

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE COMPONENTES
FITOQUÍMICOS DE UN EXTRACTO ACUSOSO DE LA PLANTA MEDICINAL
INDÍGENA UITOTO *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” FRENTE A CEPAS
MICROBIANAS DE COLECCIÓN**

ALBERT ANDREYT MUÑOZ MONAITYAMA

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
PAMPLONA - NORTE DE SANTANDER
2024**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE COMPONENTES
FITOQUÍMICOS DE UN EXTRACTO ACUSOSO DE LA PLANTA MEDICINAL
INDÍGENA UITOTO *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” FRENTE A CEPAS
MICROBIANAS DE COLECCIÓN**

ALBERT ANDREYT MUÑOZ MONAITYAMA

Trabajo de grado

Presentado como requisito para optar al título de microbiólogo

Tutor académico

Fanny Herrera Arias

Tutores empresariales

María Carolina Muñoz Benavides

Microbióloga

Daniel Eduardo López Cabra

Jefe de calidad

John Freddy Hernández Montaña

Director Técnico

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA – NORTE DE SANTANDER
2024**

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GENERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.....	16
4. MARCO REFERENCIAL	18
4.1 MARCO TEÓRICO	18
4.1.1 Medicina tradicional y complementaria	18
4.1.2 Planta medicinal.....	18
4.1.3 Compuestos bioactivos.....	18
4.1.4 Extracto crudo o extracto vegetal.....	19
4.1.5 Métodos de extracción	20
4.1.6 Ingredientes activos con actividad antimicrobiana presentes en las plantas medicinales.	23
4.1.7 Microorganismos relevantes desde el punto de vista de salud pública	25
4.1.8. ENSAYOS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	28
4.1.9 ENSAYOS PARA DETECCIÓN DE PROPIEDADES FITOQUÍMICAS DE PLANTAS	28
5. MARCO LEGAL	30
6. METODOLOGÍA.....	32
6.1 Recolección de material vegetal	32
6.2 Descripción en campo de las partes de la planta medicinal <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”	32
6.3 Clasificación e identificación de la planta medicinal <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”.	33
6.4 Protocolo de obtención del extracto de la planta medicinal <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”	34
6.5 Caracterización fitoquímica del extracto acuoso de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” mediante cromatografía en capa fina (TLC)	36
6.6 Evaluación de las propiedades antimicrobianas del extracto puro de hojas y tallos de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”.	38
6.6.1 Microorganismos de prueba	38
6.6.2. Determinación del efecto antimicrobiano del extracto acuoso de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” mediante difusión en pozo	38

6.6.3 Análisis estadístico	39
7. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	40
8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	41
8.1 Descripción en campo de las partes de la planta medicinal <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”.	41
8.2 Clasificación e identificación de la planta medicinal <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”.	44
8.3 Caracterización fitoquímica del extracto de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” mediante cromatografía en capa fina (TLC)	45
8.3.1 Ácido valerénico	46
8.3.2 Ácido ursólico	47
8.3.3 Estigmasterol	49
8.3.4 Rutina	50
8.3.5 Kaempferol	52
8.4 Evaluación de las propiedades antimicrobianas del extracto puro de hojas y tallos de la planta “Kıtove” <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague).	56
8.4.1 Bacterias Gram- Negativas	56
8.4.2 Bacterias Gram- Positivas	63
8.4.3 Levadura	70
8.5 Comparación de las zonas de inhibición del extracto de <i>Nautilocalyx pallidus</i> “Kıtove”	74
9. CONCLUSIONES.....	77
10. RECOMENDACIONES.....	78
11. REFERENCIAS	79
12. ANEXOS.....	98
12.1 Anexo 1: Identificación taxonómica de la muestra botánica de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” por parte del Herbario Nacional Colombiano (COL).....	98
12.2 Anexo 2: Carta de permiso por parte del corregimiento indígena la REFORMA para estudio de la planta medicinal “Kıtove” <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague).....	99
12.3 Anexo 3: Declaración de la planta medicinal	100
12.3 Otras actividades realizadas en los Laboratorios de Farmacología Vegetal LABFARVE. .	101

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Solventes y disolventes empleados para la extracción de componentes bioactivos (Pandey & Tripathi, 2014).	20
Tabla 2. Factor de retención (Rf) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” (I) y estándar de ácido valérenico 0,1% (II) derivatizados con el uso del reactivo anisaldehído-sulfúrico (AS).....	47
Tabla 3. Factor de retención (Rf) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” (I) y estándar de ácido ursólico (II) derivatizados con el uso del reactivo anisaldehído-sulfúrico (AS).....	49
Tabla 4. Factor de retención (Rf) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” (I) y estándar de estigmasterol (II) derivatizados con el uso del reactivo anisaldehído-sulfúrico (AS).....	50
Tabla 5. Factor de retención (Rf) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” (I) y estándar de rutina (II) derivatizados con el uso del reactivo polietilenglicol 4000 y difenilborato de 2-aminoetilo.....	52
Tabla 6. Factor de retención (Rf) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” (I) y estándar de kaempferol (II) derivatizados con el uso del reactivo polietilenglicol 4000 y difenilborato de 2-aminoetilo.	53
Tabla 7. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> frente al extracto natural puro y dilución al 10% con DMSO al 98% (v/v) de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”.	57

Tabla 8. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
Tabla 9. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
Tabla 10. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para <i>Escherichia coli</i> frente al extracto natural puro de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” como a su dilución al 10%.	61
Tabla 11. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a <i>Escherichia coli</i> y su respectivo control positivo.	62
Tabla 12. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a <i>Escherichia coli</i>	62
Tabla 13. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para <i>Staphylococcus aureus</i> frente al extracto natural puro de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) como a su dilución al 10%.	64
Tabla 14. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y controles.	65
Tabla 15. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	65
Tabla 16. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para <i>Streptococcus pyogenes</i> frente al extracto natural puro y dilución al 10% de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”	68
Tabla 17. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> y su respectivo control positivo.	69
Tabla 18. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a <i>Streptococcus pyogenes</i>	69

Tabla 19. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para <i>Candida albicans</i> frente al extracto natural puro de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” como a su dilución al 10%.	72
Tabla 20. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a <i>Candida albicans</i> y su respectivo control positivo.	73
Tabla 21. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a <i>Candida albicans</i>	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Punto de recolección de la muestra de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”	¡Error! Marcador no definido. 1
Figura 2. Ejemplar de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove” enviado al herbario nacional colombiano para su respectiva clasificación e identificación taxonómica.....	33
Figura 3. Proceso extracción del extracto acuoso de <i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) “Kıtove”...35	
Figura 4. A) Vista superior de la hoja de la planta Kıtove; B) Vista inferior de las hojas de las plantas.	40
Figura 5. A) Vista externa de la flor en etapa de senescencia B) Detalle de los órganos reproductivos de la flor	42
Figura 6. A) Sección transversal del tallo de la planta medicinal Kıtove; b) Sección longitudinal del tallo de una planta ..	¡Error! Marcador no definido. 43
Figura 7. Histograma de las zonas de inhibición del extracto diluido al 10% de <i>Nautilocalyx pallidus</i> “Kıtove”	¡Error! Marcador no definido. 73
Figura 8. Histograma de las zonas de inhibición del extracto puro de <i>Nautilocalyx pallidus</i> “Kıtove”	¡Error! Marcador no definido. 73

RESUMEN

Nautilocalyx pallidus (Sprague), conocido como “Kıtove”, es una planta utilizada en la medicina tradicional indígena de las comunidades uitoto del Amazonas colombiano, especialmente para tratar mordeduras de serpientes venenosas como la equis (*Bothrops atrox*), la verrugosa (*Lachesis muta*) y una serpiente conocida comúnmente como serpiente loro (*Corallus caninus*). Sin embargo, a la fecha no se han realizado investigaciones sobre sus componentes fitoquímicos ni sus posibles propiedades antimicrobianas. Teniendo en cuenta la problemática actual de la multirresistencia antimicrobiana de los microorganismos, el objetivo principal de este estudio fue determinar la efectividad antimicrobiana del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” contra cepas microbianas de la colección ATCC. Para ello, inicialmente se llevó a cabo un análisis fitoquímico cualitativo mediante cromatografía en capa fina, con el fin de identificar los principales compuestos responsables de sus posibles efectos antimicrobianos, seguido de una evaluación de su actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*), bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) y una levadura (*Candida albicans*) empleando la técnica de difusión en pozo. Los resultados del análisis fitoquímico del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” revelaron la presencia de varios compuestos bioactivos que podrían ser responsables de sus propiedades terapéuticas y antimicrobianas. La evaluación de las propiedades antimicrobianas mostró que el extracto puro de la planta no presentó actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* ni *Escherichia coli*, mientras que tanto, el extracto puro y su dilución al 10% exhibieron actividad

antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*; además, el extracto al 10% mostró actividad moderada contra *Candida albicans*

Palabras claves: Antimicrobiano; cromatografía; difusión de pozos; fitoquímicos; Kıtove; *Nautilocalyx pallidus* (Sprague).

ABSTRACT

Nautilocalyx pallidus (Sprague), known as “Kıtove”, is a plant used in traditional indigenous medicine of the uitoto communities of the Colombian Amazon, especially to treat bites from poisonous snakes such as the horse snake (*Bothrops atrox*), the warty snake (*Lachesis muta*) and a snake commonly known as the parrot snake (*Corallus caninus*). However, to date, no research has been conducted on its phytochemical components or its possible antimicrobial properties. Considering the current problem of antimicrobial multi-resistance of microorganisms, the main objective of this study was to determine the antimicrobial effectiveness of the aqueous extract of *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” against microbial strains from the ATCC collection. For this purpose, a qualitative phytochemical analysis was initially carried out by thin layer chromatography, in order to identify the main compounds responsible for its potential antimicrobial effects, followed by an evaluation of its antimicrobial activity against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) and a yeast (*Candida albicans*) using the well diffusion technique. The results of the phytochemical analysis of the aqueous extract of *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” revealed the presence of several bioactive compounds that could be responsible for its therapeutic and antimicrobial properties. Evaluation of antimicrobial properties showed that the pure plant extract did not exhibit activity against *Pseudomonas aeruginosa* or *Escherichia coli*, while both the pure extract and its 10% dilution exhibited antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*; furthermore, the 10% extract showed moderate activity against *Candida albicans*.

Keywords: Antimicrobial; chromatography; Kıtove; *Nautilocalyx pallidus* (Sprague); Phytochemicals Well diffusion.

1. INTRODUCCIÓN

El incremento de la multirresistencia bacteriana frente antibióticos se ha convertido en un problema de salud pública global. Esta crisis se atribuye, entre otras cosas, al inadecuado manejo y uso generalizado de agentes antimicrobianos por parte de los sistemas de salud, además de factores asociados a los seres humanos al auto medicarse o no cumplir con los tiempos terapéuticos, provocando la aparición de cepas resistentes como *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina, *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina, *Enterobacteriales* resistentes a las cefalosporinas de tercera generación y a carbapenémicos, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos, entre otros (OMS, 2024).

