

Artículo original

Actividad antioxidante, larvicida, acaricida y antimicrobiana de los extractos etanólicos de *Piper marginatum* y *Piper tuberculatum* de Ecuador.

Antioxidant, larvicidal, acaricidal and antimicrobial activity of ethanolic extracts of *Piper marginatum* and *Piper tuberculatum* from Ecuador.

Moncayo Shirley^{1,2*}, Rondón María Eugenia², Cornejo Xavier³.

¹Carrera Agroindustria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil 090104, Ecuador. ²Cátedra de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela. ³Herbario GUAY, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Guayaquil 090601, Ecuador.

Recibido: agosto de 2023–Aceptado: octubre de 2023

RESUMEN

Piper marginatum y *Piper tuberculatum* son especies conocidas en Ecuador y Latinoamérica por sus distintos usos etnobotánicos, sin embargo, los extractos de estas especies del país no cuentan con análisis que justifiquen sus aplicaciones. El presente trabajo analizó la actividad antimicrobiana, antioxidante, acaricida y larvicida de extractos etanólicos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum* colectados en el occidente del Ecuador. La actividad antioxidante se analizó mediante el método de captación del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). La actividad larvicida se determinó frente al mosquito *Aedes aegypti* con el protocolo descrito por la Organización Mundial de la Salud (OMS). La capacidad acaricida se evaluó frente a la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* por la técnica de toxicidad por contacto. La actividad antimicrobiana fue determinada con el método de difusión en agar con discos frente a cepas de referencia. Ambos extractos alcanzaron un porcentaje de inhibición mayor a 70%. El extracto de *P. tuberculatum* obtuvo la mayor actividad larvicida y acaricida (CL₅₀ de 16,51 ppm y 0,87 mg/mL respectivamente). El extracto de *P.*

marginatum inhibió las cepas de *Staphylococcus aureus* (halos de inhibición de 13,70 mm y CIM 0,07 mg/mL) y *Citrobacter freundii* (halos de inhibición de 14,0 mm y CIM 0,63 mg/mL). Los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum*, podrían servir para el desarrollo de nuevos agentes biocidas y antioxidantes.

PALABRAS CLAVE

Acaricida, antimicrobiano, antioxidante, larvicida, *Piper*, fenoles totales.

ABSTRACT

Piper marginatum and *Piper tuberculatum* are species known in Ecuador and Latin America for their different ethnobotanical uses; however, the extracts of these species in the country do not have analyses that justify their applications. The present work analyzed the antimicrobial, antioxidant, acaricidal and larvicidal activity of ethanolic extracts of *P. marginatum* and *P. tuberculatum* collected in western Ecuador. Antioxidant activity was analyzed by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical method. Larvicidal activity was determined against the *Aedes aegypti* mosquito using the protocol described by the

World Health Organization. The acaricidal capacity was evaluated against the tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* by the contact toxicity technique. The antimicrobial activity was determined with the agar diffusion method with discs against reference strains. Both extracts showed an inhibition percentage higher than 70%. The extract of *P. tuberculatum* obtained the highest larvicidal and acaricidal activity (LC₅₀ of 16.51 ppm and 0.87 mg/mL, respectively). The extract of *P. marginatum* inhibited *Staphylococcus aureus* strains (inhibition halos of 13.70 mm and MIC 0.07 mg/mL) and *Citrobacter freundii* (inhibition halos of 14.0 mm and MIC 0.63 mg/mL). The extracts of *P. marginatum* and *P. tuberculatum* could be used for the development of new biocidal and antioxidant agents.

KEY WORDS

Acaricidal, antimicrobial, antioxidant, larvicidal, *Piper*, total phenols.

INTRODUCCIÓN

De distribución pantropical, el género *Piper* es el más grande y con mayor importancia comercial y medicinal dentro de la familia Piperaceae [1]. Sus aplicaciones tradicionales se han relacionado con la presencia de metabolitos como alcaloides, fenilpropanos, terpenos y flavonoides en su composición, los cuales muestran efectos sobre la salud humana [2].

En Ecuador se han reportado 218 especies del género *Piper*, de las cuales 61 son especies endémicas [3]. En el país, se han realizado estudios de la actividad biológica y composición química de aceites esenciales de especies del género *Piper*, los cuales han demostrado actividad antifúngica, antibacteriana y larvicida [4-6]. Sin embargo, las investigaciones dirigidas a los extractos de especies de este género son escasas.

En Ecuador, *P. marginatum* conocido como “cordoncillo blanco” se utiliza para tratar hemorragias y mordeduras de serpientes [7]. Estudios reportan su capacidad antibacteriana, larvicida e insecticida [8-10]. *P. tuberculatum*,

“Mujtundu tape” en lengua chachi’ki, es empleado por los indígenas Chachi de la costa ecuatoriana para tratar la pediculosis [7] y varios reportes confirman su propiedad antifúngica, larvicida y acaricida [11-13]. A pesar de estas aplicaciones, los extractos de especímenes de *P. marginatum* y *P. tuberculatum* colectados en Ecuador no han sido estudiados.

