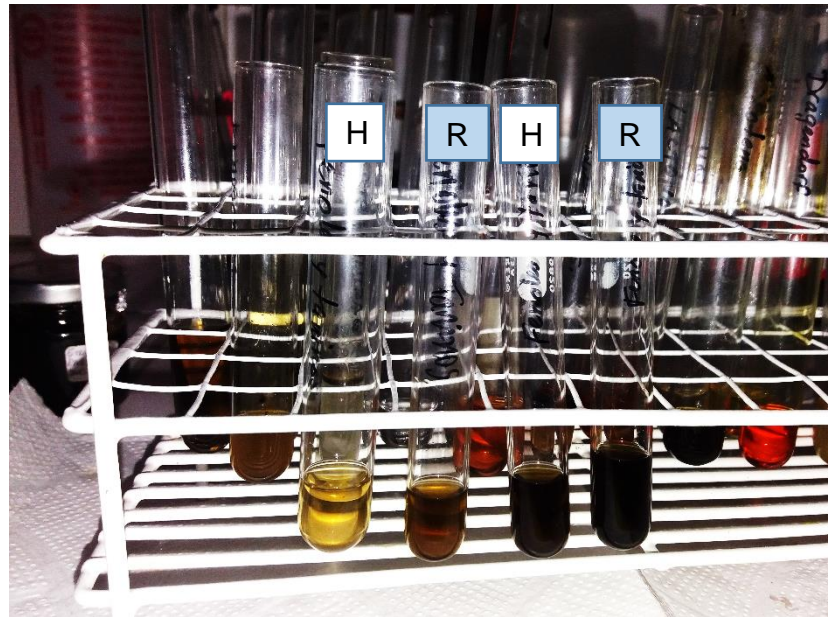
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 89. Identificación de flavonoides en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



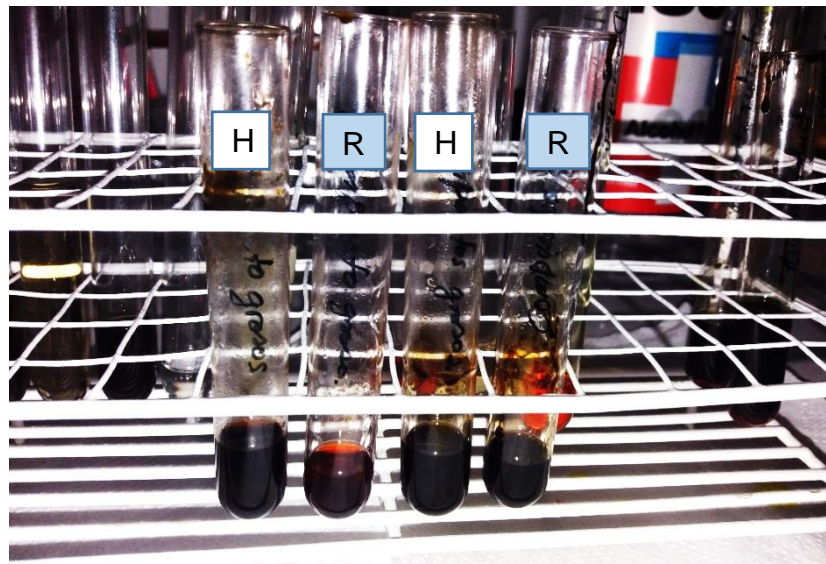
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 90. Identificación de fenoles y/o taninos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



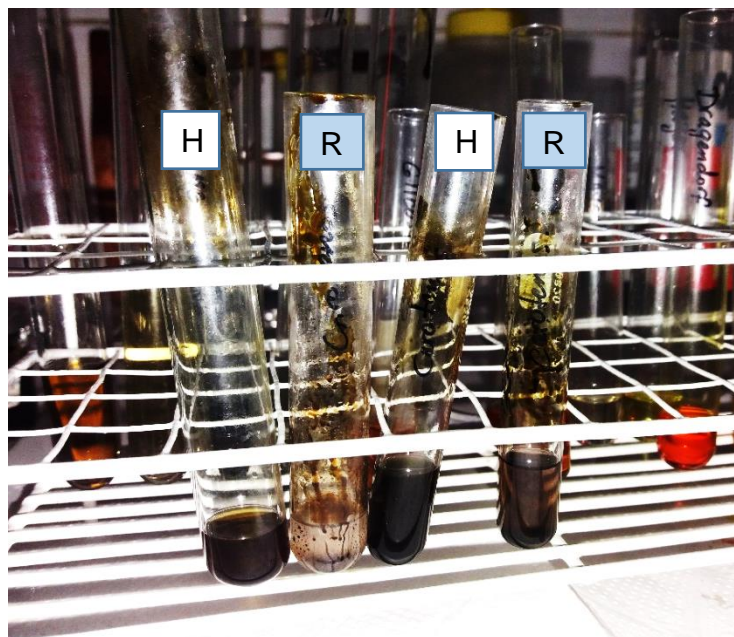
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 91. Identificación de lípidos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



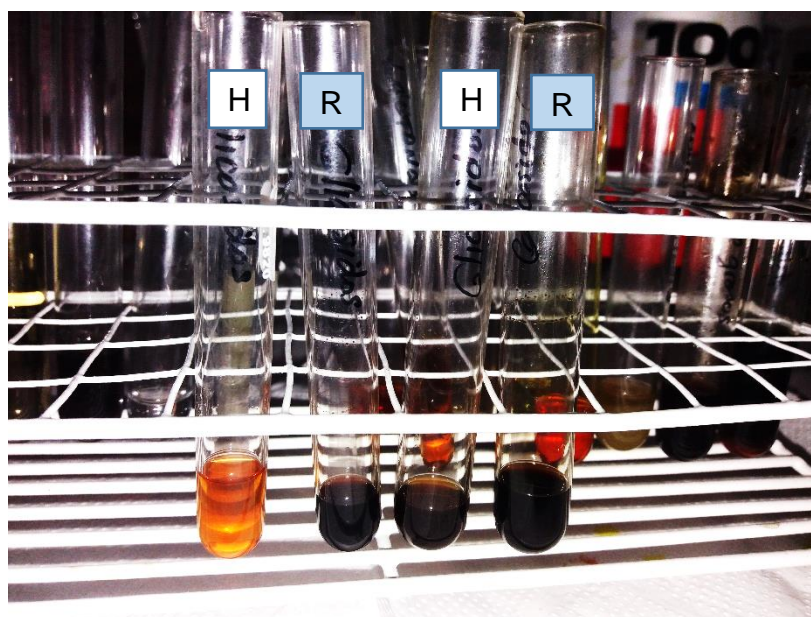
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 92. Identificación de carotenos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 93. Identificación de glicósidos cardiotónicos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 94. Identificación de aminas y/o aminoácidos en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G.



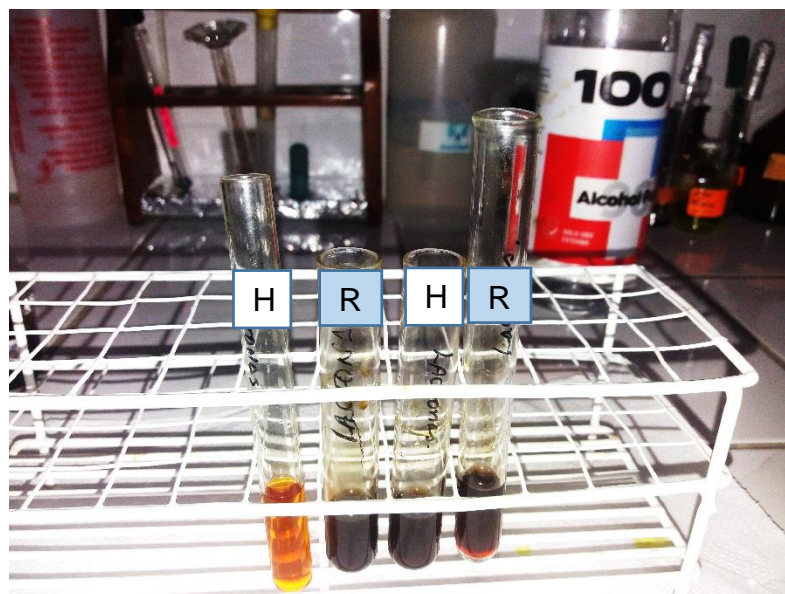
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 95. Identificación de saponinas en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



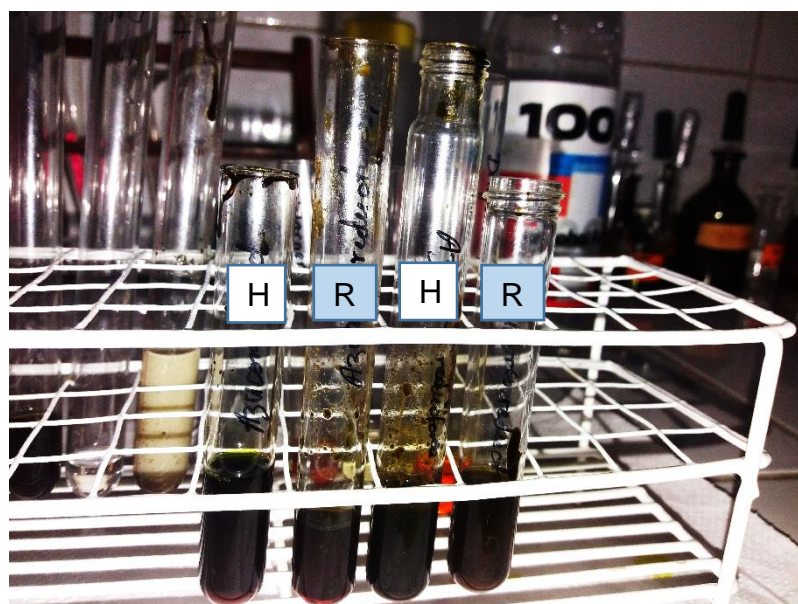
Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 96. Identificación de lactonas en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 97. Identificación de azúcares reductores en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey.



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

4.3 Actividad antibacteriana

4.3.1 Controles positivo y negativo para el ensayo de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922

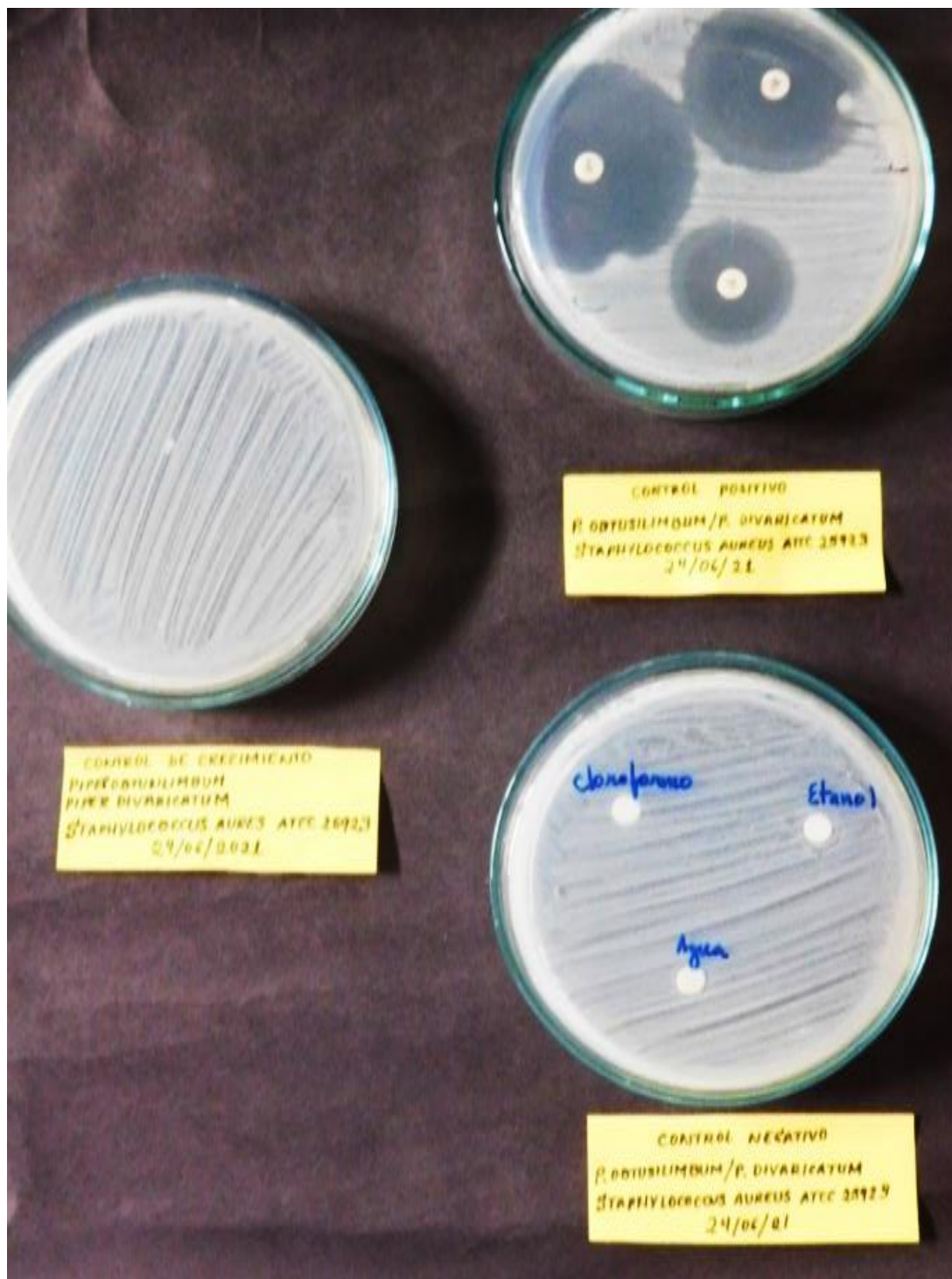
Tabla 17. Diámetros de los halos de inhibición (mm) de los controles positivos y negativos frente a *S. aureus* ATCC 25923

Tipo de control	Nombre	Halos de inhibición	
Control positivo	Penicilina	40 mm	36 mm
	Ampicilina	31 mm	32 mm
	Oxacilina	21 mm	23 mm
Control negativo	Agua	0 mm	0 mm
	Etanol	0 mm	0 mm
	Triclorometano	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 17, se muestran los diámetros de los halos de inhibición de los controles positivos y negativos frente a *S. aureus* ATCC 25923. Como control positivo se utilizaron los antibióticos: penicilina, ampicilina y oxacilina y como control negativo se utilizaron: agua, etanol y triclorometano. De acuerdo al resultado, el antibiótico penicilina presentó el mayor halo de inhibición (40 mm).