La naturaleza contiene la mayor fuente de compuestos bioactivos que se han venido aprovechando para el desarrollo y producción de medicamentos fitoterapéuticos, que han contribuido con el bienestar y la salud del ser humano a través del uso de plantas tradicionales, que son bien conocidas entre las comunidades nativas de todo el mundo (Sbhatu y Abraha, 2020). Por su parte, la Cumbre Mundial de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre medicina tradicional, reportó que el 17% de los países miembros en la región de las Américas utilizan la medicina tradicional y complementaria, revelando la importancia de integrar la evidencia científica y las prácticas tradicionales en los sistemas de salud para mejorar su eficacia y accesibilidad (OMS, 2013).

Muchas plantas medicinales a menudo se han utilizado para tratar enfermedades sin un conocimiento previo de sus compuestos activos o sus objetivos de acción específicos (Gebrewbet y Hndeya, 2023); aun así, los tratamientos medicinales nativos desarrollados empíricamente han

favorecido que cada comunidad desarrolle sus propias prácticas tradicionales, permitiendo identificar y utilizar plantas medicinales efectivas para la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades (Chali et al., 2021).

Al día de hoy, existe un amplio conocimiento de que, los extractos de plantas medicinales contienen diversos compuestos bioactivos con importantes propiedades fitoquímicas, como alcaloides, taninos, flavonoides y compuestos fenólicos. Al respecto, la medicina tradicional ha producido con éxito medicamentos cruciales para la salud humana; por ejemplo, a base de componentes bioactivos flavonoides se tiene el compuesto Eupatilin, comercializado bajo el nombre de Stillen® empleado para tratar úlceras gástricas o también otros derivados flavonoides como Diosmin®, utilizado para tratar diversas hemorroides e insuficiencia venosa crónica o Tenalisib para el tratamiento de la leucemia (Xu et al., 2023). Fiagama y Trujillo (2012) explican que, en Colombia, se han realizado estudios sobre el uso agroindustrial de especies nativas en busca del potencial económico de productos no maderables del Bosque Húmedo Tropical Amazónico. Destacando los avances en la agroindustria del ají (*Capsicum* spp.) en la Amazonía colombiana, así como de especies alimenticias como el arazá (*Eugenia stipitata*), la cocona (*Solanum sessiliflorum*), la piña (*Ananas comosus*), el carambolo (*Averrhoa carambola*), el maraco (*Theobroma bicolor*) y el copoazú (*Theobroma grandiflorum*).

Nautilocalyx pallidus (Sprague) “Kıtove” es una planta utilizada en la medicina tradicional indígena de la etnia uitoto del Amazonas. Hanstein describió originalmente este género de plantas en 1854, al tiempo que introducía varios géneros de *Gesneriaceae* en el nuevo mundo (Xu et al., 1990). Sin embargo, en 1865 fue reclasificada como sinónimo de *Episcia*; Sprague reestableció *Nautilocalyx* como un género separado en 1912, basándose en la posición de los óvulos en la placenta (Bentham y Hooker, 1862). Las especies clasificadas bajo *Nautilocalyx* pertenecen a

diferentes linajes evolutivos, un linaje identificado, llamado clado "*Nautilocalyx sensu stricto*", incluye especies como *N. aeneus*, *N. antioquensis*, *N. bracteatus*, *N. biserrulatus*, *N. colombianus*, *N. erythranthus*, *N. lehmanii*, *N. lucianii* y *N. urticifolius*. Estas especies generalmente tienen corolas en forma de embudo o trompeta con lóbulos extendidos, lóbulos del cáliz estrechos y lanceolados con un lóbulo dorsal reducido y recurvado, y un tubo de la corola más corto que el doble de la longitud del cáliz (Gesneriad Reference Web, s. f.)

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” frente a cepas microbianas de colección ATCC.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características visuales, anatómicas y estructurales de varias partes de la planta *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” en el lugar de recolección, siguiendo metodologías botánicas establecidas y estándares de referencia.
- Establecer mediante la técnica de cromatografía en capa fina TLC los compuestos fitoquímicos presentes en el extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”.
- Determinar la efectividad antimicrobiana del extracto acuoso obtenido de las hojas y tallos de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Candida albicans* empleando la técnica de difusión en pozo.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Hoy en día, no es ningún secreto que, desde tiempos antiguos, los pueblos indígenas del mundo siempre han tenido su propio conocimiento sobre el valor de las plantas medicinales y la importancia que estas tienen en el ámbito de la salud. Desde la antigüedad, han utilizado lo que la naturaleza les ha proporcionado para prevenir y curar múltiples enfermedades dentro de su entorno cultural.

En este sentido, los grupos étnicos uitotos del Amazonas colombiano no son ajenos al conocimiento sobre las plantas medicinales del Bosque Húmedo Tropical Amazónico; antes de recurrir a la medicina occidental, han utilizado plantas para curar a sus enfermos. Por lo tanto, es importante destacar el conocimiento y uso de las plantas que tienen los pueblos indígenas a través de personas idóneas, llamadas curanderos, quienes son los que saben para qué tipo de enfermedad se utiliza cada planta. Generalmente, transmiten su conocimiento a los miembros de la misma familia, a quienes imparten verbalmente sus creencias y prácticas medicinales aprendidas de sus antepasados. Sin embargo, esta práctica tradicional de las comunidades nativas puede ocasionar que el conocimiento sobre las plantas medicinales se pierda antes de llegar a la comunidad científica (Gebrewbet y Hndeya, 2023).

A pesar de la rica biodiversidad y el vasto conocimiento medicinal tradicional presente en las diversas comunidades indígenas del Amazonas colombiano, muchas plantas con gran potencial terapéutico permanecen poco estudiadas científicamente. Tal es el caso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague), conocido como “Kıtove”, una planta que, en la cultura indígena uitoto de las comunidades de Puerto Sábalo–Los Monos, en el departamento del Amazonas, es utilizada para tratar mordeduras de serpientes venenosas como la equis (*Bothrops atrox*), la verrugosa (*Lachesis muta*), conocida en lengua indígena como “Monaire”, y la serpiente loro (*Corallus caninus*),

llamada en lengua indígena como “Uiikɪ”. Además, es empleada para aliviar diversas dolencias (fiebre general, dolores corporales) presentes en la comunidad indígena, aunque carece de una validación científica exhaustiva sobre sus componentes fitoquímicos y propiedades antimicrobianas.

La creciente carga mundial de bacterias resistentes a los antibióticos, plantea un riesgo importante para la salud mundial. A medida que los antibióticos convencionales se vuelven menos eficaces, frente a infecciones causadas por patógenos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Candida albicans*, esto ha intensificado el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos y las plantas ofrecen una rica fuente de sustancias antimicrobianas y son muy prometedoras para aplicaciones terapéuticas (Álvarez-Martínez et al., 2021).

El presente estudio exploró la presencia de compuestos fitoquímicos presentes en el extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kɪtove” que puedan contribuir a sus propiedades terapéuticas y posteriormente se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kɪtove” frente a los patógenos mencionados anteriormente, debido a que estos patógenos son responsables de una amplia gama de enfermedades en el ser humano que han demostrado, además, una creciente resistencia a los tratamientos antimicrobianos convencionales (CDC,2019; OMS, 2024). Al proporcionar una validación científica para los usos medicinales tradicionales, esta investigación podría allanar el camino para el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos y contribuir a la preservación del conocimiento indígena.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1 MARCO TEÓRICO

4.1.1 Medicina tradicional y complementaria

La medicina tradicional tiene su origen en los inicios de la actividad humana, cuando las personas recurrían a plantas medicinales para tratar enfermedades y dolencias con el fin de lograr una vida libre de enfermedades; este conocimiento se ha transmitido de generación en generación a través de conocimientos ancestrales y experiencias de ensayo y error compartidas entre comunidades indígenas, afrodescendientes y comunidades nativas de todo el mundo. Por su parte, la medicina complementaria o alternativa se refiere a un conjunto de prácticas de atención sanitaria que no forman parte del sistema de salud predominante de un país, sino que pertenecen a sistemas de medicina tradicional organizados, como la medicina indígena, la fitoterapia, la acupuntura, entre otras (OMS, 2013).

4.1.2 Planta medicinal

Una planta medicinal es una planta silvestre o cultivable que, según la tradición o los registros bibliográficos, es capaz de producir y almacenar compuestos activos en uno o más de sus órganos; estos principios biológicamente activos, influyen en los procesos fisiológicos de los organismos vivos, generando acciones metabólicas e inmunológicas positivas en el organismo. Estas propiedades sirven de base para desarrollar y producir compuestos químicos de importancia farmacológica (WHO, 1999).

4.1.3 Compuestos bioactivos

Dentro de cualquier planta, sea medicinal o no, se desarrollan dos tipos de compuestos bioactivos: metabolitos primarios y secundarios.

4.1.3.1 Compuestos bioactivos primarios

Las plantas producen dos categorías de compuestos fitoquímicos. La primera categoría incluye los metabolitos o compuestos primarios, que son esenciales para el crecimiento y desarrollo normal de una planta. Entre estos compuestos se encuentran macromoléculas como los ácidos nucleicos, carbohidratos, ácidos grasos, proteínas y otras moléculas críticas para el desarrollo de la planta, como reguladores del crecimiento y componentes de la pared celular. Estos compuestos son de vital importancia para el ciclo de vida de la planta, ya que proporcionan la nutrición necesaria pero tienen propiedades medicinales mínimas (Bitwell et al., 2023).

4.1.3.2 Compuestos bioactivos secundarios

También conocidos como metabolitos secundarios, le confieren a la planta la capacidad de poder adaptarse y sobrevivir al estrés biótico local, mediante el desarrollo de biomoléculas con propiedades fúngicas, antibacterianas, insecticidas o antivirales; entre este tipo de moléculas se logran encontrar los alcaloides, terpenoides, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, siendo estas biomoléculas las responsables de muchas actividades biológicas o farmacológicas (Al-Khayri et al., 2023).

4.1.4 Extracto crudo o extracto vegetal

Los extractos crudos o extractos puros son sustancias que se caracterizan por tener una consistencia líquida, semisólida o sólida; estos extractos se obtienen mediante procesos físicos o químicos aplicados a un órgano vegetal específico de la planta medicinal, que se considera el reservorio de los principios activos. Generalmente no se utiliza la planta entera, sino sólo las partes que contienen los principios activos, como la raíz, la hoja o el fruto (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019).

4.1.5 Métodos de extracción

El método de extracción es el primer paso para obtener los compuestos bioactivos de una mezcla natural. El éxito del método de extracción depende en gran medida de la elección del disolvente de extracción ya que determina la calidad, la cantidad y la selectividad de los compuestos extraídos al alinearse con las propiedades químicas de los componentes naturales y del producto final deseado (Popova y Bankova, 2023).

En general, como se muestra en la Tabla 1, que describe la relación entre la polaridad del disolvente y los tipos de compuestos extraídos; los disolventes más empleados para un proceso de extracción de componentes bioactivos poseen propiedades específicas que los hacen adecuados para extraer compuestos de polaridad específica, entre ellos se incluyen solventes polares como el agua, metanol, etanol que se emplean para la extracción de compuestos polares; entre tanto, los solventes y disolventes no polares como la acetona, hexano, cloroformo y acetato de etilo se utilizan para la extracción de compuestos no polares (Szopa, Wróbel, y Witek-Krowiak, 2024).

Tabla 1. Solventes y disolventes empleados para la extracción de componentes bioactivos (Pandey & Tripathi, 2014).