El objetivo de esta investigación fue analizar la actividad antimicrobiana, antioxidante, acaricida y larvicida de los extractos etanólicos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: *P. marginatum* se recolectó en el cantón Cumandá, provincia de Chimborazo (2°12'12" S, 79°06'36" W) y *P. tuberculatum*, en la vía El Triunfo-Bucay, en la provincia del Guayas (2°18'9" S, 79°14'16" W). La identificación de las muestras botánicas se realizó en el Herbario GUAY de la Universidad de Guayaquil, donde se depositaron bajo los códigos MER06 (*P. marginatum*) y MER07 (*P. tuberculatum*).

Preparación del extracto: El material vegetal (hojas, tallos e inflorescencias) fue secado a 40°C en estufa por tres días y posteriormente fue pulverizado. Los extractos se obtuvieron por maceración de 150 g de material pulverizado con 1 L de etanol al 98% por 5 días a temperatura ambiente, la cual se repitió hasta agotamiento del material vegetal. Las soluciones obtenidas fueron filtradas por gravedad y concentradas en un rotavapor al vacío.

Tamizaje fitoquímico: Los extractos fueron evaluados para determinar la presencia de alcaloides, flavonoides, saponinas, antraquinonas, esteroides, triterpenos y taninos. Los resultados se interpretaron de acuerdo con la intensidad de reacción al agregar el reactivo correspondiente y se identificaron por la aparición de precipitados, cambio de color y formación de espuma [14].

Contenido de fenoles totales: Se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu [15]. A un volumen de 0,5 mL de solución etanólica de extractos (5 mg/mL) se le adicionó 0,25 mL de reactivo Folin-Ciocalteu y luego de 10 minutos 1,25 mL de carbonato de sodio al 0,075%. Se

conservó en oscuridad por 30 minutos. La absorbancia fue medida a 760 nm. Se graficó una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar, en diluciones etanólicas a concentraciones de entre 30 y 210 µg/mL. Los resultados se reportaron como la media de tres réplicas y se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg EAG/g).

Contenido de flavonoides totales: Se evaluó mediante el método colorimétrico del cloruro de aluminio [16]. Se realizó una curva de calibración preparando soluciones etanólicas de quercetina a concentraciones de entre 20 y 500 µg/mL. Se tomaron alícuotas de 0,25 mL de las soluciones etanólicas de los extractos (1 mg/mL) y se adicionó 1 mL de agua destilada y 0,075 mL de NaNO₂ al 5%. Después de 6 minutos, se colocó 0,075 mL de AlCl₃ al 10% y luego de 5 minutos 0,5 mL de NaOH 1 M. Se completó con agua destilada, hasta obtener un volumen final de 2,5 mL. Las absorbancias fueron medidas a 510 nm. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de quercetina por gramos de extracto (mg EQ/g extracto).

Actividad antioxidante: Se analizó mediante el método de captación del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) [17]. Se prepararon soluciones metanólicas de los extractos en un rango de 0,2 a 4 mg/mL. A 0,1 mL de cada una de las disoluciones de los extractos se les adicionó 1,4 mL de una solución metanólica de DPPH (6 x 10⁻² mM). Se utilizó metanol como control negativo y solución metanólica de ácido ascórbico como control positivo. La mezcla se conservó en oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. La absorbancia fue medida en un espectrofotómetro UV/Visible a 515 nm.

El porcentaje de inhibición (%I) del DPPH se calculó con la fórmula:

$$\%I_{DPPH} = \frac{Abs_{DPPH} - Abs_{muestra}}{Abs_{DPPH}} * 100$$

La concentración requerida para disminuir la cantidad inicial de DPPH en un 50% (CI₅₀), se calculó mediante regresión lineal.

Actividad larvicida: Se realizó siguiendo las directrices de la Organización Mundial de la Salud [18] frente a larvas de *Aedes aegypti* silvestres de tercero y cuarto estadio, colectadas en la Facultad

de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil. Las larvas fueron identificadas por la autora con ayuda de guías taxonómicas. Una alícuota de extractos se solubilizó en etanol absoluto hasta obtener una solución stock, con la cual, se prepararon soluciones de ensayo en diluciones seriadas de 1000 a 3 ppm. El volumen final de las soluciones fue 50 mL. Un total de 10 larvas fueron expuestas a las soluciones de ensayo. El control negativo consistió en una solución de etanol al 2% y como control positivo, se utilizó una solución del insecticida organofosforado malatión (1 ppm). Cada concentración se evaluó por triplicado. Los ensayos se conservaron a una temperatura de 25 ± 2°C y humedad relativa de 70 ± 2%. Las lecturas de mortalidad larvaria se realizaron a las 24 y 48 horas de ensayo.