Figura 98. Control de crecimiento, control positivo y control negativo para la evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

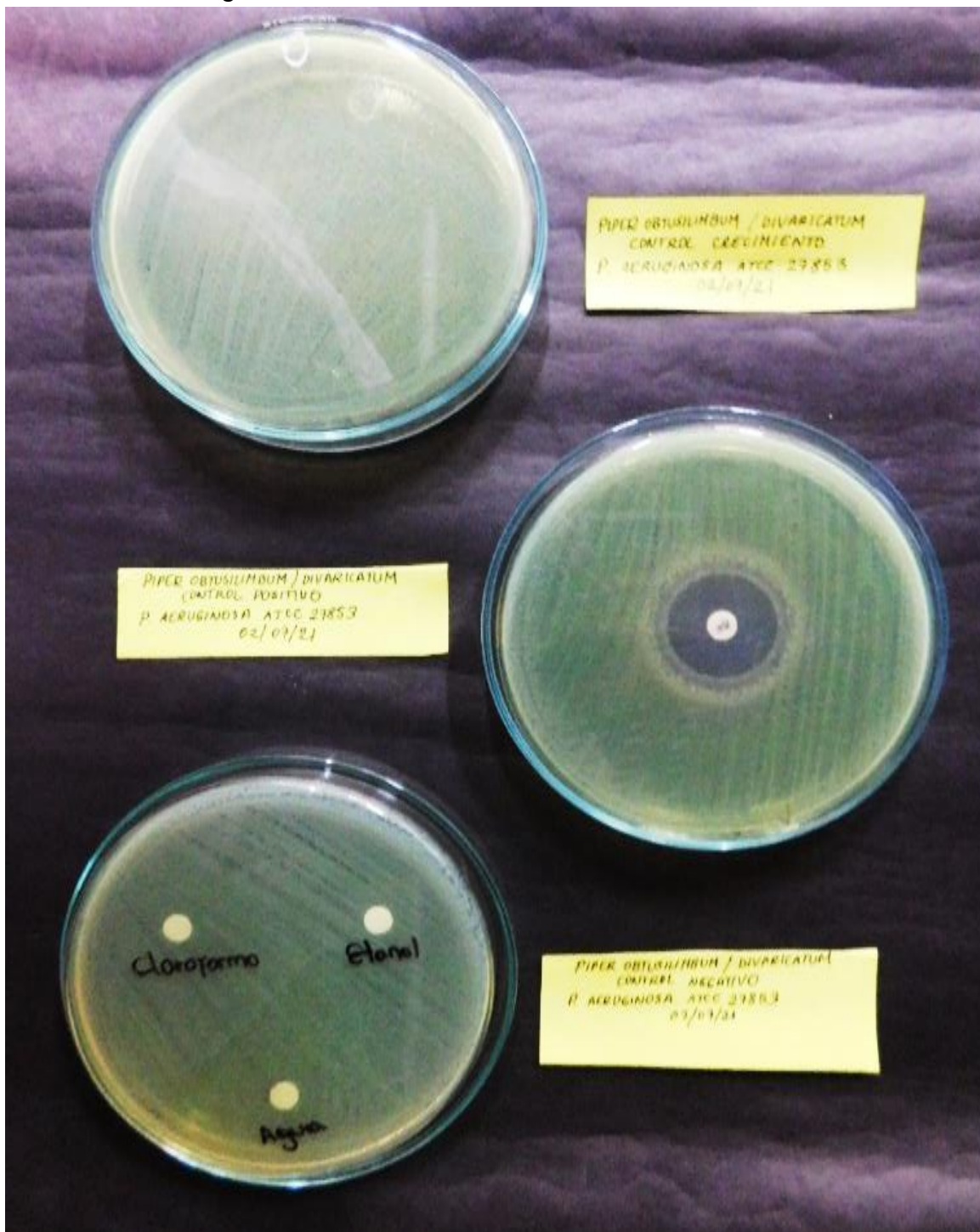
Tabla 18. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del control positivo y controles negativos frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

Tipo de control	Nombre	Halos de inhibición	
Control positivo	Gentamicina	22 mm	24 mm
	Agua	0 mm	0 mm
Control negativo	Etanol	0 mm	0 mm
	Triclorometano	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 18, se muestran los diámetros de los halos de inhibición del control positivo y controles negativos frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853. Como control positivo se utilizó el antibiótico: gentamicina y como control negativo se utilizaron: agua, etanol y triclorometano. Según el resultado obtenido, el antibiótico gentamicina presentó un halo de inhibición de 24 mm.

Figura 99. Control de crecimiento, control positivo y control negativo para la evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 19. Diámetros de los halos de inhibición (mm) de los controles positivos y negativos frente a *E. coli* ATCC 25922

Tipo de control	Nombre	Halos de inhibición	
Controles positivos	Ampicilina	40 mm	36 mm
	Gentamicina	31 mm	32 mm
	Sulfametoxazol/trimetoprima	21 mm	23 mm
Controles negativos	Agua	0 mm	0 mm
	Etanol	0 mm	0 mm
	Triclorometano	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 19, se muestran los diámetros de los halos de inhibición de los controles positivos y negativos frente a *E. coli* ATCC 25922. Como control positivo se utilizaron los antibióticos: ampicilina, gentamicina y sulfametoxazol/trimetoprima y como control negativo se utilizó: agua, etanol y triclorometano. Según el resultado, el antibiótico ampicilina presentó el mayor halo de inhibición (40 mm).

Figura 100. Control de crecimiento, control positivo y control negativo para la evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

4.3.2 Actividad antibacterina *in vitro* de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923 y al aislado clínico

Tabla 20. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923

Concentraciones del extracto acuoso		Halos de inhibición			
Hojas	Raíz	Hojas		Raíz	
10,5 mg/mL	14 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
5,25 mg/mL	7 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
2,63 mg/mL	3,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 20, de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC., formaron halos de inhibición frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Figura 101. Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. obtusifolium* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 21. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus*

Concentraciones del extracto acuoso	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 21, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *S. aureus*.

Figura 102. Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

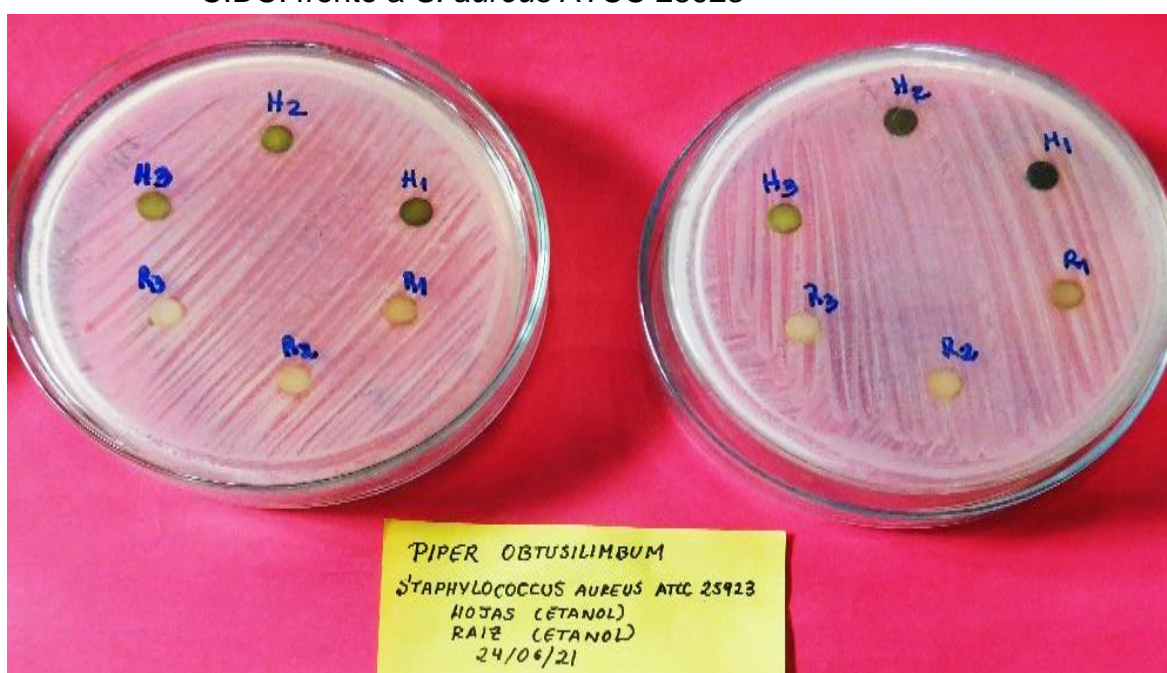
Tabla 22. Diámetros de los halos inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC frente a *S. aureus* ATCC 25923

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 22, de los diámetros de los halos inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC frente a *S. aureus* ATCC 25923, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. formaron halos de inhibición frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Figura 103. Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 23. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus*

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 23, de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus*, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *S. aureus*.

Figura 104. Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

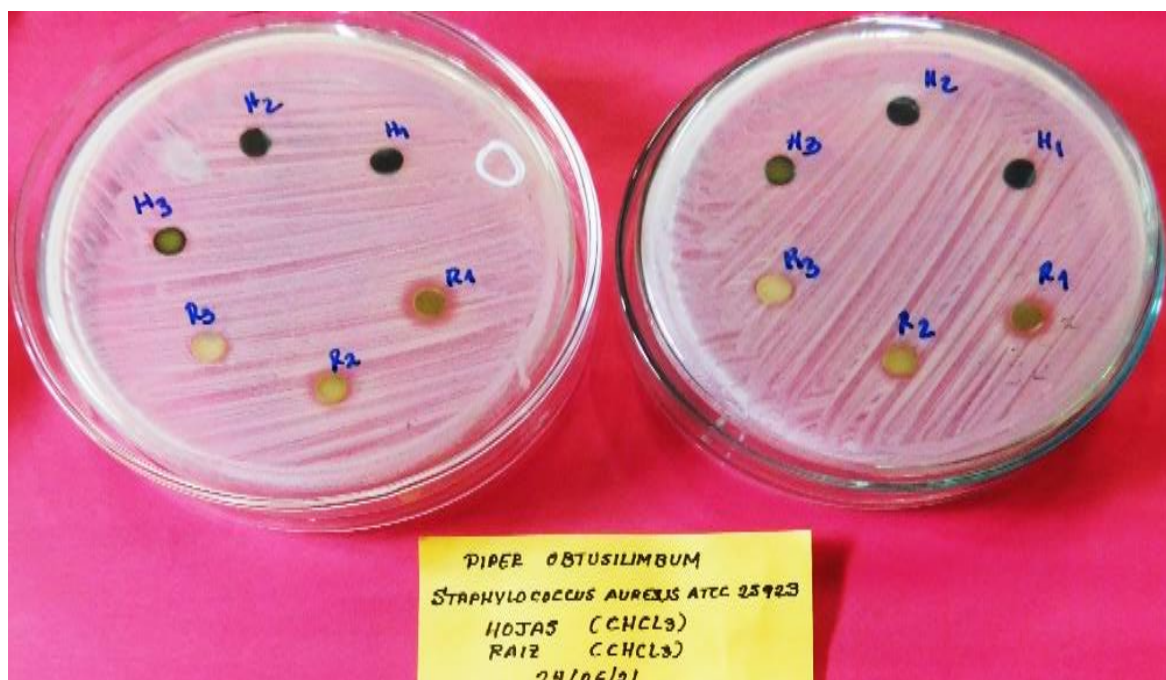
Tabla 24. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	9 mm	8 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	7 mm	7mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 24, de los diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923, se observa que a las concentraciones de 62,5 y 125 mg/mL del extracto triclorometánico de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC. se obtuvieron halos de inhibición de 7 y 9 mm frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Figura 105. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *S. aureus* ATCC 25923



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 25. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus*

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 25, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *S. aureus*.

Figura 106. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente al aislado clínico de *S. aureus*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

4.3.3 Actividad antibacterina *in vitro* de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 y al aislado clínico

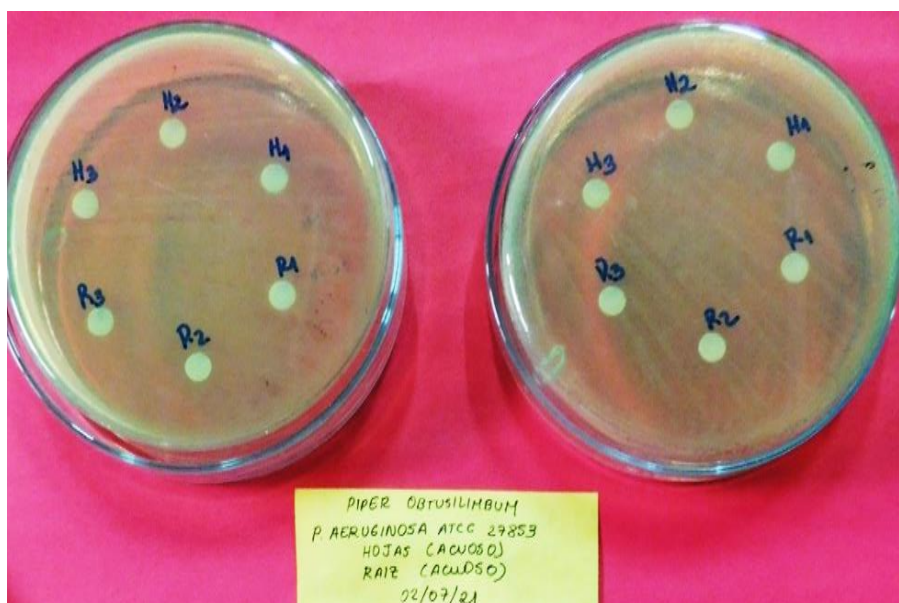
Tabla 26. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

Concentraciones del extracto acuoso	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 26, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. formaron halos de inhibición frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Figura 107. Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. obtusifolium* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

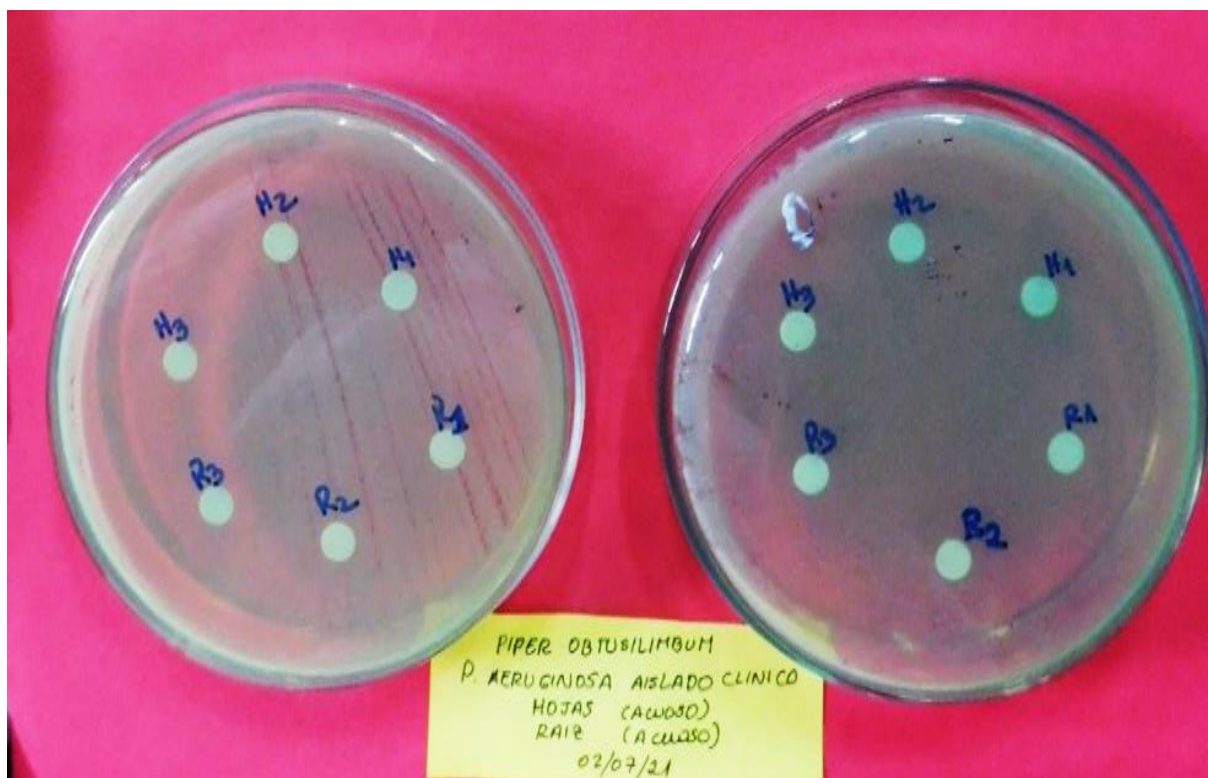
Tabla 27. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*

Concentraciones del extracto acuoso	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 27, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*.