Agua	Etanol	Cloroformo	Éter	Acetona
Antocianinas	Taninos			
Almidones	Polifenoles		Alcaloides	
Taninos	Poliacetilenos	Terpenoides	Terpenoides	Fenol
Saponinas	Flavonoles	Flavonoides	Cumarinas	Flavonoles
Terpenoides	Terpenoides		Ácidos grasos	
Polipéptidos	Esteroles			
Lectinas	Alcaloides			

Entre los métodos de extracción convencionales comúnmente utilizados en la extracción de componentes bioactivos están los siguientes:

4.1.5.1 Maceración

La maceración es un método de extracción sencillo, útil para obtener componentes termolábiles (Zhang, Lin, y Ye, 2018). En este procedimiento, todo el material vegetal, ya sea molido o en forma de polvo grueso, se deja en contacto con el solvente de interés en un recipiente tapado para minimizar la pérdida de solvente por evaporación. Esta mezcla generalmente se deja reposar durante al menos tres días, con agitación intermitente para asegurar una extracción completa, aunque también pueden ser efectivos tiempos de maceración más cortos según los compuestos específicos que se extraigan (Abubakar y Haque, 2020). Una vez finalizado el proceso de extracción, la mezcla, también conocida como micela (el líquido que contiene los compuestos bioactivos disueltos), se separa del orujo (el residuo sólido de la planta) mediante filtración o decantación utilizando tamices o redes de pequeños orificios. Posteriormente, los componentes bioactivos de interés presentes en la micela se separan del disolvente orgánico mediante evaporación al vacío o sobre baño de agua. Aunque este método es bastante sencillo y útil para la obtención de compuestos fenólicos, tiene la desventaja de presentar una baja eficiencia y un largo periodo de extracción (Bitwell et al., 2023).

4.1.5.2 Digestión

Es un método de extracción similar al de maceración, pero en este caso se mantienen temperaturas entre 35°C a 50°C durante el proceso de extracción para evitar la alteración de los compuestos bioactivos presentes en el material de investigación y minimizar la viscosidad del solvente de

extracción, mejorando así la remoción de metabolitos secundarios. Este método es adecuado para materiales vegetales que son fácilmente solubles en agua (Bitwell et al., 2023).

4.1.5.3 Infusión

El material vegetal se sumerge en el agua hirviendo, dejándolo reposar típicamente alrededor de 15 minutos, después de este período, el material vegetal se retira por filtración, obteniendo así el extracto; éste método de extracción es muy útil para la preparación de extractos frescos en los que se encuentran compuestos bioactivos con alta solubilidad (Manousi, Sarakatsianos, y Samanidou, 2019).

4.1.5.4 Percolación o filtración

Es el método de extracción más común para extraer principios activos en la preparación de tinturas o extractos fluidos (Bitwell et al., 2023). Consiste generalmente en empapar con alcohol etílico (solvente) el material vegetal en un recipiente estrecho en forma de cono, durante aproximadamente 4 horas. Posteriormente, se envasa el material vegetal transfiriéndolo a una percoladora con el extremo inferior cerrado con el propósito de que este sea impulsado gradualmente hacia abajo mediante otro solvente nuevo agregado desde la parte superior, dejándolo reposar durante un período de 24 horas. Seguidamente, se abre la salida del percolador permitiendo pasar lentamente gota a gota el solvente a través del material vegetal para lograr obtener el producto final deseado (Abubakar y Haque, 2020).

4.1.5.5 Decocción

Este método es apropiado para extraer fitoquímicos que permanecen estables bajo calor. La decocción implica hervir material vegetal en agua durante períodos que van desde 15 a 60 minutos, dependiendo del tipo de tejido y los compuestos específicos. Las partes más blandas de la planta,

como hojas, raíces, flores y tallos jóvenes, generalmente requieren alrededor de 15 minutos de ebullición. Por ejemplo, se han extraído fenoles y flavonoides de frutas, rizomas y hojas a 100 °C utilizando esta técnica. En cambio, las partes más duras, como las ramas y la corteza, pueden necesitar hasta una hora de ebullición. Después de hervir, la mezcla se enfría, se cuela y se agrega agua fría adicional para lograr el volumen requerido. Luego, la decocción se filtra para obtener el extracto líquido. Sin embargo, este método a menudo produce sustancias no deseadas y no es ideal para compuestos sensibles al calor. Por ejemplo, una decocción de corteza de *S. cumini* ha demostrado importantes actividades antiglicación y antioxidantes (Bitwell et al., 2023).

4.1.6 Ingredientes activos con actividad antimicrobiana presentes en las plantas medicinales.

La actividad farmacológica de las plantas medicinales surge principalmente de sus metabolitos secundarios; las principales clases de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas incluyen flavonoides (flavonoles, isoflavonas), ácidos fenólicos (ácido hidroxibenzoico, ácido hidroxicinámico), cumarinas (cumarinas simples, furanocumarinas, piranocumarinas), terpenoides (lactonas sesquiterpénicas, diterpenos), alcaloides, glucósidos, saponinas, lectinas. Estos compuestos exhiben varios mecanismos de acción antibacteriana, incluida la alteración de las membranas bacterianas, la reducción del metabolismo celular y la atenuación de la reproducción bacteriana, entre otros (Mickymaray, 2019).

4.1.6.1 Flavonoides

Estructuralmente, los flavonoides derivan de la benzo- γ -pirona e incluyen más de 4000 compuestos diferentes; presentan efectos antibacterianos significativos, ya sea solos o de forma sinérgica reduciendo su virulencia a través de la extinción del quórum y mejorando la eficacia de los antibióticos al aumentar la susceptibilidad bacteriana e inhibir las bombas de eflujo. Los flavonoides notables con fuerte actividad antibacteriana incluyen la rutina, la galangina, la

ramnoisorobina y otros. Los flavonoides son eficaces contra bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, principalmente al interactuar con las membranas celulares bacterianas, alterando las bicapas de fosfolípidos e inhibiendo la cadena respiratoria y la síntesis de ATP (Bittner Fialová et al., 2021).

La actividad antibacteriana de los flavonoides radica principalmente en la capacidad que tienen estas moléculas de interactuar con las membranas bacterianas, modificando la bicapa de fosfolípidos e inhibiendo el correcto funcionamiento de la cadena transportadora de electrones e impidiendo la síntesis de ATP mediante flavonoides hidrofílicos y lipófilos que entran en contacto con la bicapa de fosfolípidos definiendo que estos últimos presentan mayor afinidad por la membrana y, por tanto, más actividad (Yuan et al., 2021).

4.1.6.2 Cumarinas

Debido a su estructura fenólica (derivados de benzopiran-2-ona o cromen-2-ona), las cumarinas, similares a los flavonoides, son candidatos prometedores a fármacos debido a sus diversas propiedades farmacológicas, como efectos antimicrobianos, antioxidantes y antiinflamatorios. Souza et al., (2005) evaluaron 45 derivados diferentes de cumarina contra varias especies bacterianas, incluido *Staphylococcus aureus*. Entre estos compuestos, el ostenol, que se encuentra en el género *Angelica*, demostró actividad antibacteriana al inhibir *Bacillus cereus* y *S. aureus* a CMI (Concentración Mínima Inhibitoria) entre 62,5 a 125 µg/mL.

4.1.6.3 Saponinas

Se desempeñan como elementos fundamentales en la actividad antimicrobiana de las plantas ya que forman parte del sistema protección de la planta contra el estrés biótico y se caracterizan por presentar una amplia gama de sustancias naturales con función antibacteriana como, por ejemplo

los ginsenósidos, ácido glicirrónico, β -escina, α -hederina, que aumentan la susceptibilidad de diferentes bacterias resistentes a antibióticos como la vancomicina (Bittner et al., 2021).

4.1.6.4 Terpenoides y aceites esenciales

Los aceites esenciales son una mezcla de metabolitos secundarios volátiles presentes en más de 17.500 especies de plantas alrededor de todo el mundo; entre los principales componentes de los aceites esenciales se encuentran los terpenos, terpenoides y fenilpropanoides que tienen cualidades antimicrobianas (Breijyeh y Karaman, 2024). Los terpenoides y los terpenos poseen importantes propiedades bactericidas; por ejemplo, los isómeros monoterpénicos α -terpineol, terpinen-4-ol y δ -terpineol muestran fuertes efectos inhibidores sobre *Shigella flexneri*, al aumentar la permeabilidad de las membranas bacterianas (Masyita et al., 2022).

4.1.7 Microorganismos relevantes desde el punto de vista de salud pública

4.1.7.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli es un microorganismo prevalente que se encuentra en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y los animales de sangre caliente; es un bacilo Gram negativo no esporulado que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*; *Escherichia coli* se clasifica en diferentes patotipos en función de sus mecanismos de virulencia y manifestaciones clínicas, estas categorías son *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* productora de Toxina Shiga (ECTS); esta última puede provocar el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH), una afección potencialmente mortal caracterizada por insuficiencia renal, anemia hemolítica y trombocitopenia (Liu, 2018). *Escherichia coli* está incrementando su resistencia frente a las cefalosporinas de tercera generación y a los carbapenémicos (OMS, 2024).

4.1.7.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria Gram-negativa, móvil y con forma de bastón, conocida por su pigmento azul verdoso y su naturaleza no fermentadora, clasificada dentro de la familia *Pseudomonadaceae*: esta bacteria causa frecuentemente infecciones intrahospitalarias, como neumonía, infecciones del tracto urinario y bacteriemia con prevalencias de alrededor del 7,1% al 7,3%. En los entornos de Unidades de Cuidado Intensivo (UCI), es responsable de una mayor tasa de infecciones, pudiendo representar el 23% de las infecciones predominantemente de origen respiratorio (Reynolds y Kollef, 2021).

Esta bacteria se caracteriza, además, por su resistencia frente a los carbapenémicos (OMS, 2024).

4.1.7.3 *Staphylococcus aureus*

Pertenece a la familia *Staphylococcaceae* con morfología microscópica de coco Gram positivo en racimos, cuyo principal reservorio es la piel del ser humano; la gran mayoría de las cepas de *S. aureus* producen hemolisinas, nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasa y coagulasa; algunas pueden producir la toxina-1 del Síndrome de Shock Tóxico (TSST-1), enterotoxinas, toxinas exfoliativas asociadas a diversas patologías, tales como lesiones cutáneas e infecciones del sistema nervioso, del sistema respiratorio y del sistema urinario (Tang et al., 2023). Se caracteriza por su resistencia frente a la meticilina (OMS, 2024).

4.1.7.4 *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes, a menudo denominado estreptococo del grupo A (GAS), corresponde a un coco Gram positivo organizado en cadenas o pares; habita comúnmente tanto en la garganta como en la piel humana, pudiendo ocasionar faringitis estreptocócica, escarlatina (destacada por su erupción característica), impétigo (una infección superficial de la piel), celulitis (una infección

de la piel más profunda), fascitis necrotizante (una infección agresiva condición de descomposición del tejido) y síndrome de shock tóxico estreptocócico (una enfermedad sistémica potencialmente mortal) (Shrestha, Malla, y Haramoto, 2024). Su perfil de virulencia está asociado a factores como la proteína M, un actor clave en la evasión de las respuestas inmunes del huésped, así como las estreptolisinas que incitan al daño celular y exotoxinas como las exotoxinas pirógenas estreptocócicas (SPE) que contribuyen significativamente al desarrollo de síndromes graves como el shock tóxico (Brouwer et al., 2023). Esta bacteria ha demostrado una importante resistencia frente a macrólidos (Zhang et al., 2016).