Actividad acaricida: Se realizó mediante la técnica de toxicidad por contacto descrita por Tabari y cols. (2020) [19] con menores modificaciones. Se emplearon larvas de entre 14 y 21 días de la garrapata *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* obtenidas a partir de hembras grávidas colectadas de bovinos infestados. La especie de garrapata fue identificada por el Prof. Antonio Ascensão del Laboratorio de Biodiversidad de Artrópodos, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, ULA. Se prepararon diluciones seriadas de extracto de 40 a 0,3 mg/mL, en solución de Tween 80 al 2%. Como control negativo se utilizó una solución de Tween 80 y como control positivo, una solución de cipermetrina a una concentración de 20 µL/ml disuelto en Tween 80 (2%), preparada a partir del producto comercial CIPER-VEEX® (cipermetrina al 10%). Discos de papel filtro Whatman® N°1 se impregnaron con 1 mL de las soluciones de ensayo. Se transfirieron aproximadamente 80 larvas de garrapatas entre dos de los discos de papel impregnados, los cuales se colocaron dentro de una placa Petri. Las placas se sellaron y conservaron en una cámara de vidrio a 27±2°C y 85±2% de humedad. Los ensayos se realizaron por duplicado. Los registros de mortalidad se realizaron después de 48 horas en un estereomicroscopio

Actividad antimicrobiana: Se realizó por el método de difusión en discos [20] frente a los microorganismos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 11229),

Citrobacter freundii (ATCC 43864), *Enterococcus faecalis* (ATTC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 27853) y *Candida albicans* (ATTC 10231).

Los ensayos se realizaron en placas de agar Müeller-Hinton (bacterias) y agar papa dextrosa (levadura). Los inóculos microbianos se prepararon en una solución salina estéril al 0,9% hasta obtener una turbidez comparable al patrón McFarland N°0,5 (bacterias) y McFarland N°1 (levadura). Los extractos fueron disueltos en etanol hasta obtener una concentración de 200 mg/mL. Como control positivo se utilizaron antibióticos de referencia (Oxoid™) y como control negativo, etanol. Discos estériles de 6 mm de diámetro (Oxoid™) impregnados con 20 µL de cada solución, se colocaron sobre la superficie del agar inoculado. Las placas fueron incubadas a 4°C por 1 hora para la difusión del solvente y luego a 37°C (bacterias) y a 27°C (levadura) durante 24 horas. Los ensayos se realizaron por duplicado. La concentración inhibitoria mínima (CIM) se definió como la menor concentración de extracto que inhibió el crecimiento microbiano visible y se determinó con distintas concentraciones de extractos con la técnica descrita previamente.

Análisis estadístico: Los análisis se realizaron con el programa estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI versión 16. Para establecer diferencias estadísticas significativas entre extractos y controles positivos, se realizó el análisis de varianza (ANOVA). Los datos de mortalidad en los ensayos larvicida y acaricida, se determinaron mediante análisis Probit para determinar los valores de CL₅₀ y CL₉₅. La CI₅₀ en la actividad antioxidante fue obtenida en el programa Microsoft Excel 2013.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tamizaje fitoquímico: El análisis cualitativo de los extractos etanólicos de las dos especies de *Piper*, indican una importante presencia de taninos, flavonoides, esteroides y quinonas. Los alcaloides y triterpenos fueron escasos en *P. marginatum* pero abundantes en *P. tuberculatum*. Las saponinas fueron los compuestos con menor presencia en el análisis.

La presencia abundante de flavonoides, taninos, alcaloides, triterpenos y esteroides en los extractos

coincide con otros reportes para estas especies y les otorgan actividad antioxidante y antimicrobiana [21,22]. La escasa presencia de alcaloides en *P. marginatum*, puede estar relacionada a condiciones ambientales como los suelos ácidos y carentes de macronutrientes [23]. La leve presencia de saponinas parece ser común en este género [24].

Contenido de fenoles y flavonoides totales:

La mayor concentración de fenoles y flavonoides totales se observó en el extracto de *P. marginatum* con 26,13 ± 0,34 mg EAG/g y 376,48 ± 0,46 mg EQ/g, respectivamente (Tabla 1). Se observaron diferencias significativas entre el contenido de fenoles y flavonoides totales de los extractos ($p < 0,05$).

TABLA 1.

Contenido de fenoles y flavonoides totales de los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum*.

Especies	Fenoles totales (mg EAG/g)	Flavonoides totales (mg EQ/g)
<i>P. marginatum</i>	26,13 ± 0,34	376,48 ± 0,46
<i>P. tuberculatum</i>	7,54 ± 0,15	272,60 ± 2,75

Los compuestos fenólicos son los metabolitos con mayor distribución en plantas y poseen múltiples propiedades biológicas entre ellas, anticancerígena, antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante [25].

El contenido de fenoles y flavonoides totales de *P. marginatum* ya ha sido reportado. Gamboa y cols. [21], indicaron que los extractos etanólicos de las hojas obtuvieron una concentración de fenoles totales de 45,4 mg EAG/g, mayor a la del presente estudio (26,13 mg EAG/g). Aunque, su contenido de flavonoides (0,65 mg EQ/g) fue menor. Las diferencias podrían estar relacionadas a factores como las variaciones genéticas, método de extracción empleado y condiciones medioambientales que influyen en la síntesis de compuestos [26].

Este es el primer reporte del contenido de fenoles y flavonoides totales del extracto de *P. tuberculatum*.