Figura 108. Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021)

Tabla 28. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 28, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. formaron halos de inhibición frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Figura 109. Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. obtusifolium* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

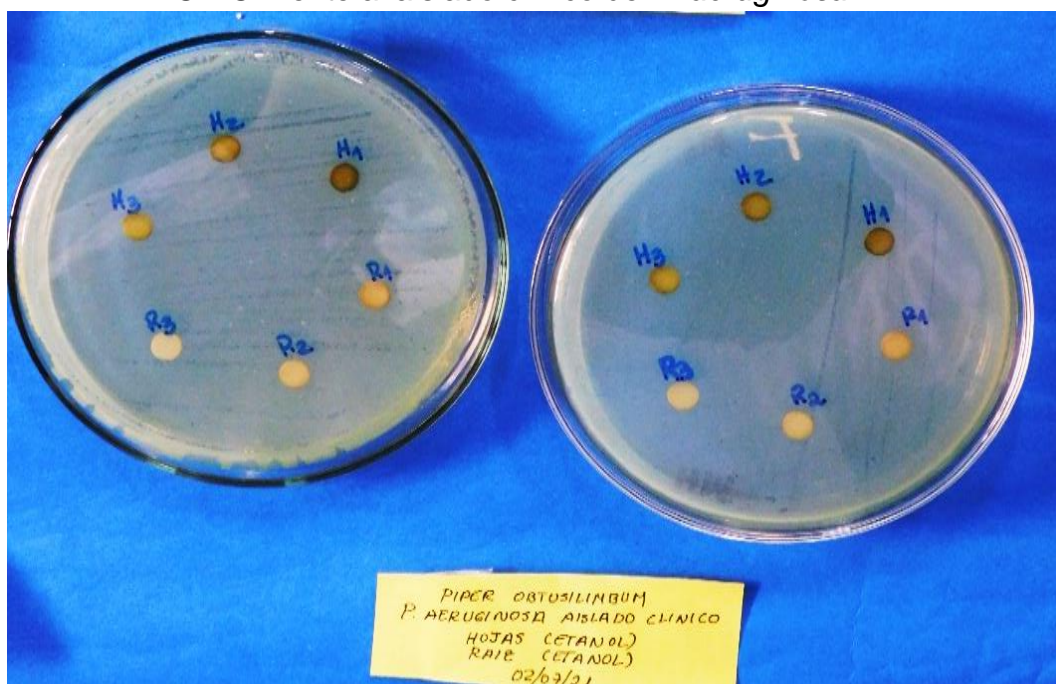
Tabla 29. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 29, se muestra que el extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. no formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*.

Figura 110. Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

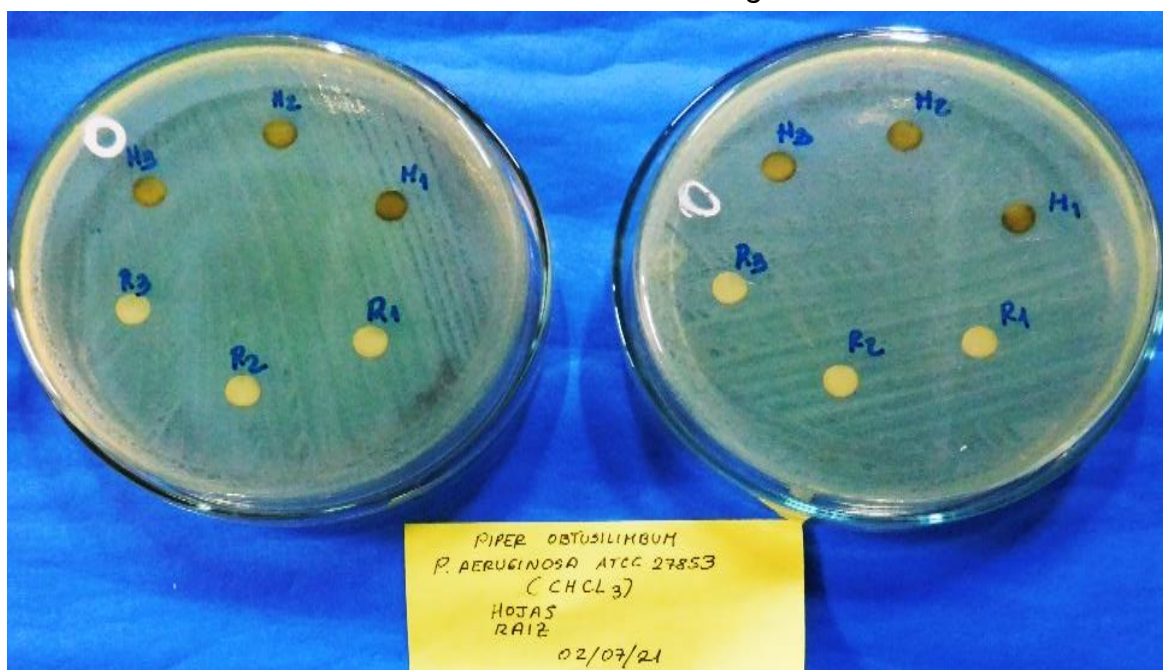
Tabla 30. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 30, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. formaron halos de inhibición frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Figura 111. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

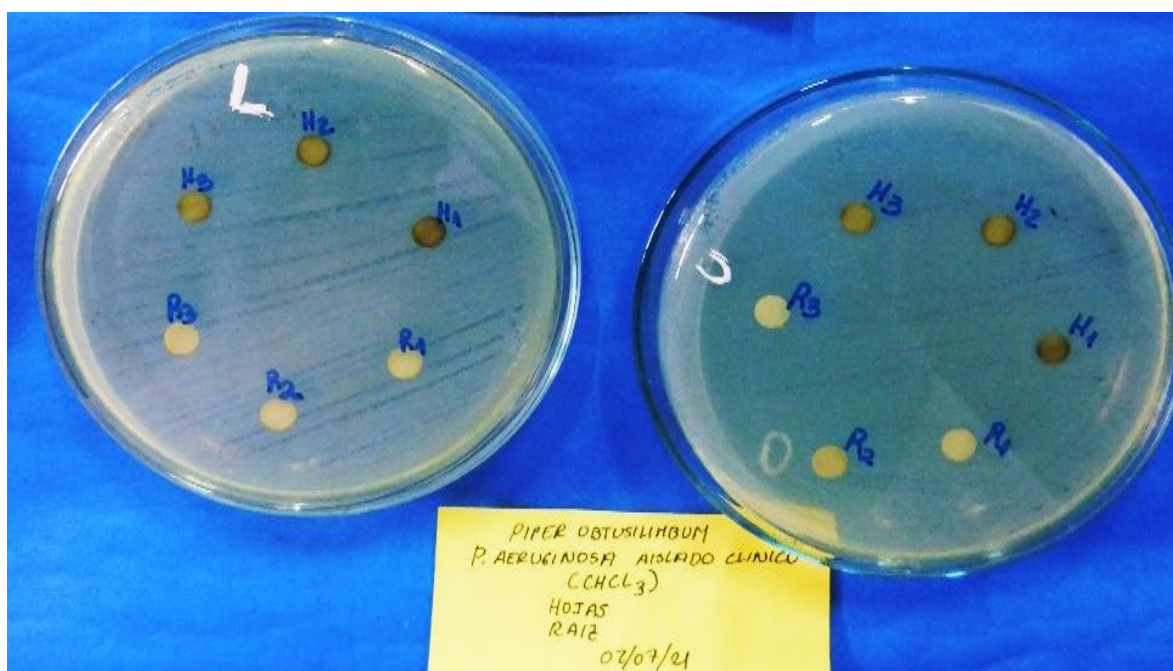
Tabla 31. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 31, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*.

Figura 112. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. obtusifolium* C.DC. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

4.3.4 Actividad antibacterina *in vitro* de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico

Tabla 32. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz *P. obtusilimum* C.DC frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico

Concentraciones del extracto acuoso	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021)

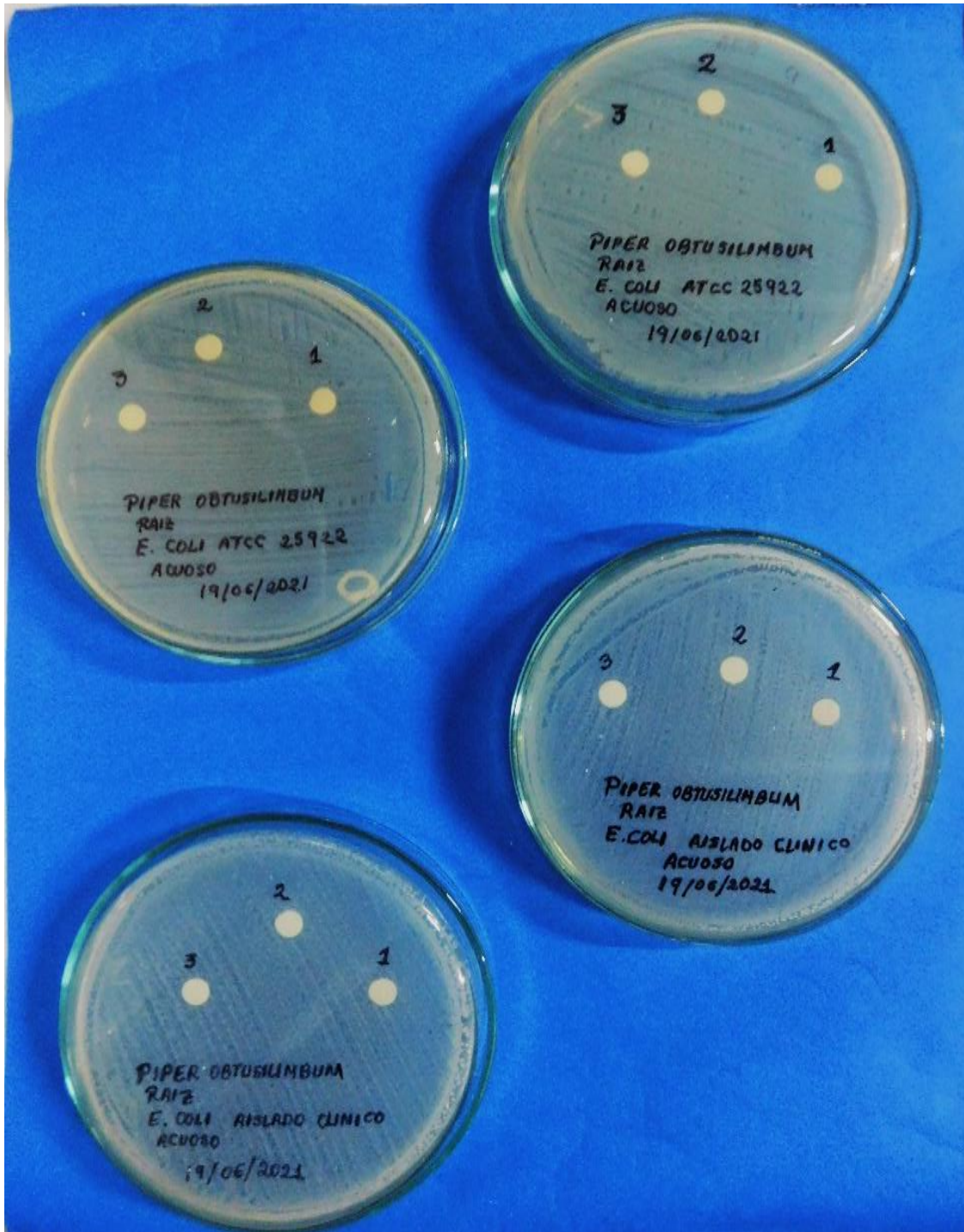
En la Tabla 32, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. formaron halos de inhibición frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico.