4.1.7.5 *Candida albicans*

Forma parte de la familia *Cryptococcaceae*; se ha reportado un crecimiento anormal de *C. albicans* en el tracto gastrointestinal, genital y respiratorio en pacientes inmunocomprometidos e incluso en individuos sanos (Martins et al., 2014); esto debido a que posee factores de virulencia asociados con su habilidad para alterar su morfología (polimorfismo), la presencia de proteínas especializadas, tales como las adhesinas e invasinas, la liberación de enzimas hidrolíticas como proteasas que le permiten penetrar en las células y la formación de biopelículas en la superficie del huésped o en superficies abióticas (Talapko et al., 2021).

De acuerdo con el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) las infecciones por *Candida* resistentes frente a antimicóticos ocasionaron 34.800 casos y 1.700 muertes en 2017 (CDC, 2019).

4.1.8. ENSAYOS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

4.1.8.1 Método de difusión de pozos:

Este método implica la creación de pequeños pozos en una placa de agar, que se llenan con una solución que contiene el agente antimicrobiano. De manera similar al método de difusión en disco, el agente se difunde desde el pozo hacia el agar e inhibe el crecimiento microbiano; la eficacia se determina midiendo la zona de inhibición alrededor de cada pozo. Este método es particularmente útil para probar agentes antimicrobianos líquidos o sustancias que se disuelven fácilmente en una solución (Rütten, Kirchner, y Musiol-Kroll, 2022).

4.1.8.2 Método de difusión en disco:

También conocido como prueba de Kirby-Bauer, es una técnica utilizada para determinar la eficacia de antimicrobianos. En este procedimiento, el inóculo microbiano se distribuye uniformemente sobre una placa de agar, luego se colocan sobre el agar pequeños discos de papel que contienen el antimicrobiano; a medida que avanza el periodo de incubación, el antimicrobiano se difunde, impidiendo, o no, el crecimiento microbiano a su alrededor; la eficacia del antimicrobiano se evalúa midiendo la zona clara o zona de inhibición que rodea el disco (Prusty, 2022).

4.1.9 ENSAYOS PARA DETECCIÓN DE PROPIEDADES FITOQUÍMICAS DE PLANTAS

Recientemente las técnicas de purificación, detección y aislamiento de compuestos bioactivos de plantas han experimentado avances significativos que se alinean con el desarrollo de bioensayos avanzados ofreciendo métodos idóneos para el aislamiento y la purificación de los compuestos; lo

ideal es aplicar métodos que analicen de manera eficiente la bioactividad de los compuestos vegetales así como sus propiedades antioxidantes, antibacterianas o citotóxicas, con simplicidad, especificidad y rapidez (Altemimi et al., 2017).

4.1.9.1 Técnicas cromatográficas

La cromatografía es un método para separar moléculas por tamaño, forma y carga; el analito, disuelto en un disolvente, pasa a través de un tamiz molecular, lo que facilita la separación. La cromatografía en papel y en capa fina son técnicas sencillas para el análisis cualitativo y cuantitativo (Nortjie et al., 2022).

4.1.9.2 Cromatografía en papel (PC): Utiliza papel como medio y la muestra se coloca en la parte inferior. El disolvente se desplaza hacia arriba por capilaridad, separando las moléculas solubles. Una menor porosidad ralentiza el movimiento del disolvente, mientras que un papel más grueso aumenta la capacidad de la muestra (Coskun, 2016).

4.1.9.3 Cromatografía de capa fina (TLC): Implica la utilización de una fina capa adsorbente (fase estacionaria) en una fase móvil con el fin de separar compuestos de bajo peso molecular; se usa ampliamente debido a su conveniencia, rentabilidad y la disponibilidad de varias fases estacionarias como sílice, alúmina, celulosa y poliamida. La complejidad de los materiales vegetales requiere el uso de múltiples fases móviles para mejorar la calidad de la separación (Altemimi et al., 2017).

4.1.9.4 Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC): Separa los compuestos en función de las interacciones con las partículas de la columna y el disolvente. Un detector de matriz de diodos mide los espectros de absorción para la identificación de los compuestos (Coskun, 2016).

5. MARCO LEGAL

- Presidencia de la República de Colombia. Decreto 2753 de 1997. Dicta las normas para el funcionamiento de los Prestadores de Servicios de Salud en el Sistema General de Seguridad Social en Salud. Restringe el ejercicio de la Medicina Complementaria a los médicos con licencia y exige que los proveedores de atención médica consulten a las comunidades indígenas al establecer los servicios.
- Ministerio de Salud, Resolución 3131 de 1998. Estipula el Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de productos farmacéuticos con base en recursos naturales vigentes.
- Ministerio de Salud. Resolución 2927 de 1998. Reglamenta la práctica de terapias alternativas en la prestación de servicios de salud, se establecen normas técnicas, científicas y administrativas.
- Ministerio de Salud y Protección Social. Decreto 2266 de 2004. Regula los registros sanitarios, la vigilancia y el control sanitario, así como la publicidad de los medicamentos a base de hierbas.
- Ministerio de la Protección Social. Decreto 3553 de 2004. Establece la Farmacopeas y textos de referencia oficialmente aceptados en Colombia, entre ellos el Vademécum Colombiano de plantas medicinales.
- Ministerio de la Protección Social. Resolución 5107 de 2005. Adopta el Instrumento de Verificación de Cumplimiento de Condiciones Sanitarias para los Laboratorios que elaboren Productos Fitoterapéuticos.
- Congreso de Colombia. Ley 1164 de 2007. Dicta disposiciones en materia del Talento Humano en Salud, estableciendo, el Comité de Apoyo a Medicinas y Terapias Alternativas. Este comité está compuesto por un delegado de cada uno de los seis Comités de Medicina Alternativa, que incluyen Medicina Naturopática, Medicina Neural Terapéutica, Medicina Osteopática, Medicina Tradicional China, Medicina Homeopática y Medicina Ayurvédica.

- Ministerio de la Protección Social. Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales (2008). Comprende 119 monografías publicadas.
- Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia. Decreto 1973 de 2013. Crea la Subcomisión de Salud de la Mesa Permanente de Concertación con los Pueblos y Organizaciones Indígenas Este subcomité desempeña un papel asesor y técnico en la formulación de políticas de salud pública para las comunidades indígenas de Colombia.
- Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 2003 de 2014. Define los procedimientos y condiciones de inscripción de los Prestadores de Servicios de Salud y de habilitación de servicios de salud incluida la Medicina Complementaria.
- Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia, 2018. Establece lineamientos técnicos para la articulación de las medicinas y las terapias alternativas y complementarias, en el marco del Sistema General de Seguridad Social en Salud.
- Ministerio de Salud y Protección Social. Decreto 1156 de 2018. Por el cual se reglamenta el régimen de registro sanitario de productos fitoterapéuticos.

6. METODOLOGÍA

6.1 Recolección de material vegetal

Entre el 6 y 10 de mayo de 2024, se recolectaron 12 kilogramos de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” en una zona cercana a la comunidad indígena uitoto de La Reforma, ubicada en el resguardo de Puerto Sábalo – Los Monos, en el departamento del Amazonas (coordenadas: 0°32'24.3"S, 73°23'29.8"W). La recolección fue realizada por indígenas uitotos, originarios de la región (Figura 1). Posteriormente, la muestra fue empacada y enviada de inmediato al Laboratorio de Farmacología Vegetal (LABFARVE) en Bogotá, D.C., para su análisis. Se adjuntan el permiso de recolección y la autorización de investigación correspondientes (Anexo 1 y Anexo 3).

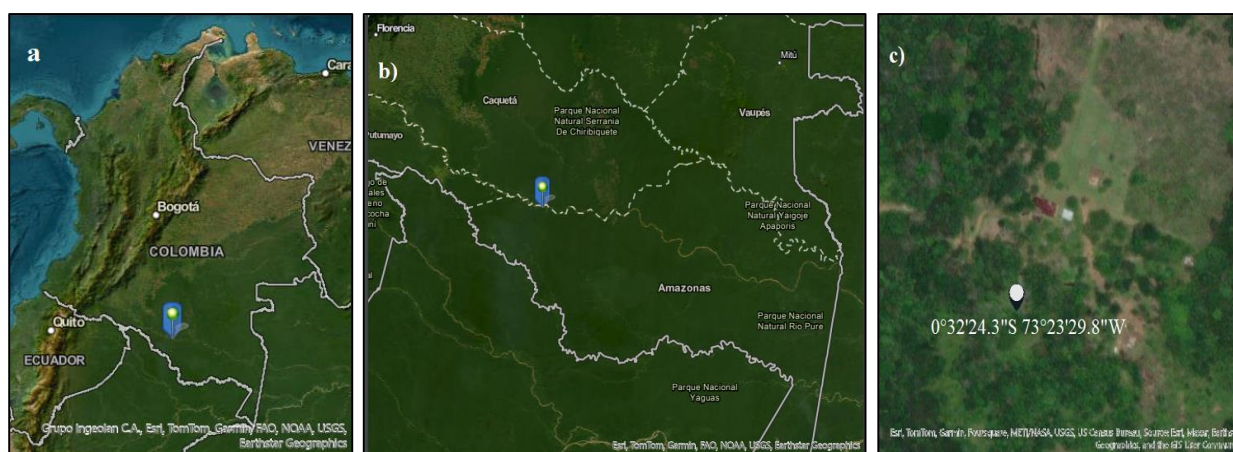


Figura 1. a) Mapa general de Colombia resaltando el punto de recolección de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” en el sur del país, b) específicamente en el departamento del Amazonas en la comunidad indígena uitoto de La Reforma, ubicada en el resguardo de Puerto Sábalo – Los Monos, dentro del departamento del Amazonas (coordenadas: 0°32'24.3"S, 73°23'29.8"W) (Elaborado con ArcGIS Online).

6.2 Descripción en campo de las partes de la planta medicinal *Nautilocalyx pallidus* (Sprague)

“Kitove”

Recolectada la muestra del espécimen vegetal, se realizó un análisis en campo de sus diferentes partes. Este protocolo incluyó un examen detallado del tallo, las hojas y las flores con base en metodologías botánicas establecidas y estándares de referencia (Mäder et al., 2021).

Se documentó minuciosamente la morfología, anatomía y características visuales de cada órgano, con exámenes detallados realizados en el envés (Figura 4b) y haz (Figura 4a) de las hojas, así como en las partes internas y externas de las flores (figura 5). El tallo se analizó haciendo secciones transversales (figura 6a) y longitudinales (Figura 6b). Para preparar estas secciones, primero se seleccionó una porción sana del tallo y se limpió con agua destilada para eliminar cualquier contaminante de la superficie. Las secciones transversales (figura 6a) se crearon cortando perpendicularmente al eje del tallo con una hoja de afeitar afilada, revelando la estructura interna en una vista transversal. Las secciones longitudinales (figura 6b) se produjeron cortando el tallo en paralelo a su longitud, ya sea por el centro o por el costado, para mostrar la disposición de los tejidos a lo largo (Gärtner y Schweingruber, 2013).