Actividad antioxidante: Ambos extractos exhibieron actividad antioxidante con un porcentaje de inhibición (%I) superior al 70% (Tabla 2). La mayor actividad antioxidante se observó en *P. marginatum* con una CI₅₀ de 410 µg/mL. El análisis de varianza encontró diferencias

estadísticamente significativas entre la actividad antioxidante de los extractos y el ácido ascórbico ($p < 0.05$).

TABLA 2.

Actividad antioxidante de los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum*.

Especies / Control	Porcentaje de inhibición (%)	CI50 ($\mu\text{g/mL}$)
<i>P. marginatum</i>	82,70 \pm 0,40	410
<i>P. tuberculatum</i>	74,97 \pm 0,13	1600
Ácido ascórbico	96,76 \pm 0,00	41

Los extractos tuvieron una fuerte capacidad antioxidante relacionada a su alto contenido de compuestos fenólicos (Tabla 2). Estos compuestos poseen múltiples grupos hidroxilos, capaces de eliminar radicales libres, átomos inestables que reaccionan con moléculas como ADN, lípidos y proteínas, provocando daños estructurales y funcionales. El excedente en la producción de radicales libres está implicado en la patogénesis de diversas enfermedades como el cáncer y la diabetes [27].

Estudios previos realizados a los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum*, coinciden con los de la presente investigación, aunque reportan una actividad mayor. El extracto metanólico de *P. marginatum* evaluado por Da Silva y cols [28] mostró un 90,2% de inhibición y una CE_{50} de 104,2 $\mu\text{g/mL}$, mientras que el extracto hexánico de *P. tuberculatum* evaluado por Reyes y cols. [29] obtuvo una IC_{50} de 2,8 $\mu\text{g/mL}$ y un %I de 90%. Se ha reportado que la actividad antioxidante de una especie recolectada en diferentes localidades puede variar, debido a que los factores medioambientales influyen en su composición química y, por ende, en su capacidad antioxidante. Los diferentes solventes empleados en la extracción también podrían ser la causa de estas diferencias [30].

Actividad larvicida: La eficacia larvicida de los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum* a las 24 y 48 horas, se muestra en la Tabla 3. El extracto de *P. tuberculatum* presentó una notable mayor toxicidad frente a las larvas del mosquito *A. aegypti* y su actividad fue similar en los dos períodos de tiempo evaluados. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre la actividad de los extractos.

TABLA 3.

Actividad larvicida de los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum* frente a las larvas de *A. aegypti*.

Tiempo de exposición		<i>P. marginatum</i>	<i>P. tuberculatum</i>
24 horas	CL ₅₀ (LC)	235,72 (178,1-302,9)	16,51 (14,8-18,3)
	CL ₉₅ (LC)	604,05 (491,6-813,7)	28,99 (25,7-34,1)
48 horas	CL ₅₀ (LC)	104,86 (137,6-169,8)	13,75 (11,8-15,7)
	CL ₉₅ (LC)	621,40 (469,5-954,4)	28,56 (24,9-34,5)

CL₅₀, CL₉₅ = concentraciones letales en ppm; (LC): límites de confianza al 95%

Según Kiran y cols. [31], los extractos de plantas que presentan una $CL_{50} < 100$ ppm poseen actividad larvicida significativa. De acuerdo con estos criterios, el extracto de *P. tuberculatum* puede considerarse muy activo (13,75 ppm). Los extractos de *P. tuberculatum* han mostrado en estudios previos, toxicidad frente a larvas de mosquitos del género *Aedes* y *Anopheles* [32]. Su actividad después de las 24 y 48 horas de ensayo fue similar, lo que indicaría que los componentes responsables de la toxicidad actuarían de manera más directa y rápida sobre los sitios de acción, que los presentes en *P. marginatum*. El tamizaje fitoquímico de *P. tuberculatum*, indicó una alta presencia de alcaloides, por lo que la actividad observada, podría estar relacionada a la abundancia de estos compuestos. Los alcaloides actúan sobre los receptores de varios neurotransmisores, provocando parálisis, convulsiones y muerte [33]. De los extractos de *P. tuberculatum* se han aislado alcaloides con actividad larvicida [34].

La alta actividad larvicida observada en el extracto de *P. marginatum* ya ha sido reportada [35]. En sus extractos se han identificado diversas alcaloides y derivados fenólicos que poseen un grupo metilendioxfenilo en su estructura el cual inhibe enzimas responsables del metabolismo de toxinas en insectos [36-38]. La excelente capacidad larvicida obtenida con los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum*, demuestran su uso potencial como insecticidas naturales.

Actividad acaricida: La Tabla 4 resume la actividad acaricida de los extractos frente a las

larvas de *R. (B.) microplus*. El extracto de *P. tuberculatum* fue el más activo con una CL_{50} de 0,87 mg/mL, mientras que el extracto de *P. marginatum* obtuvo una CL_{50} de 7,15 mg/mL.

TABLA 4.

Actividad acaricida de los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum* frente a las larvas de *R. (B.) microplus*.