Figura 113. Lectura de los discos del extracto acuoso de hojas de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 114. Lectura de los discos del extracto acuoso de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 33. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

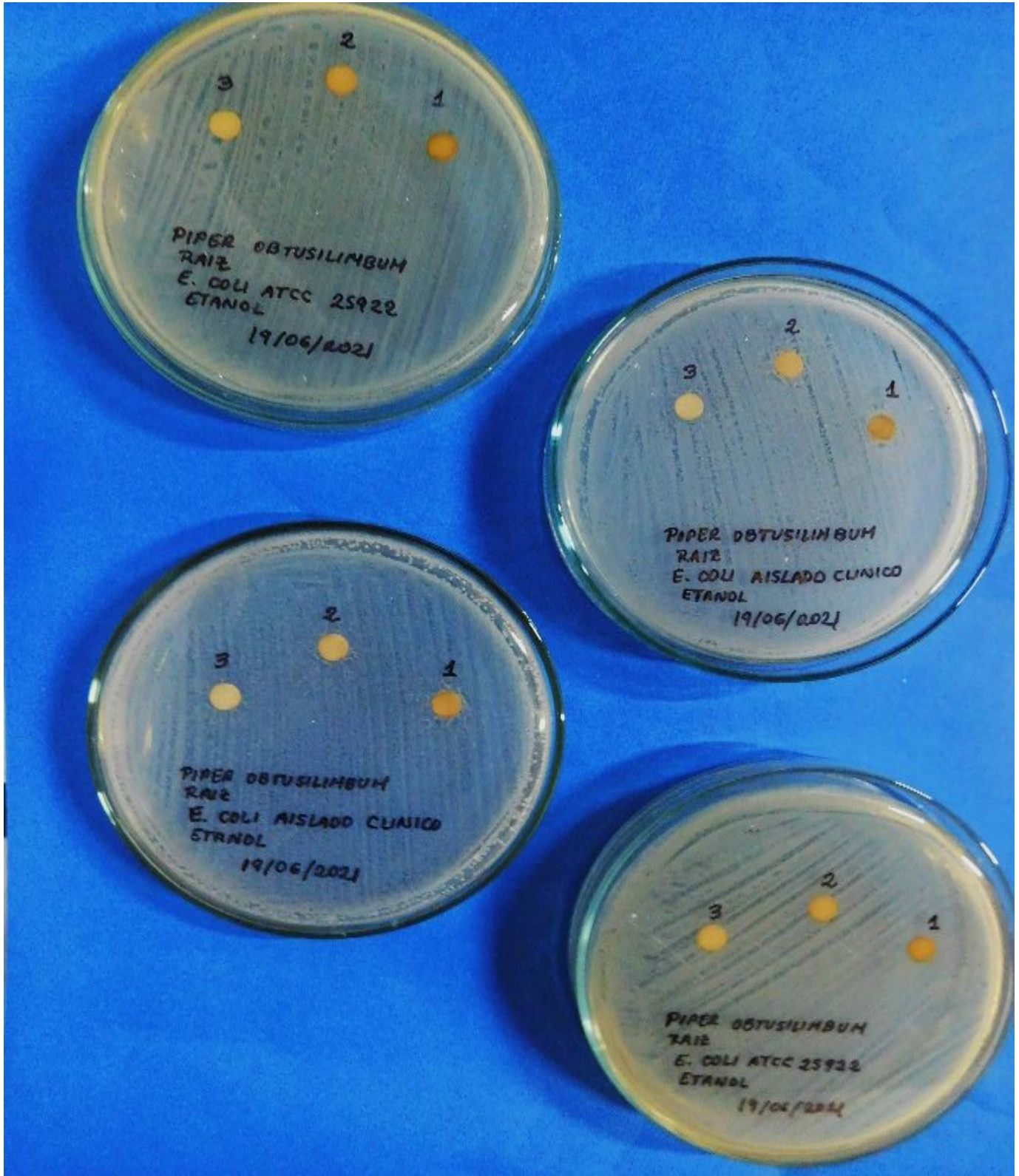
En la Tabla 33, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. formaron halos de inhibición frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico.

Figura 115. Lectura de los discos del extracto etanólico de hojas de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 116. Lectura de los discos del extracto etanólico de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 34. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

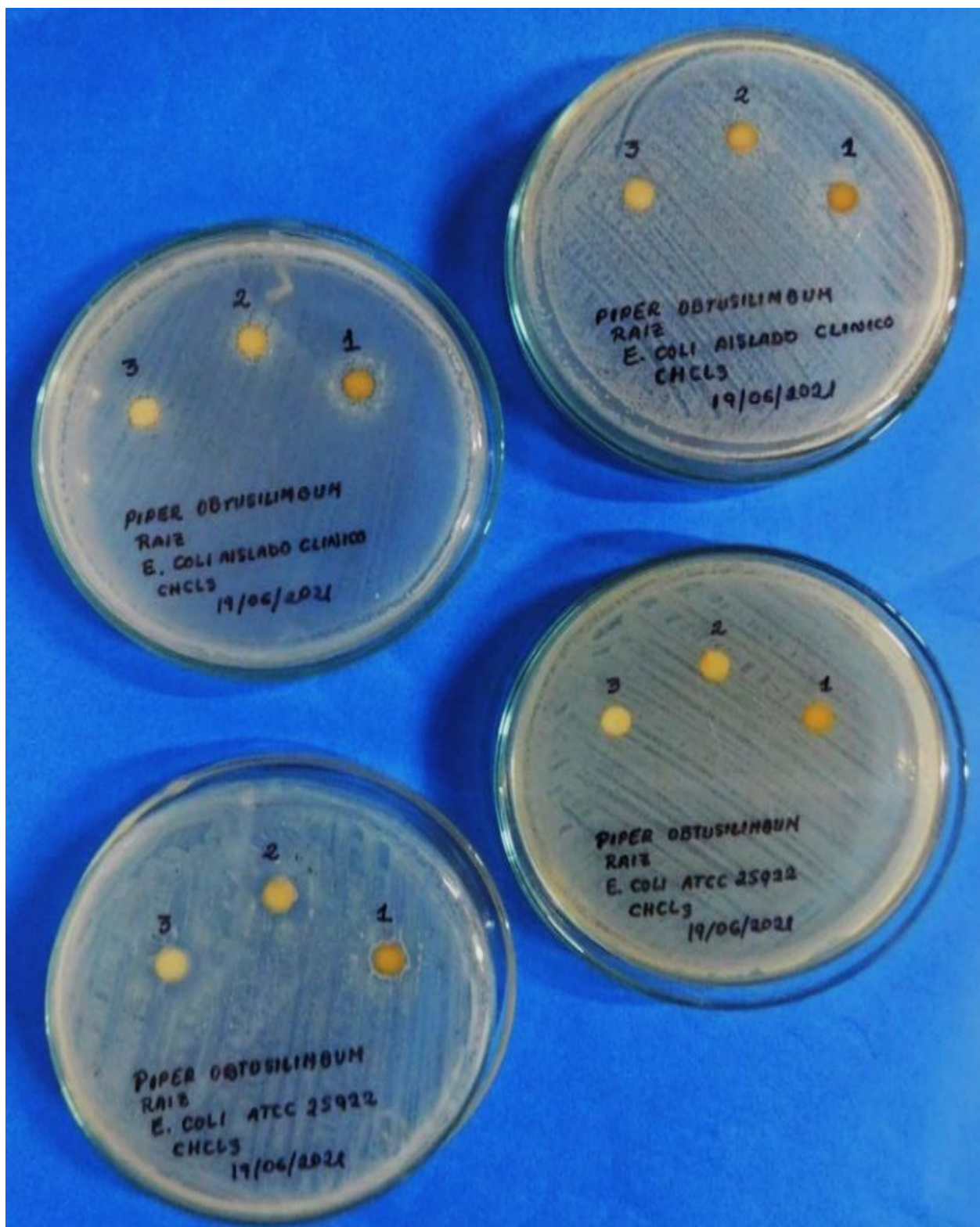
En la Tabla 34, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. formaron halos de inhibición frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico.

Figura 117. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de hojas de *P. obtusilimum* C.DC frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 118. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de la raíz de *P. obtusilimum* C.DC. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

4.3.5 Actividad antibacterina *in vitro* de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923 y al aislado clínico.

Tabla 35. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíces de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923

Concentraciones del extracto acuoso	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 35, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Figura 119. Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

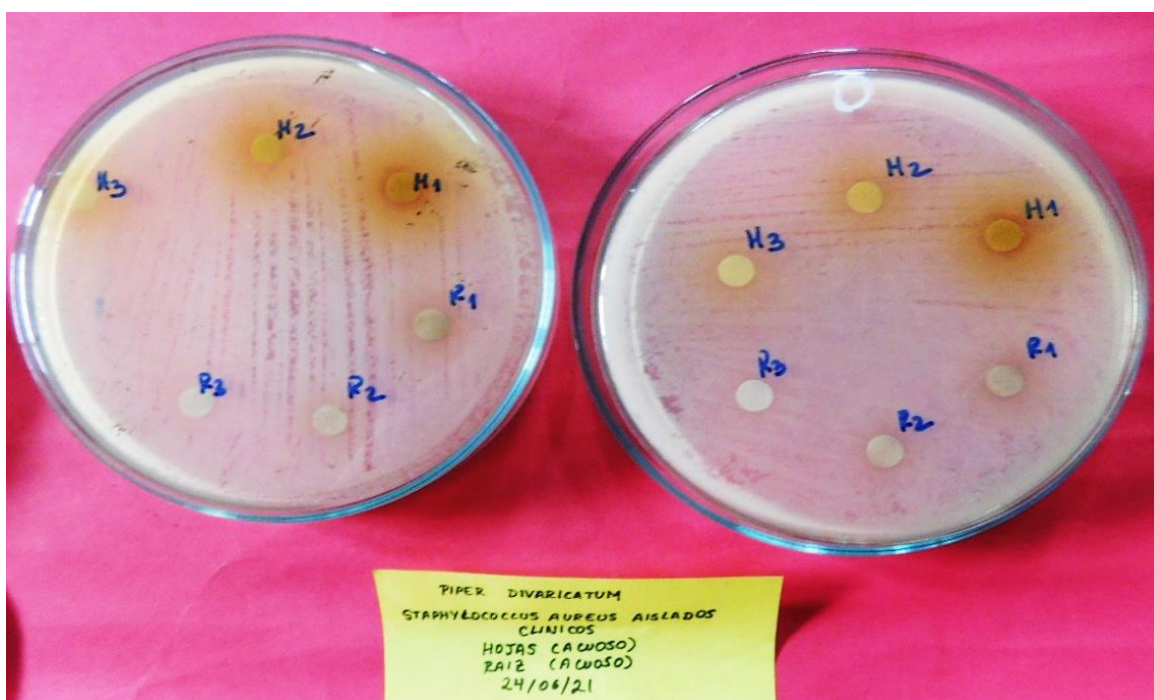
Tabla 36. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *S. aureus*

Concentraciones del extracto acuoso	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	8 mm	9 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 36, se observa que con la concentración de 125 mg/mL del extracto acuoso de las hojas de *P. divaricatum* G. Mey. se obtuvo un halo de inhibición de 9 mm frente al aislado clínico de *S. aureus*.

Figura 120. Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *S. aureus*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

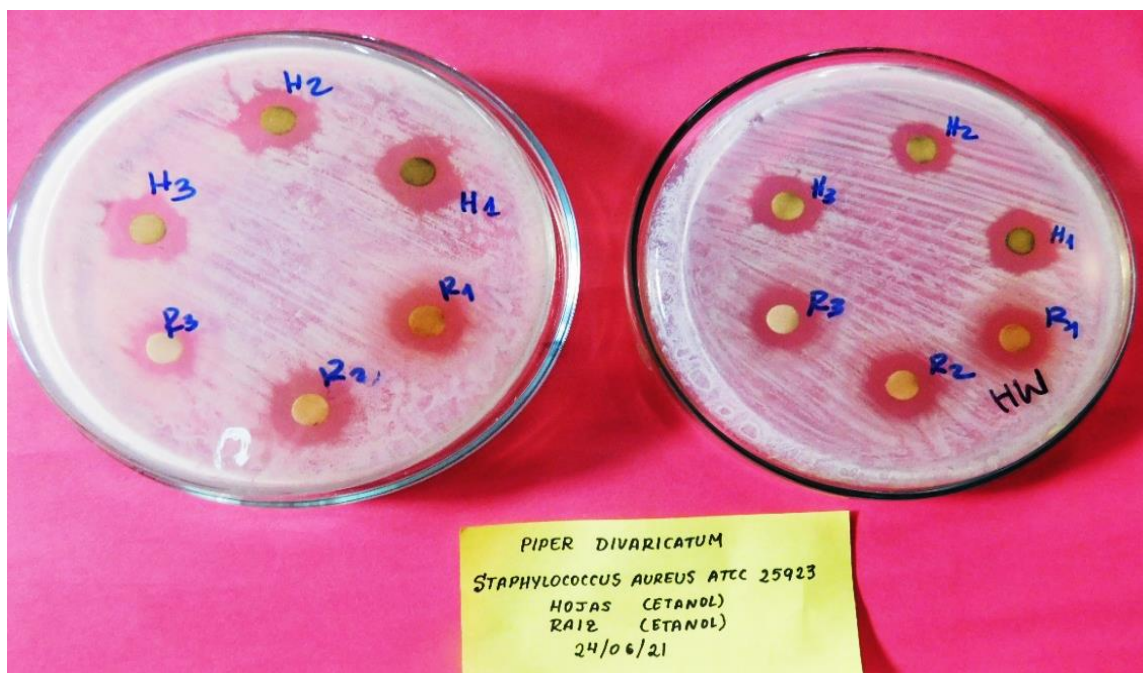
Tabla 37. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	15 mm	14 mm	13 mm	13 mm
62,5 mg/mL	14 mm	12 mm	13 mm	13 mm
31,25 mg/mL	14 mm	12 mm	10 mm	13 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 37, se observa que con las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico de hojas y raíz s de *P. divaricatum* G. Mey. se formaron halos de inhibición frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Figura 121. Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 38. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *S. aureus*.

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	12 mm	13 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	13 mm	13 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	12 mm	13 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 38, se observa que con las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico, solamente en la raíz de *P. divaricatum* G. Mey. se formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *S. aureus*.

Figura 122. Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *S. aureus*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

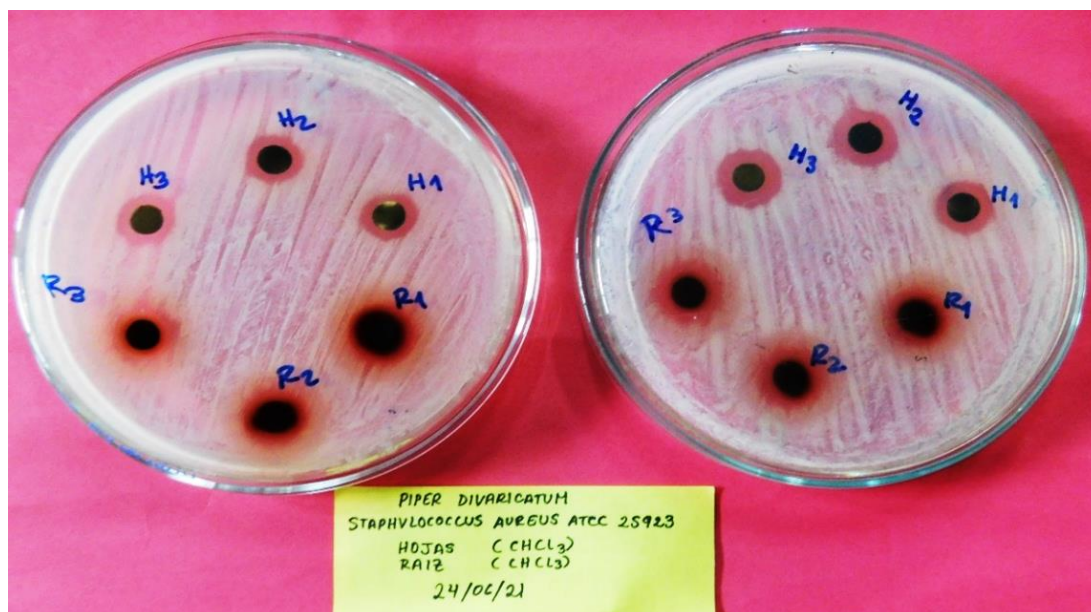
Tabla 39. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	10 mm	11 mm	10 mm	11 mm
62,5 mg/mL	10 mm	12 mm	10 mm	11 mm
31,25 mg/mL	10 mm	12 mm	12 mm	11 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 39, se observa que con las tres concentraciones ensayadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. se formaron halos de inhibición frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Figura 123. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *S. aureus* ATCC 25923



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 40. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *S. aureus*

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	11 mm	10 mm	12 mm	12 mm
62,5 mg/mL	12 mm	12 mm	13 mm	13 mm
31,25 mg/mL	12 mm	12 mm	13 mm	13 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 40, se observa que con las tres concentraciones ensayadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. se formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *S. aureus*.