6.3 Clasificación e identificación de la planta medicinal *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”.

La clasificación e identificación taxonómica del ejemplar de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” (Figura 2) estuvo a cargo del Herbario Nacional de Colombia, bajo la supervisión de Laura Clavijo, directora del Herbario. El ejemplar fue catalogado bajo el número de colección 630158 (Anexo 2).

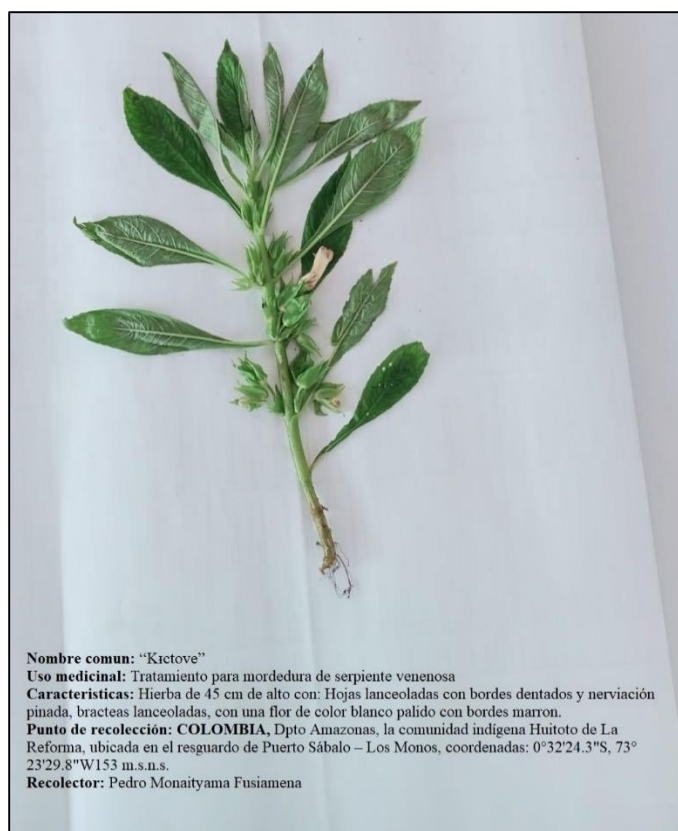


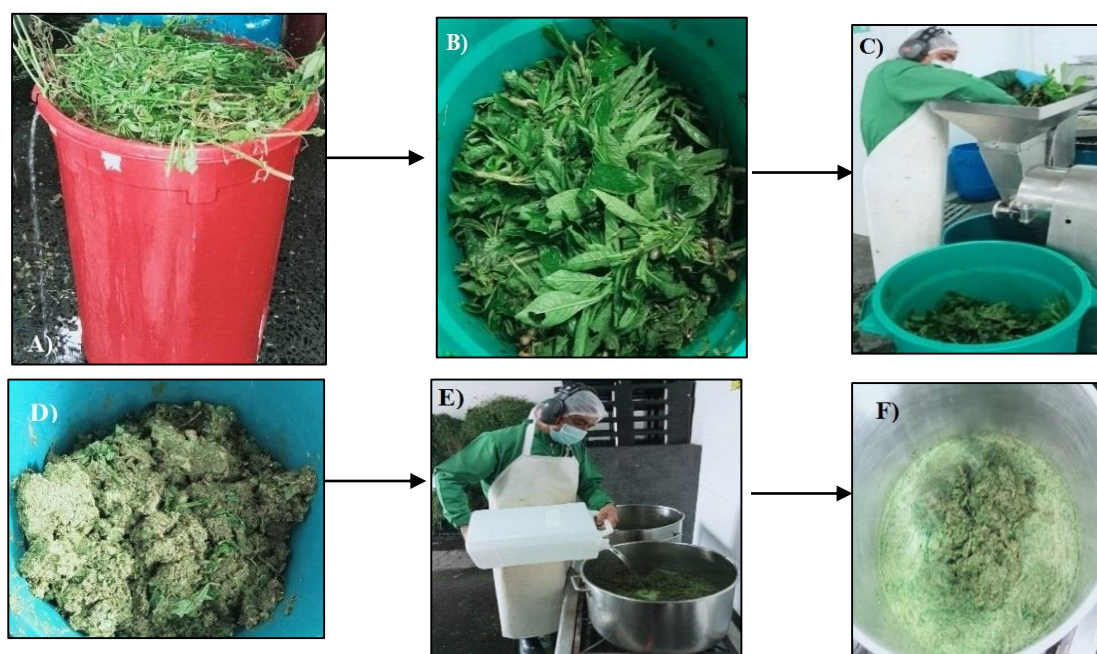
Figura 2. Ejemplar de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” enviado al herbario nacional colombiano para su respectiva clasificación e identificación taxonómica (Elaboración propia).

6.4 Protocolo de obtención del extracto de la planta medicinal *Nautilocalyx pallidus* (Sprague)

“Kitove”

El protocolo de extracción se basó en la técnica tradicional utilizada por los indígenas uitotos del Amazonas colombiano, con la modificación de que el material vegetal fue desinfectado y triturado. Para este proceso de extracción, las hojas y los tallos de la planta *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” fueron sometidos a dos lavados con agua potable para eliminar contaminantes externos. Posteriormente, se empleó una solución de cloruro de benzalconio al 0.0475%, facilitando la desinfección por inmersión durante 15 minutos (figura 3a). Luego, se eliminó completamente el desinfectante del material vegetal mediante un enjuague exhaustivo con agua potable (figura 3b). Después de la desinfección, las hojas y los tallos de la planta fueron pulverizados (figura 3c; 3d)

y colocados en un recipiente de acero inoxidable esterilizado. Posteriormente, se añadieron 20 litros de agua purificada, asegurando que el material vegetal quedara completamente sumergido (figura 3e). Seguidamente, se aplicó calentamiento continuo hasta que el material vegetal obtuvo una consistencia suave y flexible, similar a la de una pasta cocida. Al finalizar el proceso de calentamiento, la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente (figura 3f); después de este paso, el material vegetal cocido se filtró a través de una malla fina (figura 3g; 3h), así separando el residuo (bagazo) del líquido (figura 3i), que nuevamente se sometió a cocción. Al inicio de este segundo proceso de cocción, se mantuvo una temperatura alta de la llama, hasta alcanzar el punto máximo de ebullición del extracto acuoso; a medida que la mezcla se reducía, se bajó la temperatura del fuego. En este paso, fue necesario realizar una agitación constante y lenta del extracto acuoso evitando la adherencia a las paredes del recipiente. Como resultado de esta cocción lenta, se logró de que el filtrado, pasara de tener una consistencia líquida a una consistencia similar a la miel, pero de color negro (figura 3j).



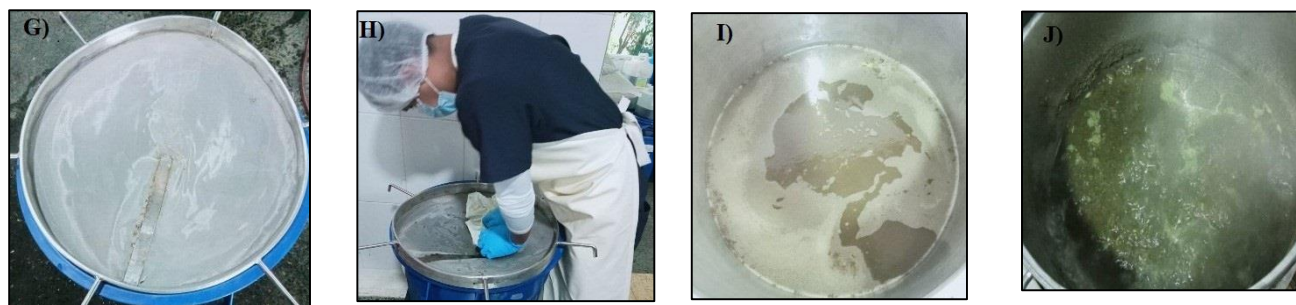


Figura 3. Proceso de obtención del extracto acuoso de la planta “Kitove” *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove”. A) Se sumergen las hojas y tallos de la planta en una solución de cloruro de benzalconio al 0,0475 %. B) Las hojas y tallos enjuagados de la planta Kitove. C) - D) Procedimiento de trituración de las hojas y tallos. E) Dispensar agua purificada sobre el material vegetal molido. F) El proceso de calentamiento continúa hasta que el material vegetal alcance una consistencia blanda. G) H) I) Filtración del material vegetal previamente cocido. J) Se lleva a cabo un segundo proceso de calentamiento para concentrar el extracto acuoso de la planta Kitove en una sustancia similar a la miel (Elaboración propia).

6.5 Caracterización fitoquímica del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague)

“Kitove” mediante cromatografía en capa fina (TLC)

Se utilizaron como estándares, el ácido valerénico 0,1% (Lote: R1G4G0, The Nature Network) Rutina (Lote: 89270, The Nature Network), Estigmasterol (Lote: 82658, The Nature Network), ácido ursólico (Lote: 89541, The nature network) y Kaempferol (Lote:89235, The nature network) junto con la muestra del extracto acuoso natural de la planta medicinal *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” diluida en una proporción (2:5) de metanol 99,9% (v/v). Las separaciones se realizaron en placas de TLC de 8,5 x 2,8 cm, con soporte de aluminio y pre-recubiertas con gel de sílice 60 (20 x 20 cm; SILICYCLE, lote: 210323). Se trazó una línea base a 0,5 cm del fondo de cada placa, donde se marcaron dos puntos espaciados uniformemente a lo largo de la línea de base para destacar los estándares y el extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove”. Utilizando tubos capilares se aplicaron pequeños volúmenes (1-2 μ L) de cada solución estándar a los puntos marcados en la línea base de las placas de TLC. Las soluciones de extractos naturales también se destacaron en puntos separados (Ghafoori et al., 2013; Manjula et al., 2013; Naumoska et al., 2013).

Las placas de TLC preparadas se revelaron utilizando las siguientes fases móviles: 40:40:10 (v/v) de (tolueno: cloroformo: etanol) para ácido ursólico y estigmasterol; 100:11:11:26 (v/v) de (acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial y agua) para rutina y kaempferol; y una mezcla 75:25 (v/v) de acetato de etilo y tolueno para ácido valerénico. Las placas se colocaron cuidadosamente en cámaras de revelado pre saturadas con vapores de fase móvil durante 30 minutos, asegurando que la línea base permaneciera por encima del nivel de la fase móvil. Las cámaras se cubrieron y se dejó que el solvente subiera a través de las placas hasta que alcanzó aproximadamente 0,5 cm desde la parte superior. A continuación, se retiraron las placas y se marcó inmediatamente con un lápiz el frente de disolvente. Antes de revelar las placas se secaron completamente usando una placa caliente a una temperatura de 120°C. Este paso aseguró que no quedara ningún disolvente residual en las placas antes de la visualización. Terminado el recorrido de los componentes presentes en las diferentes placas cromatográficas se realizó el revelado de las mismas. Para las placas de los estándares de ácido ursólico, ácido valerénico y estigmasterol las placas se revelaron utilizando *p*-anisaldehído-ácido sulfúrico. Para obtener este revelador, se preparó una solución que contenía 5% de anisaldehído (v/v) en ácido acético glacial, seguido de la adición de metanol y ácido sulfúrico al 98% (v/v). La placa de TLC se roció con el revelador y se calentó a 100 °C hasta que aparecieron manchas coloreadas y se visualizaron bajo luz visible. Mientras que las placas de Rutina y Kaempferol se revelaron con una solución de polietilenglicol 4000 (Merck- S6660090) y difenilborinato de 2-aminoetilo (Sigmaaldrich) y se visualizaron bajo luz ultravioleta. Primero se rociaron las placas con la solución de polietilenglicol 4000 y se dejaron secar, luego se rociaron con la solución de difenilborinato de 2-aminoetilo y se examinaron bajo luz UV (Ghafoori et al., 2013; Manjula et al., 2013; Naumoska et al., 2013). Al momento que se observaron las manchas cromatográficas que eran representativas en el extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague)

“Kıtove” se determinaron sus valores de factor de retención (Rf: Distancia recorrida por el soluto/ Distancia recorrida por el solvente) (Wagner et al., 2015).