Extractos	CL_{50} (LC)	CL_{95} (LC)
<i>P. marginatum</i>	7,15 (6,32-8,03)	16,13 (14,61-18,12)
<i>P. tuberculatum</i>	0,87 (0,80-0,93)	1,71 (1,56 -1,94)

CL_{50} , CL_{95} = concentraciones letales en mg/mL (LC): límites de confianza al 95%

La actividad acaricida de extractos etanólicos de *P. tuberculatum* reportada por Braga y cols. [13] concuerda con esta investigación, con valores de CL_{50} de 5,30 mg/mL (hojas) y 3,99 mg/mL (tallos). Sin embargo, la actividad acaricida del presente estudio fue mayor (CL_{50} 0,87 mg/mL). Las diferencias podrían atribuirse a factores como la polaridad del solvente, parte de la planta, grado de desarrollo y condiciones medioambientales [39]. El extracto de *P. tuberculatum* tuvo una mayor eficacia que *P. marginatum* y esta actividad podría estar relacionada a la presencia mayoritaria de alcaloides. Alcaloides como piperina y piper longuminina, presentes en *P. tuberculatum*, podrían ser las responsables de la toxicidad de los extractos, pues han provocado mortalidad y

reducción en la ovoposición de las hembras grávidas de *R. (B.) microplus* [40].

Este es el primer reporte de la actividad acaricida de extractos de *P. marginatum*. De esta especie se han aislado isobutilamidas que actúan como neurotoxinas en insectos y compuestos que poseen el grupo metilendioxfenilo, un efectivo inhibidor del citocromo P450 los cuales podrían proporcionarles efectos acaricidas [41,42].

La capacidad acaricida observada en los extractos justificaría el uso etnobotánico de *P. tuberculatum* en Ecuador, como repelente de piojos y garrapatas [7].

Actividad antimicrobiana: La capacidad antimicrobiana de los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum* se resume en la Tabla 5. El extracto de *P. marginatum* (200 mg/mL) inhibió de manera significativa el crecimiento bacteriano de todas las cepas con halos de inhibición entre 12 y 14 mm, excepto *E. coli* y *P. aeruginosa*. La mayor actividad bacteriana de este extracto se obtuvo frente a *S. aureus* y *C. freundii*. El extracto de *P. tuberculatum* no mostró actividad antibacteriana.

Ambos extractos mostraron una actividad antifúngica muy limitada frente a *C. albicans*, con valores de CIM >150 mg/mL. Se presentaron diferencias significativas entre la actividad de los extractos y los antimicrobianos de referencia ($p < 0,05$).

TABLA 5.

Actividad antimicrobiana de los extractos de *P. marginatum* (*P. m*) y *P. tuberculatum* (*P. t*)

Microorganismo	Halos de inhibición (mm)			CIM (mg/mL)	
	<i>P. m</i>	<i>P. t</i>	Antimicrobiano	<i>P. m</i>	<i>P. t</i>
<i>S. aureus</i>	13,70 ± 1,10	-	33,50 ± 0,90 (Amp)	0,07	-
<i>E. faecalis</i>	12,00 ± 0,00	-	21,30 ± 1,50 (Pnc)	5,00	-
<i>C. freundii</i>	14,00 ± 0,00	-	27,30 ± 1,50 (Amp)	0,63	-
<i>E. coli</i>	-	-	21,10 ± 1,40 (Amp)	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	32,50 ± 0,80 (Cipr)	-	-
<i>C. albicans</i>	7,70 ± 0,60	9,7 ± 0,6	24,50 ± 0,80 (Nist)	200	150

Amp: Ampicilina (10 µg); Pnc: Penicilina (10 µg); Cipr: Ciprofloxacina 5 µg; Nist: Nistatina 100 u.

La actividad antibacteriana significativa presentada por el extracto de *P. marginatum* concuerda con los reportes de varios autores, los cuales resaltan sus propiedades antibacterianas frente a bacterias como *Bacillus subtilis*, *S. aureus*

[43] y bacterias patógenas bucales como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Fusobacterium nucleatum* [21]. La fuerte actividad antibacteriana del extracto de *P. marginatum* de Ecuador, podría estar relacionada

con la elevada cantidad de compuestos fenólicos como los flavonoides, los cuales provocan daños en la membrana plasmática e inhiben la síntesis de proteínas, ADN y ARN [44]. Cabe recalcar la eficaz actividad observada frente a *S. aureus*, bacteria con gran resistencia frente a antibióticos y a factores adversos, causante de bacteriemia nosocomial y neumonía [45]. La actividad antibacteriana de *P. marginatum* frente a *S. aureus*, justificaría su empleo ancestral en el tratamiento de heridas [7]. La escasa actividad antifúngica del extracto etanólico de *P. marginatum*, fue similar a la reportada por Duarte y cols. [46] el cual obtuvo una CIM > 2,0 mg/mL frente a *C. albicans*.

La falta de actividad antimicrobiana del extracto de *P. tuberculatum* de Ecuador, coincide con estudios previos [47,48] y podría estar relacionada con la complejidad de compuestos químicos que lo forman, los cuales pueden ejercer un efecto antagonista entre ellos, por lo general por competencia por el sitio de acción [49].