Figura 124. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *S. aureus*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

4.3.6 Actividad antibacterina *in vitro* de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 y al aislado clínico

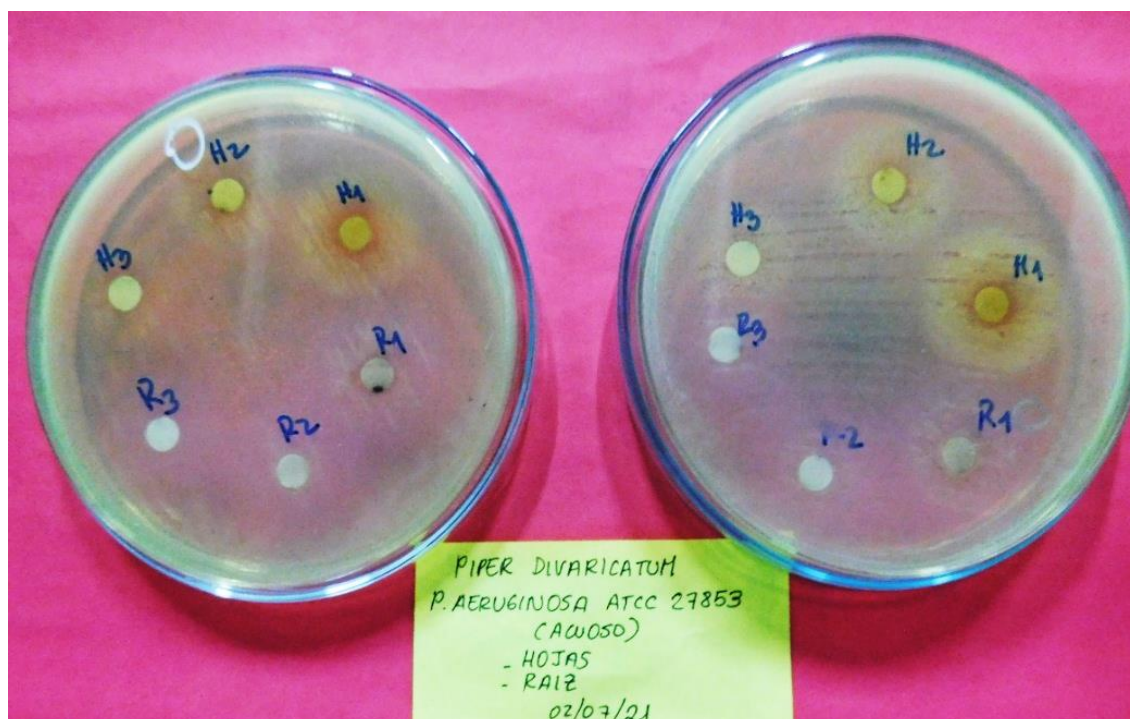
Tabla 41. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

Concentraciones del extracto acuoso	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	7 mm	7 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 41, se observa que solamente con la concentración de 125 mg/mL del extracto acuoso de hojas de *P. divaricatum* G. Mey. se obtuvo un halo de inhibición de 7 mm frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853. En la raíz no se obtuvo ningún halo de inhibición.

Figura 125. Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 42. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*

Concentraciones del extracto acuoso	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 42, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*.

Figura 126. Lectura de los discos del extracto acuoso de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

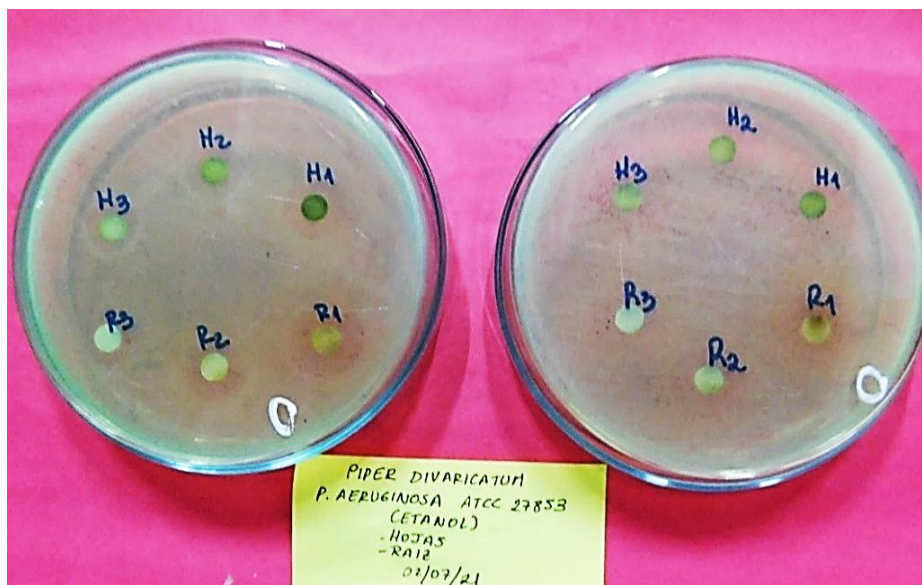
Tabla 43. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 43, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Figura 127. Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

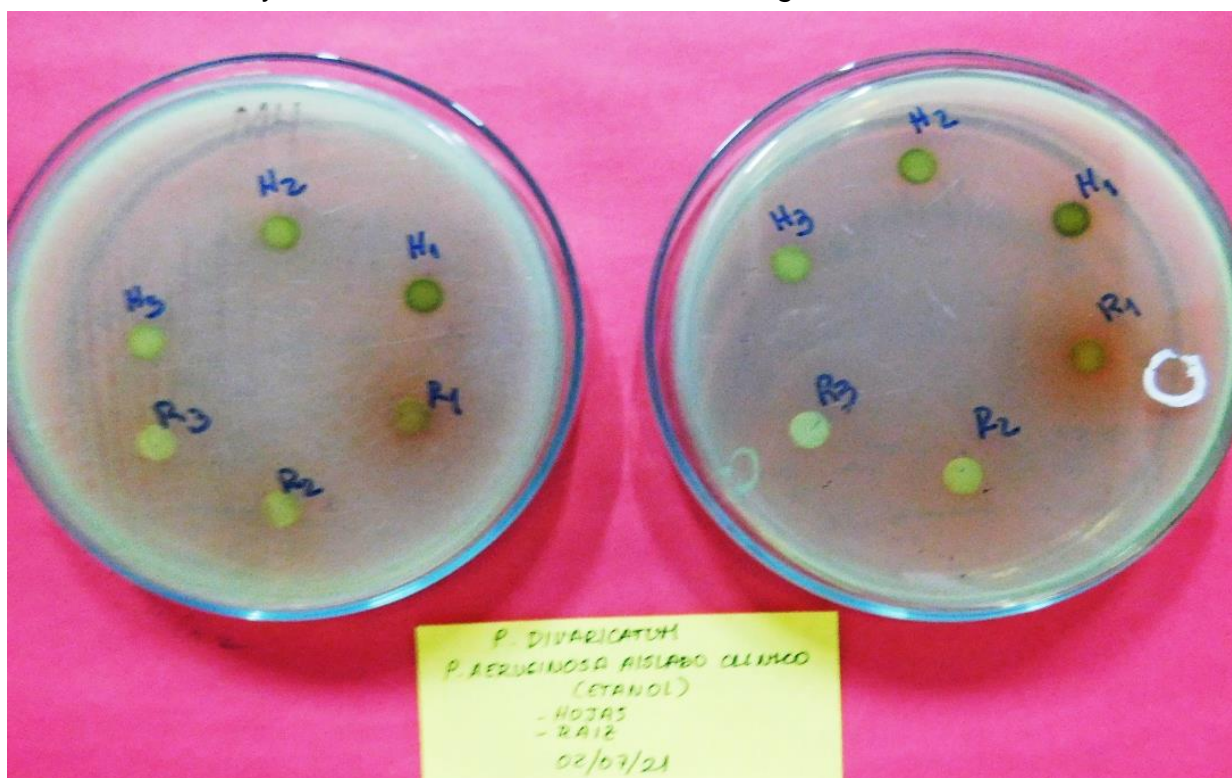
Tabla 44. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 44, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*.

Figura 128. Lectura de los discos del extracto etanólico de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 45. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 45, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Figura 129. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

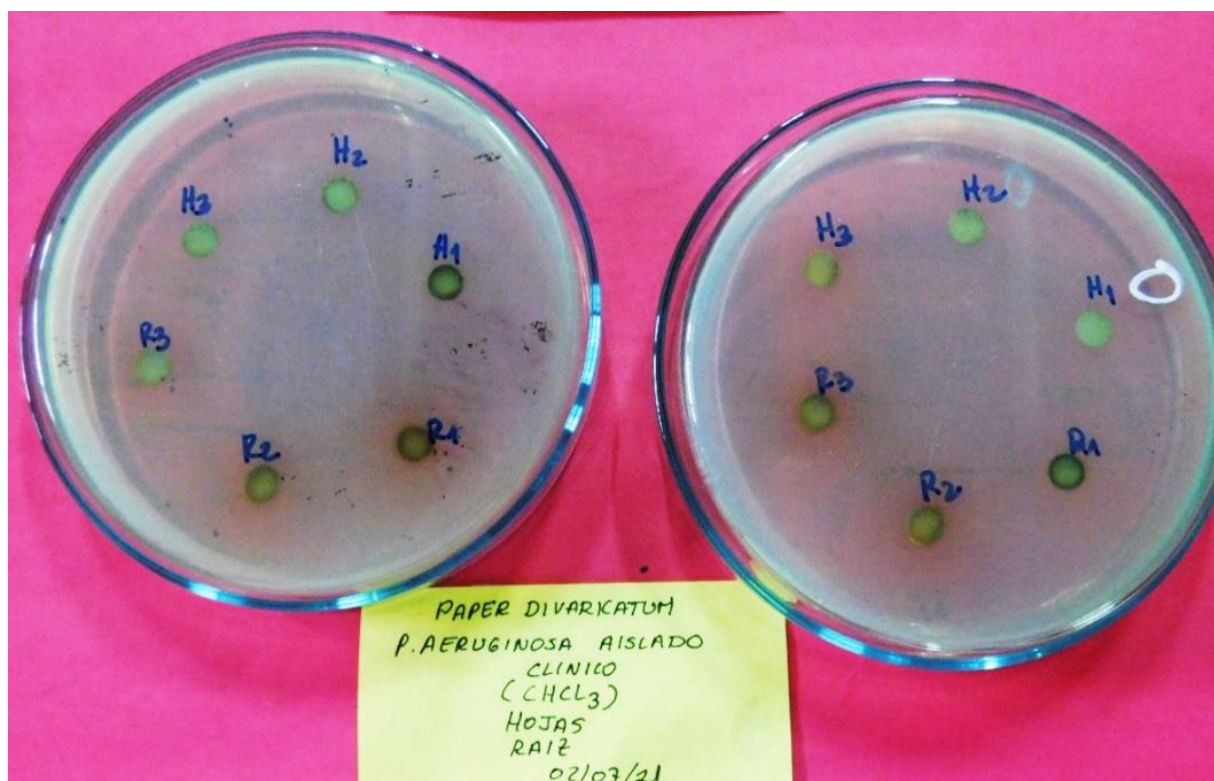
Tabla 46. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 46, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*.

Figura 130. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *P. aeruginosa*



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

4.3.7 Actividad antibacterina *in vitro* de los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico

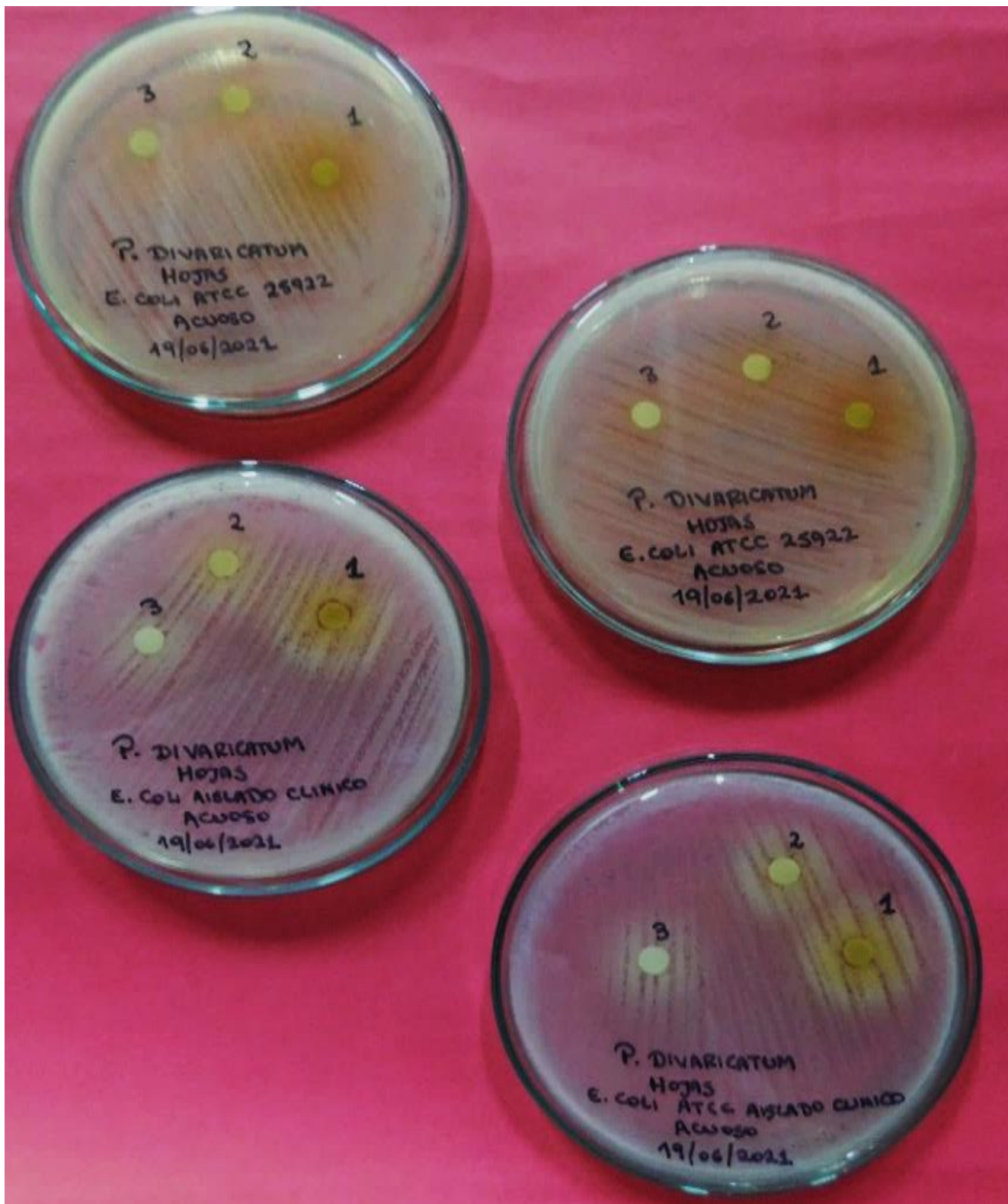
Tabla 47. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico

Concentraciones del extracto acuoso	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

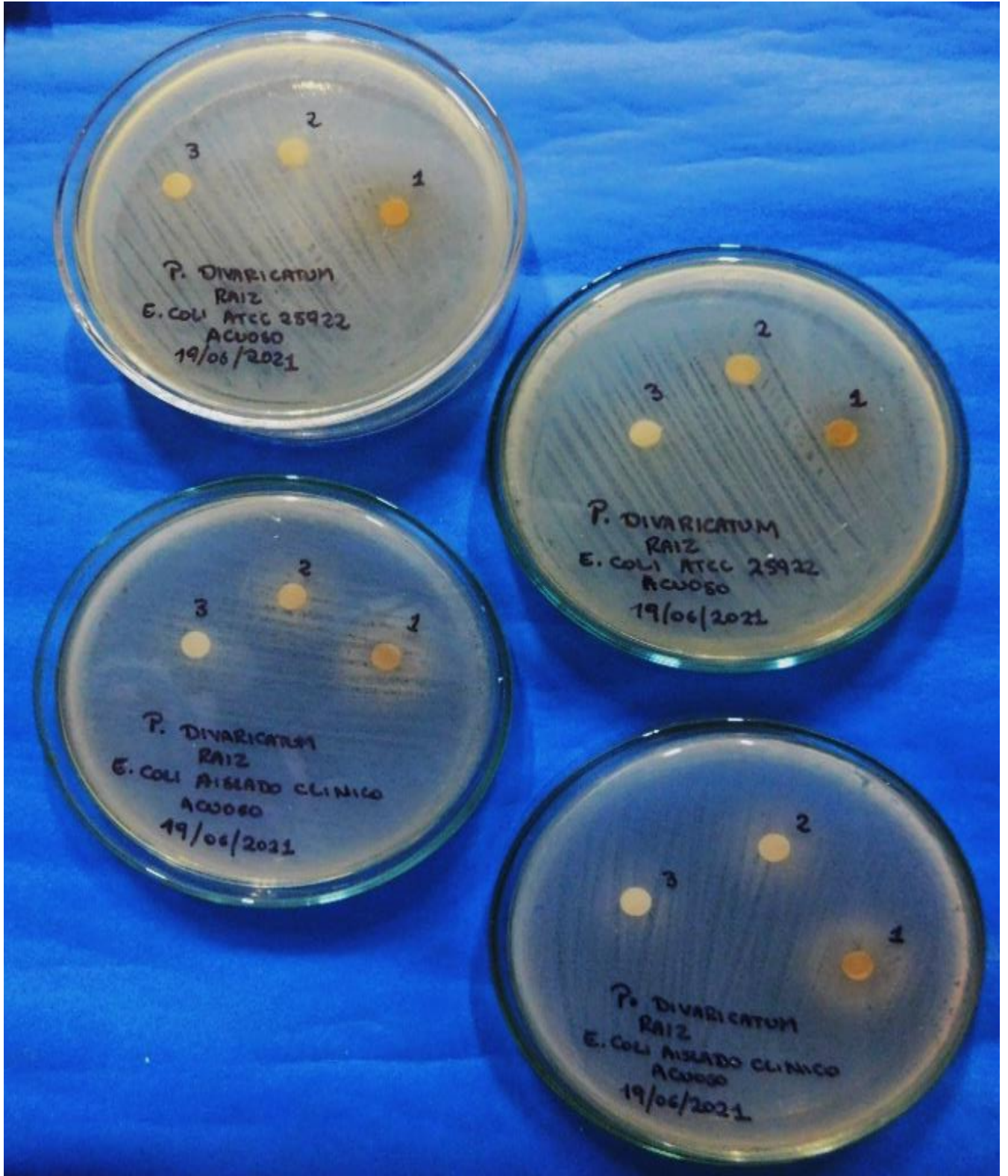
En la Tabla 47, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico.

Figura 131. Lectura de los discos del extracto acuoso de hojas de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 132. Lectura de los discos del extracto acuoso de la raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 48. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 48, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente a *E. coli* ATCC 25922.

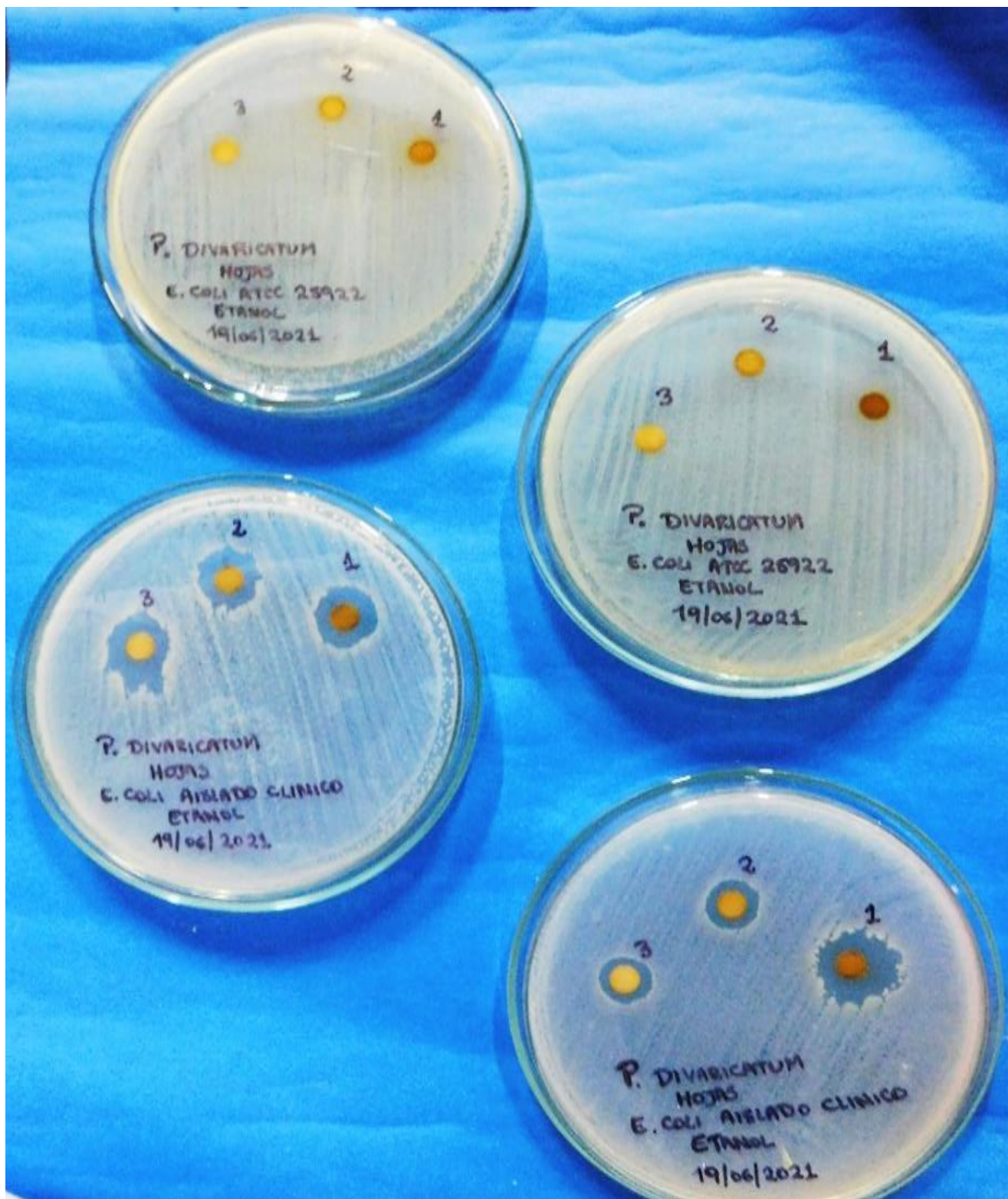
Tabla 49. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *E. coli*

Concentraciones del extracto etanólico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	12 mm	14 mm	14 mm	15 mm
62,5 mg/mL	12 mm	10 mm	15 mm	14 mm
31,25 mg/mL	12 mm	10 mm	14 mm	13 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 49, se observa que con las tres concentraciones ensayadas del extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. se formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *E. coli*.

Figura 133. Lectura de los discos del extracto etanólico de hojas de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 134. Lectura de los discos del extracto etanólico de la raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Tabla 50. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
31,25 mg/mL	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 50, se observa que ninguna de las tres concentraciones ensayadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente a *E. coli* ATCC 25922.

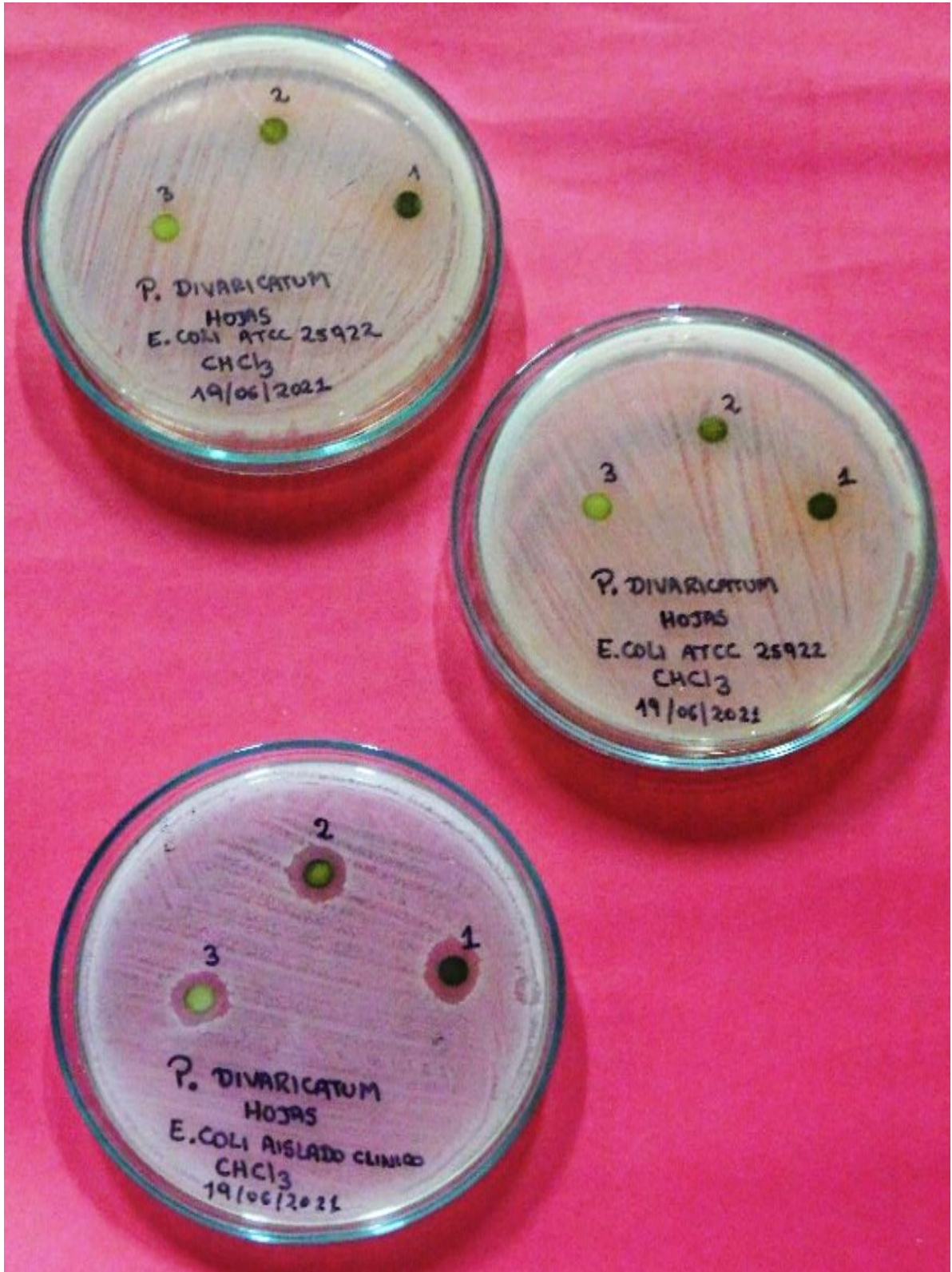
Tabla 51. Diámetros de los halos de inhibición (mm) del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *E. coli*

Concentraciones del extracto triclorometánico	Halos de inhibición			
	Hojas		Raíz	
125 mg/mL	10 mm	0 mm	13 mm	13 mm
62,5 mg/mL	11 mm	0 mm	13 mm	13 mm
31,25 mg/mL	10 mm	0 mm	13 mm	13 mm

Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

En la Tabla 51, se muestra que las concentraciones testadas del extracto triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición frente al aislado clínico de *E. coli*.

Figura 135. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de hojas de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

Figura 136. Lectura de los discos del extracto triclorometánico de la raíz de *P. divaricatum* G. Mey. frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico



Fuente: Camac-Isla; Navarro-Ramos (2021).

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

En el tamizaje fitoquímico de los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. se estableció abundancia de aminas y aminoácidos, azúcares reductores, carotenos, cumarinas fijas, fenoles y/o taninos, flavonoides, glicósidos cardiotónicos y quinonas, siendo los más destacados triterpenos y/o esteroides, compuestos grasos y lactonas. Estos resultados concuerdan con la investigación realizada por *Salamanca-Rodriguez, S., Galiano-La Rosa, M. A., (2016)*, quienes en su estudio denominado “Actividad antimicrobiana de cuatro especies del género *Piper* y elucidación estructural de sus aceites esenciales”, determinaron que los extractos etanólicos del género *Piper* poseen flavonoides, antraquinonas, taninos, compuestos fenólicos, triterpenoides y esteroides.

En la presente investigación, metabolitos secundarios tales como saponinas, alcaloides, flavonoides y taninos fueron identificados en los extractos acuoso y etanólico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. De acuerdo con *Arroyo, J., et al. (2011)*, los metabolitos (saponinas, taninos, alcaloides, flavonoides y aceites), identificados en el extracto etanólico del género *Piper*, probablemente, confieren la actividad antibacteriana. Estos resultados fueron presentados en el estudio titulado “Estudio fitoquímico del extracto etanólico y de las fracciones de las hojas de *Piper aduncum* “Matico”.

Avila, A. L. V., et al. (2018), en su estudio titulado “Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de *Piper auritum* Kunth”, establecieron que el extracto etanólico de las hojas y raíces de *P. auritum* Kunth presentaron actividad antibacteriana *in vitro* frente a *S. aureus* ATCC 25923 y *E. coli* ATCC 25922, mediante la técnica de difusión en pocillos. Estos resultados concuerdan, en parte, con los resultados obtenidos en nuestra investigación, debido a que se demostró que el extracto etanólico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G.