6.6 Evaluación de las propiedades antimicrobianas del extracto puro de hojas y tallos de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”.

6.6.1 Microorganismos de prueba

Se estudiaron cinco tipos de microorganismos: Bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615), bacterias Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) y una levadura (*Candida albicans* ATCC 10231).

6.6.2. Determinación del efecto antimicrobiano del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” mediante difusión en pozo

La eficacia antimicrobiana del extracto puro y diluido al 10% (v/v) usando DMSO 99,5% (v/v) (Lote: 61390, Riedel-de Haën) se evaluó empleando una versión modificada del método de difusión en pozo en agar, según lo informado por Valgas et al. (2007) y Lone et al. (2024). Se suspendieron colonias puras de cada microorganismo en solución salina estéril hasta que su turbidez coincidiera con el número de tubo de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml) para las bacterias y ($1,5 \times 10^5$ UFC/ml) para la levadura. Para el ensayo de difusión en pozos de agar, se utilizaron placas de agar Mueller-Hinton II (Ref. 1055, CONDALAB) para cultivos bacterianos, mientras que se emplearon placas de agar Sabouraud Glucosa (Lote: 154489, SCHARLAU) para la cepa fúngica. Se crearon pozos de tamaño estándar con un diámetro de 6 mm en el agar utilizando cilindros de acero inoxidable estériles. Seguidamente, las placas de agar se inocularon con las suspensiones microbianas utilizando hisopos estériles para asegurar una distribución uniforme. Posteriormente, los pozos de cada placa de agar se llenaron de la siguiente manera: i) Pozos que

contenían el extracto acuoso natural y diluido al 10% con dimetilsulfóxido; ii) Pozos con controles positivos que comprenden agentes antimicrobianos estándar conocidos por inhibir el crecimiento de los respectivos microorganismos: Fluconazol 200 mg/100 ml VITALIS S.A.C.I para (*Candida albicans*), vancomicina 500 mg VITALIS S.A.C.I para (*Staphylococcus aureus*), Penicilina G sódica I.M/ I.V 1.000.000 Unidades Internacionales VITALIS S.A.C.I para (*Streptococcus pyogenes*) y Ceftriaxona base 1 g VITALIS S.A.C.I para (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*); y iii) Pozos de control negativo que contenían únicamente agua estéril y reactivos empleados en el procedimiento (Carezzano et al., 2023).

Después de dejar suficiente tiempo para la difusión, las placas se incubaron a temperaturas adecuadas para los microorganismos específicos. Los cultivos bacterianos se incubaron a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, mientras que las levaduras se incubaron a 25°C durante 48 horas. Después de la incubación, se examinaron las placas para detectar la presencia de zonas de inhibición alrededor de cada pozo, y se midió el diámetro de estas zonas con un pie de rey (ABSOLUTE AOS). La presencia y el tamaño de las zonas de inhibición indicaron la actividad antimicrobiana extracto natural puro, como su dilución (Carezzano et al., 2023).

6.6.3 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados de la actividad antibacteriana se realizó con el programa Microsoft® Excel® 2016 MSO (16.4266.1001) 64 bits ID de producto: 00339-10000-000000-AA783. La eficacia del extracto acuoso y diluido de *Nautilocalix pallidus* (Sprague) “Kıtove” se evaluó midiendo las zonas de inhibición de los organismos de prueba y determinando la media, evaluando variabilidad de los resultados mediante la desviación estándar y coeficiente de variación.

8. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

8.1 Descripción en campo de las partes de la planta medicinal *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”.

Las hojas de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” se caracterizan por presentar una forma lanceolada con márgenes dentados (Figura 4a:1), con una venación pinada prominente en el envés, donde una nervadura central (figura 4b:3) se ramifica en venas laterales que se extienden hacia los bordes de las hojas (Figura 4b:4) (Quinlan, 2000). Este patrón de venas, que es claramente visible, no solo proporciona una apariencia texturizada, sino que también mejora la resistencia estructural de las hojas y facilita el transporte eficaz de nutrientes. El haz de las hojas (figura 4a) se caracteriza por presentar un color verde más profundo, atribuido a la clorofila A, que permite que las hojas absorban más luz, lo que indica una fotosíntesis activa. Además, las hojas se agrupan en el ápice de la planta, lo que indica un crecimiento y desarrollo continuos; esta disposición optimiza la captura de luz para la fotosíntesis y garantiza una utilización eficiente del espacio (Malavasi y Malavasi, 2001).

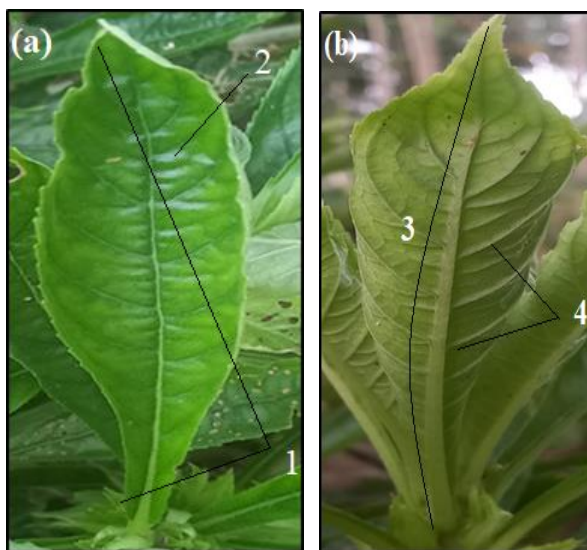


Figura 4. A) Vista del haz de la hoja de *Nautilocalyx pallidus* “Kıtove” con su respectivo borde dentado (1) y su coloración verde brillante (2); B) Vista del envés de la hoja de *Nautilocalyx pallidus* “Kıtove” con su nervadura central (3) que se ramifica en venas laterales que se extienden hacia los bordes de las hojas (4) (Elaboración propia).

La flor de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” se caracteriza por presentar una estructura tubular, donde los pétalos se fusionan en la base para formar un tubo delgado que se ensancha en la punta (Figura 5a:1). Esta forma tubular puede ser una adaptación evolutiva destinada a atraer a polinizadores específicos, probablemente aquellos capaces de maniobrar a través de la entrada estrecha para alcanzar el néctar ubicado en lo profundo de la flor (Moyroud y Glover, 2017). La coloración de la flor de *N. pallidus* “Kıtove”, varía de un blanco pálido en la base (figura 5a:2) a marrón claro en los bordes (figura 5a:4), posiblemente reflejando variaciones de color naturales, signos de envejecimiento o influencias ambientales. Los bordes ligeramente curvados de los pétalos contribuyen a la forma general de la flor y al atractivo estético (figura 5a:4). En posición central se encuentra el pistilo, que incluye el estigma, el estilo y el ovario, con el estigma ubicado prominentemente para mejorar la eficiencia de la polinización (Figura 5b:6). La base de la flor de *N. pallidus* “Kıtove” se caracteriza por la presencia de varias brácteas (figura 5a:5) (hojas terminales asociadas con una flor o inflorescencia) (Weberling y Pankhurst, 1989) con forma estrecha y lanceolada con márgenes dentados similares a las hojas del follaje, pero en un menor tamaño. Estas brácteas acostumbran ser más grandes y de colores más intensos, lo que sirve para atraer a más polinizadores; cuanto más grandes y visibles sean las brácteas, más frecuentemente serán visitadas por los polinizadores (Simon et al., 2011).

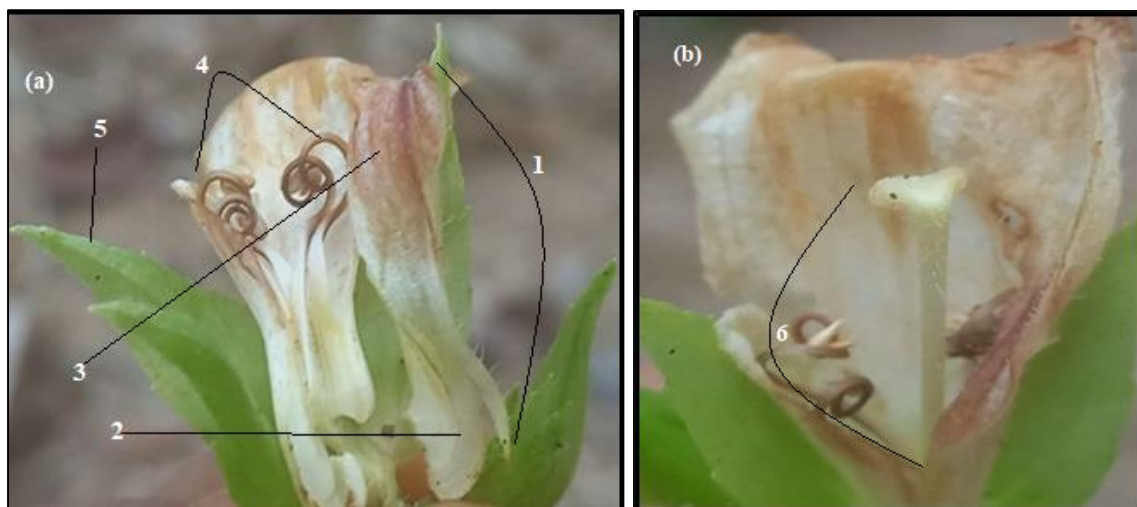


Figura 5. A) Vista de la estructura tubular (1) de la flor de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” por sus pétalos ligeramente curvados (4) que se caracterizan por presentar una coloración blanco crema (2) a marraron claro (3), acompañada de respectivas brácteas (5); B) Vista interna de la flor de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” detallando su órgano reproductivo (estigma) (6) (Elaboración propia).