CONCLUSIONES

Los extractos de *P. marginatum* y *P. tuberculatum*, especies utilizadas tradicionalmente por las nacionalidades indígenas de Ecuador, poseen una eficaz actividad antioxidante, insecticida y acaricida; y en el caso de *P. marginatum*, actividad antibacteriana, relacionadas con su alto contenido de compuestos fenólicos. Estos resultados reafirman la importancia de los estudios de plantas de la región, con miras a la búsqueda de recursos para la obtención e identificación de compuestos bioactivos. *P. marginatum* y *P. tuberculatum* podrían emplearse como agentes biocidas contra plagas y enfermedades que afectan la salud animal y humana, especialmente en zonas de difícil acceso a las entidades encargadas del control sanitario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Ghosh R, Darin K, Nath P, Deb P. An overview of various *Piper* species for their biological activities. *Int J Pharm Res.* 2014; 3 (1): 67-75.
- [2] Salehi B, Zakaria Z, Gyawali R, Ibrahim S, Rajkovic J, Shinwari Z., Khan T, Sharifi J, Ozleyen A, Turkdonmez E, Valussi M, Boyunegmez T, Monzote L, Mantorell M, Setzer W. *Piper* Species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. *Molecules.* 2019; 24 (7): 1364. doi:10.3390/molecules24071364.
- [3] Callejas R, Santiana J, Tye A. Familia Piperaceae. En: León S, Valencia R, Pitman N, Endara L, Ulloa C, Navarrete H. Eds. Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador. Quito (Ecuador): Publicaciones del Herbario QCA; 2017. p. 710-728.
- [4] Moncayo S, Rondón M, Araujo L, Rojas L, Cornejo X, Guamán W, Jaramillo S. Composición química y actividad biológica de los aceites esenciales de *Piper marginatum* Jacq. y *Piper tuberculatum* Jacq. de Ecuador. *Rev Fac Farma.* 2021; 63 (1): 14-24.
- [5] Scalvenzi L, Radice M, Toma L, Severini F, Boccolini D, Bella A, Guerrini A, Tacchini M, Sacchetti G, Chiurato M, Romi R, Di Luca M. Larvicidal activity of *Ocimum campechianum*, *Ocotea quixos* and *Piper aduncum* essential oils against *Aedes aegypti*. *Parasite.* 2019; 26 (23): 30994444. doi: 10.1051/parasite/2019024.
- [6] Valarezo E, Flores-Maza P, Cartuche L, Ojeda-Riascos S, Ramírez J. Phytochemical profile, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil extracted from ecuadorian species *Piper ecuadorensis* Sodiro. *Nat Prod Res.* 2021; 35 (24): 6014-6019. doi: 10.1080/14786419.2020.1813138.
- [7] De la Torre L, Navarrete H, Muriel P, Macía M, Balslev H. Formato del catálogo de especies de plantas útiles del Ecuador. En: De la Torre L, Navarrete H, Muriel P, Macía M, Balslev H. Eds. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Quito (Ecuador): Herbario QCA y Herbario AAU; 2008. p 496-504.
- [8] Duarte M, Leme E, Delarmelina C, Soares A, Figueira G, Sartoratto A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *J. Ethnopharmacol.* 2007; 111 (2): 197–201. doi: 10.1016/j.jep.2006.11.034.
- [9] Autran E, Neves I, Silva C, Santos G, Câmara C, Navarro D. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities

- against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). *Bioresour Technol.* 2009; 100 (7): 2284–2288. doi: 10.1016/j.biortech.2008.10.055.
- [10] Jaramillo B, Julio J, Duarte E, González A, Julio L. Estudio comparativo de la composición volátil y las actividades biológicas del aceite esencial de *Piper marginatum* Jacq. Colombiano. *BLACPMA.* 2015; 14 (5): 343-354.
- [11] Navickiene H, Morandim A, Alécio A, Regasini L, Bergamo D, Telascra M, Cavalheiro A, Lopes M, Bolzani B, Furlan M, Marques M, Young M, Kato M. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. *Quim Nova.* 2009; 29 (3): 467-470. doi: 10.1590/S0100-40422006000300012.
- [12] Lavor P, Santiago G, Gois R, de Sousa L, Bezerra G, Romero A, Lemos T, Alvesc P, Gomes P. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from northeast Brazil. *Nat Prod Commun.* 2012; 7 (10): 1391-1392. doi:10.1177/1934578X1200701038.
- [13] Braga A, Souza K, Barbieri F, Fernandes C, Rocha R, Vieira J, Lacerda C, Celestino C, Facundo V, Brito L. Acaricidal activity of extracts from different structures of *Piper tuberculatum* against larvae and adults of *Rhipicephalus microplus*. *Acta Amaz.* 2018; 48 (1): 57-62. doi: 10.1590/1809-4392201700053.
- [14] Rondón M, Moncayo S, Cornejo X, Santos J, Villalta D, Siguencia R, Duche J. Preliminary phytochemical screening, total phenolic content, and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. *J King Saud Univ Sci.* 2018; 30 (4): 500-505. doi: 10.1016/j.jksus.2017.03.009.
- [15] Singleton V, Orthofer R, Lamuela R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth Enzymol.* 1999; 299: 152–178. 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- [16] Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *J Chem Technol Metall.* 2005; 40 (3): 255-260.
- [17] Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *J Food Sci Technol.* 1995; 28 (1): 25-30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- [18] Organización Mundial de la Salud (OMS). (1981). Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. [Página Web]. 1981[acceso: 15 de junio 2023]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69615>.
- [19] Tabari M, Rostami A, Khodashenas A, Maggi F, Petrelli R, Giordani C, Tapondjou L, Papa F, Zuo Y, Cianfaglione K, Youssefi M. Acaricidal activity, mode of action, and persistent efficacy of selected essential oils on the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Food Chem Toxicol.* 2020; 138 (111207): 1-7. doi: 10.1016/j.fct.2020.111207.
- [20] Bauer A, Kirby W, Sherris J, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966; 45 (4): 493-496. doi: 10.1016/S0305-4179(78)80006-0.
- [21] Gamboa F, Muñoz C, Numpaque G, Sequeda L Gutierrez S, Tellez N. Antimicrobial activity of *Piper marginatum* Jacq and *Ilex guayusa* Loes on microorganisms associated with periodontal disease. *Int J Microbiol.* 2018; (4147383): 1-9. doi: 10.1155/2018/4147383.
- [22] Gomes E, Jacobi A, Abreu R. Estudio fitoquímico do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* Jacq. sobre cepas de *Escherichia coli in vitro*. *South Am. J. Basic Educ., Tech. Technol.* 2016; 3 (2): 27-36.
- [23] Waller G, Nowacki E. Environmental influences on alkaloid production. En: Waller G, Nowacki E. *Alkaloid Biology and Metabolism in Plants.* Boston (USA): Springer; 1978. p 85–119. doi: 10.1007/978-1-4684-0772-3_3.
- [24] Jaramillo C, Jaramillo A, D'Armas H, Troccoli L, Rojas de Astudillo L. Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra

- Artemia salina*. Rev Biol Trop. 2016; 64 (3): 1171-1184. doi: 10.15517/rbt.v64i3.19537.
- [25] Vuolo M, Lima V, Maróstica M. Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant power. En: Segura M, Ed. Bioactive Compounds. Cambridge (UK): Woodhead Publishing; 2019. p 33-50. doi: 10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5.
- [26] Farag R, Abdel M, Abd El Baky H, Tawfeek L. Phytochemical screening and antioxidant activity of some medicinal plants' crude juices. Biotechnol Rep. 2020; 28 (e00536): 1-7. doi: 10.1016/j.btre.2020.e00536.
- [27] Rojas J, Buitrago A. Antioxidant activity of phenolic compounds biosynthesized by plants and its relationship with prevention of neurodegenerative diseases En: Segura M (Ed). Bioactive Compounds. Cambridge (UK): Woodhead Publishing; 2019. p 3-31. doi: 10.1016/B978-0-12-814774-0.00001-3.
- [28] Da Silva J, Andrade E, Guimarães E, Carreira L, Maia J. Capacidade antioxidativa e polifenóis dos extratos de *Piper marginatum* Jacq. 31a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2008 [acceso: 5 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://sec.s bq.org.br/cdrom/31ra/resumos/T1544-1.pdf>
- [29] Reyes L, Sánchez R, Restrepo J. Encapsulation of the piperine present in *Piper tuberculatum* species using multilamellar vesicles and determination of its antioxidant power. Rev Cienc. 2017; 21 (2): 11-28. doi: 10.25100/rc.v21i2.6696.
- [30] Liu W, Yin D, Li N, Hou X, Wang D, Li D, Liu J. Influence of Environmental Factors on the Active Substance Production and Antioxidant Activity in *Potentilla fruticosa* L. and Its Quality Assessment. Sci Rep. 2016; 6 (28591): 1-18. doi:10.1038/srep28591.
- [31] Kiran S, Bhavani K, Devi P, Rao B, Reddy K. (2006). Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. Bioresour Technol. 2006; 97 (18): 2481-2484. doi: 10.1016/j.biortech.2005.10.003.
- [32] Bazán J, Ventura R, Kato M, Rojas C, Delgado G. Actividad insecticida de *Piper tuberculatum* Jacq. sobre *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) y *Anopheles pseudopunctipennis* Tehobal (Diptera: Culicidae). An Biol. 2011; 33: 135-147.
- [33] De Souza A, Campos R, Costa F. Larvicidal activity of secondary plant metabolites in *Aedes aegypti* control: An overview of the previous 6 years. Nat Prod Commun. 2019; 14 (7): 1-11. doi: 10.1177/1934578X19862893.
- [34] Trindade F, Stabeli R, Facundo V, Cardoso C, Da Silva M, Gil L, Silva I, De Almeida A. Evaluation of larvicidal activity of the methanolic extracts of *Piper alatabaccum* branches and *P. tuberculatum* leaves and compounds isolated against *Anopheles darlingi*. Rev Bras Farmacogn. 2012; 22 (5): 979-984.
- [35] Bernard C, Krishnamurty H, Chauret D, Durst T, Philogene B, Sánchez P, Hasbun C, Poveda L, San Román L, Arnason J. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. J Chem Ecol. 1995; 21 (6): 801-814. doi: 10.1007/BF02033462.
- [36] Brú J, Guzman J. Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*. Rev Bras Farmacogn. 2016; 26 (6): 767-779. doi: 10.1016/j.bjp.2016.03.014.
- [37] Reigada J, Tcacenco C, Andrade L, Kato M, Porto A, Lago J. Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae)—antifungal activities and kinetic resolution of (RS)-marginatumol by *Candida antarctica* lipase (Novozym 435). Tetrahedron Asymmetry. 2007; 18 (9): 1054-1058. doi: 10.1016/j.tetasy.2007.05.006.
- [38] Souto R, Harada A, Andrade E, Maia J. Insecticidal activity of *Piper* essential oils from the amazon against the fire ant *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). Neotrop Entomol. 2012; 41 (6): 510-517. doi:10.1007/s13744-012-0080-6.
- [39] Adenubi O, Ahmed A, Fasina F, McGaw L, Eloff J, Naidoo V. Pesticidal plants as a possible alternative to synthetic acaricides in