Mey, presentaron halos de inhibición de 15 mm y 13 mm, respectivamente frente a *S. aureus* ATCC 25923. Sin embargo, no se observaron halos de inhibición frente a *E. coli* ATCC 25922, resultado que, según lo establecido por Arroyo, J., et al. (2011), podría deberse a la diferente concentración de metabolitos secundarios presentes en cada especie (saponinas, taninos, alcaloides y aceites).

En el estudio realizado por Khan, A., et al. (2013), denominado “Antibacterial activity of *Nigella sativa* and *Piper nigrum*”, se determinó que el extracto acuoso de las semillas y frutos de *P. nigrum* presentaron mayor actividad antibacteriana *in vitro* frente a *E. coli* cuando comparado con *P. aeruginosa*. Así mismo, se estableció que el extracto metanólico fue activo frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*. Con todo, en nuestro estudio se estableció que los extractos acuoso y etanólico de hojas y raíz de *P. obtusifolium* C.DC. no presentaron actividad antibacteriana frente a los aislados clínicos y de referencia de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. Cabe indicar que apenas, el extracto triclorometánico de la raíz de *P. obtusifolium* C.DC. presentó halos de inhibición frente a *S. aureus* ATCC 25923. Esto podría deberse a que fueron diferentes las especies del género *Piper* ensayadas (*P. nigrum* y *P. obtusifolium*), así como los órganos vegetales empleados, siendo que para los ensayos de sensibilidad antibacteriana de *P. nigrum* se emplearon semillas y frutos, a diferencia de los órganos vegetales utilizados en nuestro estudio (hojas y raíces de *P. obtusifolium*).

En el presente estudio se determinó que los extractos etanólico y triclorometánico de las hojas y raíces de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición de 15 mm frente a *S. aureus* ATCC 25923. Estos resultados son similares a los reportados por Díaz-Cieza, C., (2019), quien en su investigación denominada “Actividad antibacteriana *in vitro*” del aceite esencial de Matico (*Piper aduncum*) sobre (*Staphylococcus aureus*)”, estableció que el aceite esencial de esta especie vegetal presentó actividad

antibacteriana frente a *S. aureus* ATCC 25923, formando halos de 15,28 mm, valores considerados como eficaces según dicho estudio.

Al-Tememy, M. K., (2013), en su estudio denominado “Antibacterial activity of *Piper cubeba* Linn. Fruit extracts against selected bacterial pathogens in Basrah city”, determinó que el extracto etanólico de *P. cubeba* presentó actividad antibacteriana frente a *S. aureus*. Así también, estableció que el extracto acuoso de esta especie vegetal fue activo frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*. Estos resultados son, parcialmente, similares a los obtenidos en nuestra investigación, ya que se estableció que el extracto etanólico de la raíz de *P. divaricatum* G. Mey. presentó halos de inhibición (13 mm) frente al aislado clínico de *S. aureus*. Entretanto, el extracto acuoso de esta especie vegetal no formó halos de inhibición frente a los aislados clínicos de *E. coli* y *P. aeruginosa*. Este último resultado podría deberse a los diversos grados de sensibilidad que presentan los aislados clínicos circulantes de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli* cuando son colectados de diferentes pacientes.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

En el **extracto acuoso** de hojas y raíz del *P. obtusilimum* C.DC. se observó que el mayor rendimiento se encontró en las hojas, con el 8,94 %; mientras que la raíz tuvo un rendimiento del 5,41%. En el **extracto etanólico** de los mismos órganos de la misma, el mayor rendimiento se encontró en las hojas, con el 7,38%; mientras que, la raíz presentó un rendimiento del 2,98%. En el porcentaje de rendimiento del **extracto triclorometánico** de dichos órganos se observó que el mayor rendimiento se encontró en las hojas, con el 5,54%; mientras que, la raíz presentó un rendimiento del 1,54%.

En el **extracto acuoso** de hojas y raíz del *P. divaricatum* G. Mey. se observó que el mayor rendimiento se encontró en las hojas, con el 10,47%; mientras que la raíz presentó un rendimiento del 4,06 %. En el **extracto etanólico** de los mismos órganos de la misma, se observó que el mayor rendimiento se encontró en las hojas, con el 18,32%; mientras que la raíz presentó el 7,29%. En el porcentaje de rendimiento del **extracto triclorometánico** de dichos órganos se observó que el mayor rendimiento se encontró en las hojas, con el 22,4 %; mientras que, la raíz presentó un rendimiento del 2,79%.

En el tamizaje fitoquímico del **extracto acuoso de hojas** de *P. obtusilimum* C.DC. se encontró presencia moderada de saponinas y leve presencia de antraquinona hidroxilada, flavonoides, leucoantocianidina, lípidos, lactonas, azúcares reductores y cumarinas fijas. En el **extracto acuoso de la raíz** de la misma especie, se encontró moderada presencia de flavonoides, lactonas y cumarinas fijas; así como leve presencia de triterpenos/esteroides, antraquinona hidroxilada, lípidos, saponinas, azúcares reductores y catequinas.

En el **extracto etanólico de hojas** de *P. obtusilumbum* C.DC. se identificó abundante presencia de carotenos, moderada presencia de triterpenos/esteroides, flavonoides y fenoles/taninos; y leve presencia de naftoquinonas y antraquinonas, lípidos, saponinas, lactonas, cumarinas fijas y catequinas. En el **extracto etanólico de la raíz** se encontró abundante presencia de flavonoides, aminos y/o aminoácidos, lactonas y catequinas, además moderada presencia de quinonas, carotenos, compuestos grasos y cumarinas fijas; así como leve presencia de alcaloides, triterpenos/esteroides, antraquinona hidroxilada, naftoquinonas/antraquinonas, glicósidos cardiotónicos, fenoles/taninos y azúcares reductores.

En el **extracto triclorometánico de hojas** de *P. obtusilumbum* C.DC. se encontró abundante presencia de triterpenos/esteroides y carotenos, así como moderada presencia de glicósidos cardiotónicos y fenoles/taninos; además, leve presencia de alcaloides, lípidos, lactonas, cumarinas fijas y catequinas. En el **extracto triclorometánico de la raíz** se identificó abundante presencia de flavonoides, lípidos, cumarinas fijas y catequinas; así como moderada presencia de alcaloides, lactonas y azúcares reductores; y leve presencia de triterpenos/esteroides, quinonas, carotenos y glicósidos cardiotónicos.

En el **extracto acuoso de hojas** de *P. divaricatum* G. Mey. Se identificó moderada presencia de lípidos; y leve presencia de alcaloides, triterpenos/esteroides, flavonoides, carotenos y lactonas. Asimismo en el **extracto acuoso de la raíz** se identificó moderada presencia de lactonas y leve aparición de saponinas.

En el **extracto etanólico de hojas** de *P. divaricatum* G. Mey. Se encontró abundante presencia de triterpenos y/o esteroides, glicósidos cardiotónicos, fenoles y/o taninos y lactonas, así como moderada presencia de quinonas y lípidos; y leve presencia de flavonoides,

carotenos, cumarinas fijas y catequinas. Asimismo en el **extracto etanólico de la raíz** se identificó abundante presencia de quinonas, glicósidos cardiotónicos, lípidos, lactonas, azúcares reductores y catequinas; así como moderada presencia de triterpenos/esteroides, fenoles/taninos y cumarinas fijas; y leve presencia de naftoquinonas/antraquinonas y flavonoides .

En el **extracto triclorometánico de hojas** de *P. divaricatum* G. Mey. se identificó abundante presencia de triterpenos y/o esteroides, fenoles y/o taninos y lactonas, así como moderada presencia de, carotenos, glicósidos cardiotónicos y lípidos; y leve presencia de flavonoides, quinonas, cumarinas fijas y catequinas (levemente). Asimismo en el **extracto triclorometánico de la raíz** de la misma especie se encontró abundante presencia de quinonas y lípidos; además moderada presencia de triterpenos/esteroides, carotenos y glicósidos cardiotónicos y lactonas; y leve presencia de naftoquinonas/antraquinonas, flavonoides, fenoles/taninos, azúcares reductores y catequinas.

Los extractos acuoso y etanólico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. no se obtuvo formación de halos de inhibición en ninguna de las tres concentraciones testadas frente a *S. aureus* ATCC 25923 y al aislado clínico de *S. aureus*.

En el extracto triclorometánico de las hojas tampoco se obtuvo formación de halos de inhibición, frente a *S. aureus* ATCC 25923 y al aislado clínico de *S. aureus*. Mientras que, el extracto triclorometánico de la raíz a la concentración de 125 mg/mL, se obtuvo un halo de inhibición de 9 mm frente a *S. aureus* ATCC 25923. Sin embargo, se determinó que el extracto no presentó actividad antibacteriana, debido a que el diámetro de halo de inhibición obtenido fue inferior a 15 mm, lo cual se considera como Resistente.

Los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. no obtuvieron formación de halos de inhibición en ninguna de las tres concentraciones testadas frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 y al aislado clínico de *P. aeruginosa*.

Los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. no obtuvieron formación de halos de inhibición en ninguna de las tres concentraciones testadas frente a *E. coli* ATCC 25922 y al aislado clínico de *E. coli*.

El extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. no obtuvo formación de halos de inhibición en ninguna de las tres concentraciones testadas frente a *S. aureus* ATCC 25923. Por otro lado, el extracto acuoso de hojas de *P. divaricatum* G. Mey. frente al aislado clínico de *S. aureus*. en la concentración de 125 mg/mL se obtuvo un halo de inhibición de 9 mm.

Sin embargo se determinó que el extracto no presentó actividad antibacteriana debido a que el diámetro de halo de inhibición obtenido fue inferior a 15 mm, por lo que se considera como Resistente.

Los extractos etanólicos de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. formaron halos de inhibición a las tres concentraciones testadas (de 15 mm y 13 mm) respectivamente, frente a *S. aureus* ATCC 25923, formándose el mayor halo de inhibición a la concentración de 125 mg/mL. El extracto etanólico de hojas de *P. divaricatum* G. Mey. no obtuvo formación de halo de inhibición frente al aislado clínico de *S. aureus*. Mientras que, el extracto etanólico de la raíz sí obtuvo formación de halo de inhibición de 13 mm frente al aislado clínico de *S. aureus*.

Sin embargo se determinó que ninguno de los extractos presentaron actividad antibacteriana debido a que los diámetros de los halos de inhibición obtenidos fueron inferiores a 15 mm, por lo que se considera como Resistente.

Los extractos triclorometánicos de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. presentaron ambos formación de halos de inhibición de 12 mm frente a *S. aureus* ATCC 25923 y al aislado clínico de *S. aureus*.

Sin embargo, se determinó que el extracto no presentó actividad antibacteriana debido a que el diámetro de halo de inhibición obtenido fue inferior a 15 mm, por lo que se considera como Resistente.

El extracto acuoso de hojas de *P. divaricatum* G. Mey. formó un halo de inhibición de 7mm a la concentración de 125 mg/mL frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853, pero no se obtuvo el mismo resultado en el aislado clínico. Mientras que en la raíz no se obtuvo formación de ningún halo de inhibición frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 y al aislado clínico de *P. aeruginosa*., Por otro lado, los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. no formaron halos de inhibición a ninguna de las concentraciones testadas frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 y al aislado clínico de *P. aeruginosa*.

En el extracto acuoso de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. se muestra que ninguna de las concentraciones testadas, formaron de inhibición frente a *E. coli* ATCC25922 y al aislado clínico de *E. coli*.

Por otro lado, los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. divaricatum* G. Mey. no se observa en ninguna de las concentraciones ensayadas, la formación de halos de inhibición frente a *E. coli* ATCC25922. Mientras que, en los extractos etanólico y triclorometánico de hojas y raíz *P. divaricatum* G. Mey. se observa la formación de halos de inhibición (14mm y 15mm) y (11mm y 13mm) respectivamente, frente al aislado clínico de *E. coli*.

Sin embargo, se determinó que el extracto no presentó actividad antibacteriana debido a que el diámetro de halo de inhibición obtenido fue inferior a 15 mm, por lo que se considera como Resistente.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de tamizaje fitoquímico empleando otros solventes en hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.
- Realizar estudios de tamizaje fitoquímico empleando otros órganos de las especies vegetales *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.
- Que se realicen estudios de HPLC, empleando los mismos órganos de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. y los mismos solventes que fueron utilizados en la presente investigación, con la finalidad de determinar la composición química de los compuestos constituyentes.
- Realizar estudios para determinar si los extractos acuoso, etanólico y triclorometánico de hojas y raíz de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey. poseen actividad antimicótica, antiviral u otras.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Gallegos Zurita ME. Las plantas medicinales: usos y efectos en el estado de salud de la población rural de Babahoyo–Ecuador–2015. 2017;
2. Benítez NP, Bueno JG, Zapata B, Stashenko EE, Arango AM, Montiel J, et al. Actividad in vitro anti-candida y anti-aspergillus de aceites esenciales de plantas de la familia piperaceae. *Sci Tech*. 2007;1(33):247-9.
3. Salehi B, Zakaria ZA, Gyawali R, Ibrahim SA, Rajkovic J, Shinwari ZK, et al. Piper species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. *Molecules*. 2019;24(7):1364.
4. León Cadena VE. Validación del método artesanal propuesto por José Ducbach, para la detección de diferentes tipos de antibióticos en leche de fincas ganaderas de los Cantones Cayambe y Pedro Moncayo. [B.S. thesis]. 2013.
5. Ciccio J. Chemical composition of the leaf oil of *Peperomia hernandiifolia* (Piperaceae) from Costa Rica. *Lankesteriana*. 2005;
6. Kaveti B, Tan L, Sarnnia KT, Baig M. Antibacterial activity of Piper betle leaves. *Int J Pharm Teach Pract*. 2011;2(3):129-32.
7. M. K. Al-Tememy T. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PIPER CUBEBA LINN. FRUIT EXTRACTS AGAINST SELECTED BACTERIAL PATHOGENS IN BASRAH CITY. *Basrah J Vet Res*. 28 de junio de 2013;12(1):142-51.
8. Khan A, Ali S, Rehman A, Ali H, Ahmad T, Waqar M, et al. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF NIGELLA SATIVA AND PIPER NIGRUM. *ASIAN J Nat Appl Sci*. 22 de diciembre de 2013;2:74-80.
9. Valle Jr DL, Andrade JI, Puzon JJM, Cabrera EC, Rivera WL. Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2015;5(7):532-40.