Las secciones transversales y longitudinales del tallo de la planta medicinal “Kıtove” *Nautilocalyx pallidus* (Sprague), proporcionan información detallada sobre su estructura interna. La sección transversal (Figura 6a) revela la forma circular del tallo, que muestra múltiples capas distintas. La capa más externa, conocida como epidermis, funciona como un escudo protector contra lesiones físicas y patógenos (figura 6a:1). Debajo de la epidermis se encuentra la corteza, que consta de varias capas de células parenquimatosas responsables del almacenamiento de alimentos y el soporte mecánico (figura 6a:2) (Shipunov, 2024). Alrededor de la médula central se encuentran los haces vasculares, organizados en un anillo, cada uno de los cuales comprende tejidos como el xilema y floema para el transporte de agua, nutrientes y alimentos a través de la planta (figura 6a:3). La región central, la médula, está formada por grandes células parenquimatosas que almacenan nutrientes y facilitan el transporte interno (Shipunov, 2024). El prominente color verde de la médula indica un tejido de almacenamiento robusto (figura 6a:4). En contraste, la sección longitudinal (Figura 6b) muestra la estructura interna a lo largo de la longitud del tallo. De manera similar a la sección transversal, la epidermis forma una capa externa protectora continua (figura

6b:5). Debajo de ella, la corteza se extiende longitudinalmente, ofreciendo soporte estructural y almacenamiento de alimentos (figura 6b:6). Los haces vasculares en este caso aparecen como hebras continuas, con los vasos del xilema formando parte de la columna central (figura 6b:7). La médula, visible como una zona verde continua, sirve como lugar de almacenamiento y proporciona soporte interno (figura 6b:8) (Shipunov, 2024).



Figura 6. Vista macroscópica de secciones transversales (a) y longitudinales (b) del tallo de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” donde se detalla su estructura interna: Epidermis (1;5); corteza (2;6); haces vasculares (3;7) y médula central (4;8).

8.2 Clasificación e identificación de la planta medicinal *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”.

La clasificación e identificación del ejemplar de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” (figura 2) estuvo a cargo del Herbario Nacional de Colombia, siendo la identificación realizada por Laura

Clavijo, directora del Herbario Nacional de Colombia. El ejemplar se encuentra catalogado con el número de colección 630158 (Anexo 2).

Nautilocalyx pallidus (Sprague) es una angiosperma del clado eudicotiledóneas, orden *Lamiales* y familia *Gesneriaceae*; el género *Nautilocalyx* incluye esta especie, cuya autoridad se atribuye a LE Skog tras la descripción inicial de Sprague. Los sinónimos de *Nautilocalyx* incluyen *Alopectus pale*, *Drymonia ochroleuca*, *Episcia ochroleuca* y *Episcia ochroleuca* var. *angustifolia* (World Flora Online, WFO, 2024). Este género, parte de la familia *Gesneriaceae*, comprende más de 70 especies de plantas herbáceas perennes. Estas plantas generalmente tienen hojas con una base que es estrecha o forma una cuña, con el limbo extendiéndose hacia abajo a lo largo del pecíolo y el envés del limbo es de color verde (Figura 2). La inflorescencia carece de pedúnculos o los tiene muy cortos, con brácteas de forma ovada o lanceolada. Las flores presentan pedicelos más cortos que el cáliz, que también es ovoide o lanceolado. La corola es típicamente de color blanco, cremoso o amarillo (Figura 3) (WFO, 2024).

8.3 Caracterización fitoquímica del extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” mediante cromatografía en capa fina (TLC)

El análisis fitoquímico por cromatografía de capa fina (TLC) proporcionó datos tanto visuales en los cromatogramas (tabla 2; 3; 4; 5; 6), como cuantitativos con los valores del factor de retención (R_f) de las machas de colores observadas en el extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” y sus respectivos estándares. Las placas de TLC se revelaron utilizando soluciones derivatizadoras como el anisaldehído-ácido sulfúrico y polietilenglicol 4000 más difenilborinato de 2-aminoetilo que reaccionan con varias clases de grupos funcionales, especialmente aquellos que son fuertemente y débilmente nucleófilos mediante reacciones aldólicas y de acetalización,

permitiendo la detección de compuestos orgánicos como los fenoles, azúcares, esteroides y terpenos al producir coloraciones violetas, azules, rojos, grises o verdes en la placa de gel de sílice (Touchstone, 1992, p. 157).

8.3.1 Ácido valerénico

El ácido valerénico (C₁₅H₂₂O₂), un sesquiterpenoide que se encuentra en *Valeriana officinalis*, conocido por sus propiedades ansiolíticas respaldada por experimentos *in-vitro* sobre el receptor de ácido gamma-aminobutírico tipo A (GABAA) (Yuan et al., 2004, Khom et al., 2007, Trauner et al., 2008, Benke et al., 2009) así como experimentos *in-vivo* en ratones (Benke et al., 2009, Khom et al., 2010) y ratas (Murphy et al. 2010). Bajo la luz ultravioleta o cuando se tiñe con anisaldehído-ácido sulfúrico, el ácido valerénico generalmente exhibe una fluorescencia o coloración específica que se puede utilizar para su identificación (Singh et al., 2006). El extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” exhibió una zona de coloración negra un poco marcada (Tabla 2 a; f), con un *R_f* de 0,13 en ambas placas, probablemente esto sugiere la presencia de un derivado sesquiterpénico similar al estándar de ácido valerénico (Tabla 2. d; e) que presento un *R_f* de 0,60. Con un *R_f* de 0,17 (Placa 1: b) y 0,19 (Placa 2: g) se logran observar manchas de color rosado que podría indicar la presencia de compuestos fenólicos en el extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”. Las zonas amarillas con *R_f* de 0,40 (Placa 1:c; Placa 2: h) en ambas placas sugieren la presencia de un compuesto relativamente menos polar, posiblemente un flavonoide (Shukla, Desai, & Modi, 2020). Dada la fase móvil utilizada (75:25 acetato de etilo: tolueno), se permitió la separación de compuestos moderadamente polares revelando así la diferente gama de colores presentes en la banda con un *R_f* final de 0,60 (Tabla 2. i) esto podría representar compuestos altamente no polares que interactúan menos con la fase estacionaria y reaccionan débilmente con la fase móvil (Bolliger y otros, 1965).

Tabla 2. Factor de retención (Rf) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” (I) y estándar de ácido valérico 0,1% (II) derivatizados con el uso del reactivo anisaldehído-sulfúrico (AS).

Cromatograma		Zona con coloración	Factor de retención: Rf
	Final	a Negro	0,13
		b Rosado	0,17
		c Amarillo	0,40
		d Estándar	0,60
		e Estándar	0,60
		f Negro	0,13
		g Rosado	0,19
		h Amarillo	0,40
		i Gris opaco	0,60
Inicio			

(I) Extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove”; (II) Estándar de ácido valérico 0,1%
(Elaboración propia).

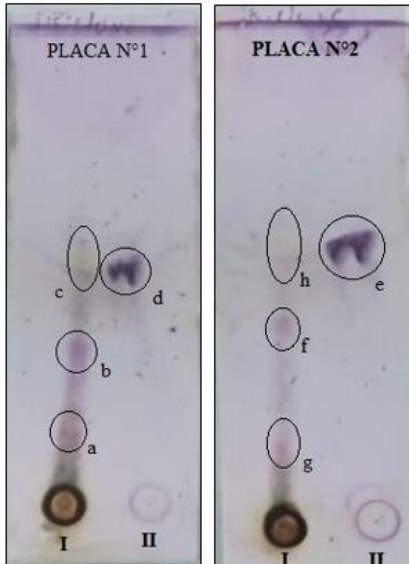
8.3.2 Ácido ursólico

El ácido ursólico (AU), un triterpenoide pentacíclico con la estructura química ácido 3 β -hidroxiurs-12-en-28-oico, es un compuesto lipofílico que se encuentra comúnmente en varias plantas medicinales y alimentos de origen vegetal. Es reconocido por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antienvjecimiento, ofreciendo varios beneficios para la salud, como protección hepática, inhibición de tumores y regulación de lípidos (Liobikas et al., 2011). Como metabolito terapéutico derivado de plantas, el AU influye en procesos como la metástasis, la apoptosis y la inflamación a través de sus efectos tanto dentro como fuera de las células. Además, los derivados sintéticos del AU han demostrado ser eficaces en aplicaciones farmacológicas destinadas a prevenir enfermedades relacionadas con la edad (Kashyap et al.,

2016). Las investigaciones también indican que el AU mejora la salud y la duración de vida de *Caenorhabditis elegans* al modular la vía de señalización JNK (Bahrami y Bakhtiari, 2016).

El sistema de solventes en una proporción de 40:40:10 (tolueno: cloroformo: etanol) permitió que el estándar de ácido ursólico (Tabla 3; II) alcanzara un R_f entre 0.51 (Placa 1: *d*) y 0.57 (Placa 2: *e*) y, al mismo tiempo, facilitó la separación de distintos compuestos químicos presentes en el extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” (Tabla 3; I). Se observaron manchas rosadas con un R_f de 0.17 (Placa 1: *a*; Placa 2: *g*) y 0.33 (Placa 1: *b*; Placa 2: *f*), lo que sugiere la presencia de derivados fenólicos con diferentes polaridades. También se exhibieron manchas amarillas con un R_f de 0.44 (Placa 1: *c*) y 0.55 (Placa 2: *h*), indicando la presencia de flavonoides que difieren en su polaridad. A pesar de la variedad de colores observados en el extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” utilizando la fase móvil de tolueno: cloroformo: etanol, no se visualizó un patrón de color similar al estándar de ácido ursólico, lo que indica la ausencia de este compuesto bioactivo en el extracto.

Tabla 3.Factor de retención (R_f) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” (I) y estándar de ácido ursólico (II) derivatizados con el uso del reactivo anisaldehído-sulfúrico (AS).

Cromatograma		Zona con coloración	Factor de retención:	
	Final	a	Rosado	0,17
	Rf 0.5	b	Rosado	0,33
		c	Amarillo	0,44
		d	Estándar	0,51
		e	Estándar	0,57
		f	Rosado pálido	0,33
		g	Rosado	0,17
	Inicio	h	Amarillo pálido	0,55

(I)Extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”; (II) Estándar de ácido ursólico

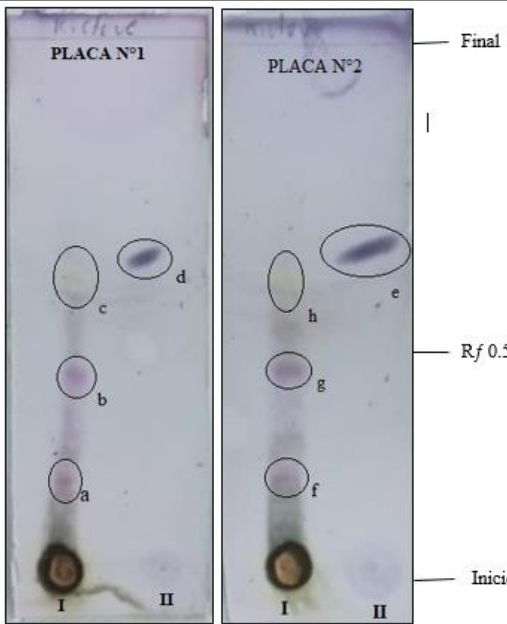
(Elaboración propia)

8.3.3 Estigmasterol

Las estructuras químicas de los esteroides más comunes contenidos en las plantas son similares a las del colesterol, pero difieren en su cadena lateral que tiene un grupo alquilo adicional en la posición C-24. El estigmasterol tiene un grupo etilo en esta posición y un doble enlace en la posición C-22. A este compuesto bioactivo se le atribuyen varias propiedades farmacológicas incluyendo actividad antiproliferativa, antiosteoartrítica, hipoglucémica, antimutagénica, antioxidante y antiinflamatoria (Walker et al., 2017). También se ha demostrado su efecto neuroprotector a través de la actividad antioxidante, la actividad antiinflamatoria y la atenuación de la autofagia aberrante en la lesión por isquemia/reperfusión (Liang et al., 2020; Haque et al., 2021). En este caso, se observó que el extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”

exhibió a un R_f de 0,17 (Placa 2: *g*) una mancha de color azul oscura similar al patrón de color observado en el estándar de Estigmasterol con R_f de 0,60 (Placa 1: *d*; Placa 2: *e*) indicando la presencia de compuestos químicos con estructura similar al estigmasterol. Con R_f de 0,2 (Placa 2: *f*); 0,19 (Placa 1: *a*) y 0,33 (Placa 1: *b*) se observaron machas rosadas que indican la presencia de compuestos fenólicos que varían en su polaridad. Por último, se observó un área gris con R_f de 0,55 (Placa 1: *c*; Placa 2: *h*) indicando la presencia de compuesto químicos poco polares en el extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague).