- tick control: A systematic review and meta-analysis. *Ind Crops Prod.* 2018; 123: 779-806. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.06.075.
- [40] Godara R, Verma M, Katoch R, Yadav, A., Dutt, P., Satti, N. & Katoch, M. In vitro acaricidal activity of *Piper nigrum* and *Piper longum* fruit extracts and their active components against *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* ticks. *Exp Appl Acarol.* 2018; 75 (3): 333–343. doi: 10.1007/s10493-018-0268-5.
- [41] Scott I, Puniani E, Durst T, Phelps D, Merali S, Assabgui R, Sánchez P, Poveda L, Philogène B, Arnason J. Insecticidal activity of *Piper tuberculatum* Jacq. extracts: synergistic interaction of piperamides. *Agric For Entomol.* 2002; 4: 137-144. doi: 10.1046/j.1461-9563.2002.00137.
- [42] Scott I, Jensen H, Philogène B, Arnason J. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochem Rev.* 2008; 7 (1): 65–75. doi: 10.1007/s11101-006-9058-5.
- [43] Duarte M, Figueira G, Pereira B, Magalhães P, Delarmelina C. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. *Rev Bras Farmacogn.* 2004; 14 (supl. 1): 6-8. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2004000300003>.
- [44] Bouarab L, Forquet V, Lantéri P, Clément Y, Léonard L, Oulahal N, Degraeve P, Bordes C. Antibacterial properties of polyphenols: characterization and QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) Models. *Front Microbiol.* 2019; 10 (829):1-23. doi: 10.3389/fmicb.2019.00829.
- [45] Pasachova J, Ramirez S, Muñoz L. *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *NOVA.* 2019; 17 (32): 25-38.
- [46] Duarte M, Figueira G, Sartoratto A, Rehder V, Delarmelina C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2005; 97 (2): 305–311. doi: 10.1016/j.jep.2004.11.016.
- [47] Pino N. Actividad antibacteriana a partir de extractos de hojas de seis especies del género *Piper* L. (Piperaceae). *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó.* 2008; 27 (1): 67-75.
- [48] Regasini L, Cotinguiba F, Morandim A, Kato J, Scorzoni L, Mendes M, Bolzani V, Furlan M. Antimicrobial activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae) against opportunistic yeasts. *Afr J Biotechnol.* 2009; 8 (12): 2866-2870.
- [49] Vaou N, Stavropoulou E, Voidarou C, Tsigalou C, Bezirtzoglou E. Towards advances in medicinal plant antimicrobia activity: A review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms,* 2021; 9 (2041): 1-28. doi: 10.3390/microorganisms9102041.
- Moncayo, Shirley:** Bióloga con un PhD en Química de Medicamentos. Realizó estudios de bioprospección de microalgas y plantas superiores en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Naturales en la Universidad de Guayaquil. Actualmente es docente en la Universidad Agraria del Ecuador. smoncayo@uagraria.edu.ec. **ORCID ID:** 0000-0003-2374-497X
- Rondón, María Eugenia:** Farmacéutica con PhD en Síntesis de Productos Naturales por el Consejo Superior de Investigaciones Científica (CSIC) de la Universidad de La Laguna, Tenerife-España. Docente en el Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos de la facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. rondonr3@gmail.com. **ORCID ID:** 0000-0003-2393-751X
- Cornejo, Xavier:** Biólogo con una maestría en Ciencia en Manejo sustentable de biorrecursos y medio ambiente. Curador del Herbario GUAY y docente de la Universidad de Guayaquil. Reconocido botánico, autor de varios libros ha descrito nuevas especies de plantas vasculares tropicales para la ciencia. xcornejoguay@gmail.com. **ORCID ID:** 0000-0002-4081-4047