10. Madhumita M, Guha P, Nag A. Extraction of betel leaves (*Piper betle* L.) essential oil and its bio-actives identification: Process optimization, GC-MS analysis and anti-microbial activity. *Ind Crops Prod.* 2019;138:111578.
11. da Silva JKR, Andrade EHA, Guimaraes EF, Maia JGS. Essential oil composition, antioxidant capacity and antifungal activity of *Piper divaricatum*. *Nat Prod Commun.* 2010;5(3):1934578X1000500327.
12. Barbosa QP, da Câmara CA, Ramos CS, Nascimento DC, Lima-Filho JV, Guimarães EF. Chemical composition, circadian rhythm and antibacterial activity of essential oils of *Piper divaricatum*: a new source of safrole. *Quím Nova.* 2012;35:1806-8.
13. Brazao MAB, Brazao FV, Guilherme J, Monteiro MC. Antibacterial activity of the *Piper aduncum* oil and dillapiole, its main constituent, against multidrug-resistant strains. *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromáticas.* 2014;13(6):517-26.
14. Syahidah A, Saad CR, Hassan MD, Rukayadi Y, Norazian MH, Kamarudin MS. Phytochemical Analysis, Identification and Quantification of Antibacterial Active Compounds in Betel Leaves, *Piper betle* Methanolic Extract. *Pak J Biol Sci PJBS.* 2017;20(2):70-81.
15. Avila ALV, Fontanills YR, Campos CC, Maure OB, Trujillo MM, del Castillo MS, et al. Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de *Piper auritum* Kunth. *Av En Investig Agropecu.* 2018;22(1):77-90.
16. Arroyo J, Bonilla P, Tomás Ch G, Huamán J. Estudio Fitoquímico del extracto etanólico y de las fracciones de las hojas de *Piper aduncum* "Matico". *Rev Peru Quím E Ing Quím.* 2011;14(1 y 2):62-7.
17. Flores K, Puente A. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Piper aduncum* "matico" sobre *Escherichia coli* [PhD Thesis]. Tesis]. Huancayo: Universidad Peruana los Andes; 2016.

18. Salamanca Rodriguez S, Galiano La Rosa MA. Actividad antimicrobiana de cuatro especies del género Piper y elucidación estructural de sus aceites esenciales. 2016;
19. Díaz Cieza C. Actividad Antibacteriana “In Vitro” del Aceite Esencial de Matico (Piper aduncum) sobre (Staphylococcus aureus). 2019;
20. Zavaleta-Espejo G, Zavaleta-Castro C, Saldaña-Jiménez J, Aguilar-Sánchez A. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Piper angustifolium (Piperaceae) sobre Proteus mirabilis. Rev Investig Univ Cordon Bleu. 2019;6(1):77-84.
21. Xiang CP, Shi YN, Liu FF, Li HZ, Zhang YJ, Yang CR, et al. A Survey of the Chemical Compounds of Piper spp.(Piperaceae) and Their Biological Activities. Nat Prod Commun. 2016;11(9):1934578X1601100948.
22. da Silva J, da Trindade R, Alves N, Figueiredo P, Maia J, Setzer W. Essential Oils from Neotropical Piper Species and Their Biological Activities. Int J Mol Sci. 14 de diciembre de 2017;18(12):2571.
23. Trujillo W, Cardozo F. El género Piper (Piperaceae) en la reserva natural Las Dalias, municipio de La Montañita-Caquetá. Rev Momentos Cienc. 1 de enero de 2013;10:88-96.
24. Vargas Córdova CA, Guayanlema Chávez JD. Determinación de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de dos especies de la familia Piperaceae recolectadas en la provincia del Guayas–Ecuador, durante el período abril-agosto del 2016 [B.S. thesis]. Universidad Nacional de Chimborazo, 2017; 2017.
25. Universidad Nacional de Colombia: Colecciones [Internet]. [citado 23 de julio de 2021]. Disponible en: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/colecciones/detail/338264/>

26. López Camacho R. Manual de identificación de especies no maderables del corregimiento de Tarapacá, Colombia. Primera edición. Bogotá, D.C., Colombia: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas, SINCHI : Cooperación Técnica Alemana GTZ; 2006. 1 p.
27. Queiroz GA de, Barros AAM de, Guimarães EF. Piper (Piperaceae) from Serra da Tiririca State Park, Niterói/Maricá, RJ, Brazil. *Rodriguésia*. 2020;71.
28. Chitiva Chitiva LC. Búsqueda de sustancias antifúngicas para el control de hongos fitopatógenos a partir de constituyentes químicos presentes en Piper pesaresanum. *Química*. 2019;
29. Silva JA, Oliveira FF, Guedes ES, Bittencourt MAL, Oliveira RA. Atividade antioxidante de Piper arboreum, Piper dilatatum e Piper divaricatum. *Rev Bras Plantas Med*. 2014;16:700-6.
30. Queiroz GA de, Barros AAM de, Guimarães EF. Piper (Piperaceae) do Parque Estadual da Serra da Tiririca, Niterói / Maricá, RJ, Brasil. *Rodriguésia*. 2020;71:e01992018.
31. Ferreira GK dos S, Margalho JF, Almeida LQ, Anjos TO dos, Cascaes MM, Nascimento LD do, et al. Avaliação sazonal e circadiana do óleo essencial das folhas de Piper divaricatum G. Mey. (Piperaceae) / Seasonal and circadian evaluation of the essential oil of Piper divaricatum G. Mey. (Piperaceae) Leaves. *Braz J Dev*. 27 de junio de 2020;6(6):41356-69.
32. Mendoza C, Delgado WA, Fonseca Hernández LR, Roa A, Álvarez J, Reina Sánchez GA, et al. Plantas de la familia Piperaceae del Sumapaz Medio y bajo Occidental [Internet]. Universidad de Cundinamarca; 2018 [citado 24 de julio de 2021]. Disponible en: <http://repositorio.ucundinamarca.edu.co/handle/20.500.12558/1485>

33. Jaramillo-Colorado BE, Duarte-Restrepo E, Pino-Benítez N. Evaluación de la actividad repelente de aceites esenciales de plantas Piperáceas del departamento de Chocó, Colombia. *Rev Toxicol.* 2015;32(2):112-6.
34. Hung BM, Guzmán BH, Sosa EH, Hung YA. Caracterización Físico-Química Del Extracto Acuoso De *Zuelania* Sp. *Rev Cuba Quím.* 2006;XVIII(1):258-68.
35. Foster TJ, Geoghegan JA. *Staphylococcus aureus*. En: *Molecular Medical Microbiology* [Internet]. Elsevier; 2015 [citado 24 de julio de 2021]. p. 655-74. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123971692000378>
36. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Sales L, Salvaggio L. *Microbiología médica. El Manual Moderno México, DF; 1996.*
37. John J, George S, Nori SRC, Nelson-Sathi S. Phylogenomic Analysis Reveals the Evolutionary Route of Resistant Genes in *Staphylococcus aureus*. Pisani D, editor. *Genome Biol Evol.* 1 de octubre de 2019;11(10):2917-26.
38. Zhou K, Li C, Chen D, Pan Y, Tao Y, Qu W, et al. A review on nanosystems as an effective approach against infections of *Staphylococcus aureus*. *Int J Nanomedicine.* noviembre de 2018;Volume 13:7333-47.
39. Eggers S, Safdar N, Malecki KM. Heavy metal exposure and nasal *Staphylococcus aureus* colonization: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Environ Health.* diciembre de 2018;17(1):2.
40. MICROBIOLOGIA MEDICA DE JAWETZ 27 ED [Internet]. Mediterraneo. [citado 24 de julio de 2021]. Disponible en: <https://mediterraneo.cl/inicio/1143-microbiologia-medica-de-jawetz-27-ed.html>

41. Paz-Zarza VM, Mangwani-Mordani S, Martínez-Maldonado A, Álvarez-Hernández D, Solano-Gálvez SG, Vázquez-López R, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenicity and antimicrobial resistance in urinary tract infection. *Rev Chil Infectol.* abril de 2019;36(2):180-9.
42. Oliva-Menacho J. Genes que expresan resistencia a carbapenemasas presentes en *Pseudomona aeruginosa*. *Rev Peru Cienc Salud.* 1 de enero de 2021;3(1):e244-e244.
43. Liu D. *Escherichia coli*☆. En: Reference Module in Biomedical Sciences [Internet]. Elsevier; 2014 [citado 24 de julio de 2021]. p. B9780128012383023000. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128012383022911>
44. Rojas LC, Uribe YH, Martínez NS, Niño DR. Análisis Fitoquímico Preliminar De Hojas, Tallos Y Semillas De Cupatá (*strych Nos Schultesia Krukoff*). *Colomb For.* 2009;12:161-70.
45. Dorland A, Méndez R, Baleriola I. *Dorland Diccionario de Idiomas de Medicina.*—30 edición. Madrid: Elsevier, España; 2005.
46. Famiglietti A, Quinteros M, Vázquez M, Marín M, Nicola F, Radice M, et al. Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en *Enterobacteriaceae*. *Rev Argent Microbiol.* 2005;10.
47. Ruiz G, Susunaga C. Actividad antimicrobiana presente en partes aéreas de las especies *Bursera simaoruba* y *Bursera graveolens* (*Burseraceae*), frente a microorganismos como: *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma viride* y *Botrytis cinere*. *Erwinia Carotovora Fusarium Oxysporum Trichoderma Viride Botrytis Cinere.* 2000;40.
48. Torres DC, Estupiñán JC. Estimado Del Costo Global De La Obtención De Un Extracto Acuoso Del Alga *Gracilaria Cylindrica* Con Posible Empleo Como Cosmético. *Rev Cuba Quím.* 2007;XIX(1):44-6.

49. Pérez-Delgado O, Vallejos-Campos EC. Actividad antifúngica *in vitro* del extracto crudo acuoso de *Rosmarinas officinalis* contra *Candida albicans*. J Selva Andina Res Soc. 1 de febrero de 2019;10(1):45-51.
50. Villa AAG. OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS ETANOLICOS DE PLANTAS DEL AMAZONAS. :100.
51. Quezada M del PR, Gamarra O, Azahuanche FRP. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de seis plantas medicinales usadas en Amazonas. Med Natur. 2021;15(1):32-7.
52. Chhabra SC, Uiso FC, Mshiu EN. Phytochemical screening of Tanzanian medicinal plants. I. J Ethnopharmacol. 1984;11(2):157-79.

ANEXOS

ANEXO 1. Constancia de identificación de *P. obtusilimum* C.DC. y *P. divaricatum* G. Mey.



UNAP

**Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense - AMAZ**

**INSTITUCION CIENTIFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CODIGO DE AUTORTIZACION AUT-ICND-2017-005**

CONSTANCIA

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, las muestras botánicas presentada por **Andrea Johana Camac Isla** y **Thalia Libeth Navarro Ramos**, bachilleres de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la **Universidad Nacional de la Amazonia Peruana**, pertenecen a la tesis titulado: **"TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE HOJAS Y RAIZ DE *Piper obtusilimum* C.DC. Y *Piper divaricatum* G. Mey"**., han sido **DETERMINADAS** en este Centro de Investigación y Enseñanza, **Herbarium Amazonense-AMAZ**, del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP-CIRNA-UNAP, como se indica a continuación:

N°	Código AMAZ	Nombre Científico	Familia
1	039928	<i>Piper obtusilimum</i> C.DC.	Piperaceae
2	000862	<i>Piper divaricatum</i> G. Mey.	Piperaceae

Se expide la presente constancia a las interesadas, para los fines que estimen conveniente.

Atentamente,

Iquitos, 08 de abril del 2021


Richard J. Huananca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



ANEXO 2. Constancia de liofilización de los extractos acuosos



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año del Bicentenario del Perú: 200 Años de Independencia"

CONSTANCIA

El Ing. **Gabriel Emilio Vargas Arana** Dr. Jefe del laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP)

Hace constar

Que, los extractos acuosos presentadas por las bachilleres **ANDREA JOHANA CAMAC ISLA** y **THALIA LIBETH NAVARRO RAMOS** de la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNAP pertenece a la tesis de pre grado titulado "**TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE HOJAS Y RAÍZ DE *Piper obtusifolium* C. DC. y *Piper divaricatum* G. MEY**", han sido liofilizadas en el Laboratorio Química de Productos Naturales del IIAP.

Se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estima conveniente.

Iquitos, 31 de agosto de 2021

Atentamente,



Ing. Gabriel E. Vargas Arana Dr.
Jefe del LQPN-IIAP



OFICINA IQUITOS - LORETO - PERÚ
Av. José Abelardo Kim, 2.5 Quilómetros Km. 2.5
Telf: (051-05) 282115- 282116. Apdo. postal 754 Iquitos
E-mail: coordinacion@iiap.org.pe
OFICINA DE COORDINACIÓN – LMA – PERÚ
Av. Lazo 630, 01501, Miraflores.
Telf: (051-1) 445763 E-mail: coordinacion@iiap.org.pe

ANEXO 3. Constancia del tamizaje fitoquímico de los extractos.



UNAP



Universidad Nacional de la Amazonía Peruana
Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRNA)

Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonía

“Año del fortalecimiento de la soberanía Nacional”

CONSTANCIA

El que suscribe, Coordinadora del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Universidad Nacional de la Amazonía (LIPNAA).

HACE CONSTAR:

Que los Bachilleres, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNAP, **ANDREA JOHANA, CAMAC ISLA. Y THALIA LIBETH, NAVARRO RAMOS**, cuyo trabajo final tiene por título: **“Tamizaje Fitoquímico y Actividad Antibacteriana de extractos de hojas y raíz de *Piper obtusifolium* C. DC y *Piper divaricatum* G. MEY.**

Se deja constancia que el tamizaje Fitoquímico a nivel Cualitativo de los extractos, etanólico, triclorometano y acuoso de la especie ***Piper obtusifolium* y *Piper divaricatum***, se realizaron en el Laboratorio de Fitoquímica-LIPNAA-CIRNA-UNAP, de acuerdo a los protocolos estandarizados.

A los Dieciséis días del mes de febrero del dos mil veintidós, se expide la presente constancia a los interesados, para los fines que estimen pertinentes.

Atentamente,

Ing. Lastenia Ruiz Mesa. Dra.
Coordinadora del LIPNAA-UNAP



Somos la Universidad licenciada más importante de la Amazonia del Perú, rumbo a la acreditación y la internacionalización

Dirección: Pasaje Los Paujiles S/N –Nuevo San Lorenzo, San Juan Bautista, Iquitos-Perú
www.unapiquitos.edu.pe

ANEXO 4. Constancia de la actividad antibacteriana de los extractos.



UNAP



"UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA"
CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE RECURSOS NATURALES
Unidad especializada del laboratorio de investigación de microbiología (LIM)

"Año del bicentenario del Perú: 200 años de independencia"

CONSTANCIA

La que suscribe, Coordinadora de la Unidad Especializada del Laboratorio de Investigación de Microbiología de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.

Hace constar

Que las bachilleres, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNAP, **ANDREA JOHANA CAMAC ISLA y THALIA LIBETH NAVARRO RAMOS**, cuyo trabajo final tiene por título **"TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE HOJAS Y RAÍZ DE *Piper obtusifolium* C. DC. Y *Piper divaricatum* G. MEY"**.

Se deja constancia que los Análisis de la ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA por el Método de Kirby - Bauer (método de difusión de disco en agar) de los extractos acuoso, etanólico y triclorometano de las hojas y raíz de las especies de *Piper obtusifolium* C. DC. y *Piper divaricatum* G. Mey. se realizaron en el Laboratorio de Investigación de Microbiología – LIM-CIRNA-UNAP, de acuerdo con los protocolos estandarizados.

A los ocho días del mes de noviembre del dos mil veintiuno, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estimen conveniente.

Atentamente,

María E. Bendayan Acosta

Blga. María Elena Bendayan Acosta, MSc.

Coordinadora de la Unidad Especializada de microbiología.