Tabla 4. Factor de retención (R_f) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” (I) y estándar de estigmasterol (II) derivatizados con el uso del reactivo anisaldehído-sulfúrico (AS).

Cromatograma		Zona con coloración	Factor de retención:	
	Final	a	Rosado	0,19
	I	b	Rosado	0,33
		c	Gris opaco	0,55
		d	Estándar	0,6
		e	Estándar	0,6
		f	Rosado	0,2
		g	Azul opaco	0,17
	Rf 0.5	h	Gris opaco	0,55
Inicio				

(I)Extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”; (II) Estándar de estigmasterol

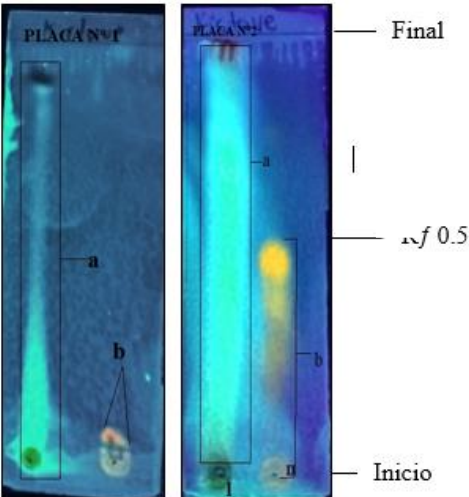
(Elaboración propia)

8.3.4 Rutina

La rutina (Vitamina P) es un flavonoide antioxidante presente predominantemente en todas las frutas y verduras. Muchos estudios han informado el potencial anti-biofilm de los flavonoides,

incluida la actividad inhibidora de biofilm de la rutina contra patógenos microbianos productores de biofilm resistentes a fármacos (Wang et al., 2017; Deepika et al., 2018). También se han informado actividades cardioprotectoras (Liu et al., 2018) vasoprotectoras, hipotensoras (Yeh et al., 2014). En este estudio, la fase móvil compuesta por 100:11:11:26 (v/v) acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial y agua, al revelarse con una solución de polietilenglicol 4000 más difenilborato de 2-aminoetilo, permitió la detección de flavonoides. Estos suelen aparecer como manchas fluorescentes de color amarillo brillante, verde o azul bajo luz ultravioleta después de la derivatización. Bajo luz UV, el estándar de rutina mostró una banda fluorescente amarilla uniforme con un R_f de 0,5 en una de las dos placas (Tabla 5. Placa 2: *b*). Sin embargo, al observar la banda del extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”, la gama de colores revelada no mostró ninguna similitud con el estándar de Rutina, ya que se observaron bandas prominentes de color azul cielo con R_f de 0,85 (Placa 1: *a*) y 1 (Placa 2: *b*). Este resultado sugiere que el extracto de *N. pallidus* (Sprague) “Kıtove” contiene un alto nivel de flavonoides que no son similares estructuralmente a la Rutina.

Tabla 5. Factor de retención (R_f) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Ktove” (I) y estándar de rutina (II) derivatizados con el uso del reactivo polietilenglicol 4000 y difenilborato de 2-aminoetilo.

Cromatograma		Zona con coloración	Factor de retención:
	Final	a Placa 1 (celeste)	0,85
		a Placa 2 (celeste)	1
	R_f 0.5	b Placa 1 (amarillo)	0,21
	Inicio	b Placa 2 (amarillo)	0,5

(I) Extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Ktove”; (II) Estándar de rutina

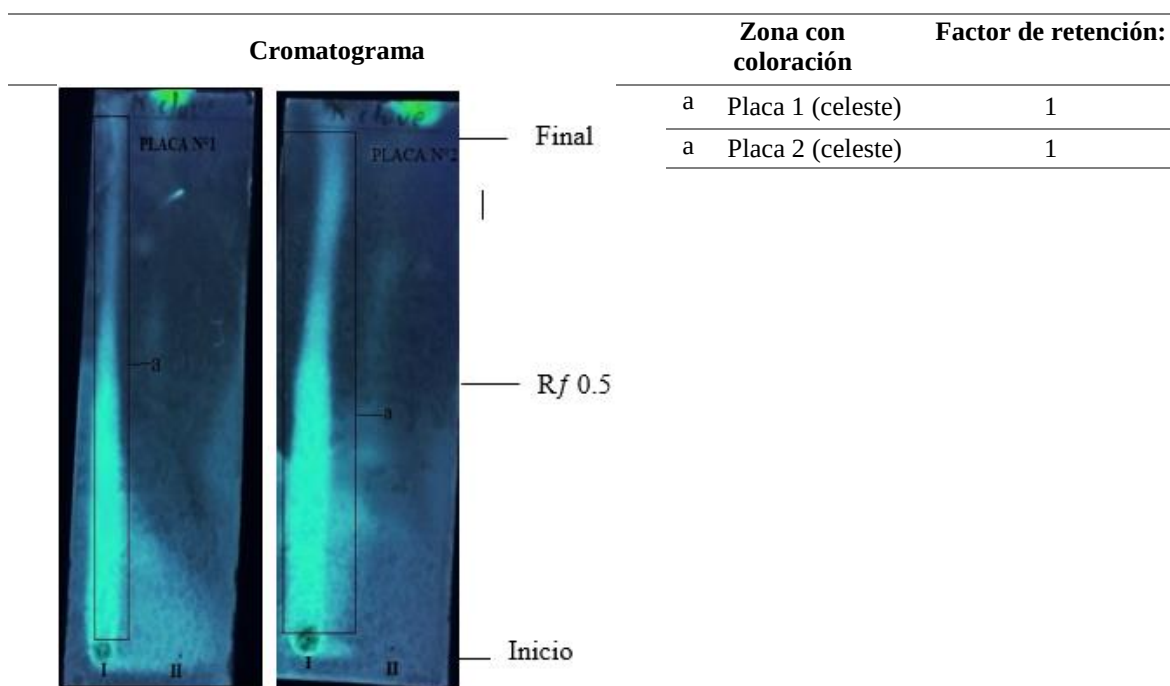
(Elaboración propia)

8.3.5 Kaempferol

El kaempferol es un tipo de compuesto flavonoide multihidroxilo, que existe ampliamente en plantas y flores, es reconocido por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas (Rahaman et al., 2022). Estructuralmente, el kaempferol presenta dos anillos aromáticos y un anillo heterocíclico oxigenado. Estas similitudes estructurales entre los flavonoides están ganando cada vez más atención debido a su fuerte capacidad para quelar iones metálicos como el hierro, el cobre, el platino y el paladio. En particular, los complejos flavonoide-metal exhiben una actividad anticancerígena mejorada en las células cancerosas humanas en comparación con los flavonoides libres, lo que los posiciona como agentes prometedores para la terapia contra el cáncer (Tu et al., 2016).

El extracto de *N. pallidus* (Sprague) “Kitove” tampoco presentó un patrón de colores similar al estándar de kaempferol (Tabla 6) verde fluorescente, pero, se observó que este presenta una concentración elevada de flavonoides ya que se exhibieron bandas prominentes de color azul celeste con un R_f de 1 (a). El kaempferol fue identificado por He et al. (2014) como un flavonoide inhibitorio frente a *Escherichia coli*, al alterar su membrana celular provocando la fuga de proteínas bacterianas al entorno extracelular. Además, se reveló que el kaempferol, junto con la quercetina, interactúan con la 3-oxiacil-[proteína transportadora de acilo] reductasa (FabG) y la proteína transportadora de enoil-acilo reductasa inhibiendo la biosíntesis de ácidos grasos en *Mycobacterium*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae*, lo que perjudica la función de la envoltura celular y previene la formación de biopelículas bacteriana (Cronan y Thomas 2009; Rowlett et al., 2017).

Tabla 6. Factor de retención (R_f) del cromatograma de capa fina del extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove” (I) y estándar de kaempferol (II) derivatizados con el uso del reactivo polietilenglicol 4000 y difenilborato de 2-aminoetilo.



(I) Extracto acuoso de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove”; (II) Estándar de Kaempferol

(Elaboración propia).

Investigaciones anteriores han destacado las propiedades antimicrobianas de los compuestos fitoquímicos identificados en este estudio. Por ejemplo, el ácido valerénico identificado como un ácido monocarboxílico sesquiterpenoide, presente en varias especies de *valeriana*, se ha destacado por sus propiedades sedantes, antidepresivas y ansiolíticas. Además, influye en el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y la motilidad gastrointestinal, lo que puede contribuir a su potencial terapéutico en el tratamiento de afecciones como la enfermedad de Alzheimer al aumentar la expresión de BDNF, lo que sugiere efectos neuroprotectores (López-Rodríguez y Yáñez, 2020).

Kovanda et al. (2019) estudiaron la eficacia antimicrobiana del ácido valerénico, revelando que se necesitaron CMI de hasta 2800 mg/L para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* mientras que para *Streptococcus pneumoniae* de 1000 mg/L. Por su parte, Mohammadi et al. (2023) encontraron que el ácido valerénico, incluso cuando se probó a concentraciones que oscilaron entre 200 y 6,25 µg/mL, no inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*; sin embargo, el extracto metanólico de *Valeriana officinalis*, que contiene una amplia variedad de fitoquímicos, incluido el ácido valerénico, sí demostró actividad antimicrobiana, en particular contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Este hallazgo sugiere que, si bien el ácido valerénico por sí solo puede no contribuir significativamente a los efectos antimicrobianos, la acción combinada de los diversos compuestos presentes en el extracto podría ser responsable de las propiedades antimicrobianas observadas.

El ácido ursólico (AU), un triterpenoide pentacíclico que se encuentra en muchas plantas medicinales, ha demostrado efectos antimicrobianos significativos, particularmente contra bacterias Gram-positivas. Según la investigación de Wolska et al. (2010), el AU presenta una

buena actividad antibacteriana frente cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) y Enterococos tolerantes a la vancomicina (ERV) encontrando CMI bajas para estas cepas, 4 mg/mL y 8 mg/mL, respectivamente, sugiriendo que el AU podría ser un candidato prometedor para tratar infecciones por estas bacterias. Por su parte, Do Nascimento et al. (2014) utilizaron el método de microdilución para evaluar la eficacia antimicrobiana del AU demostrando fuertes efectos antibacterianos contra *Staphylococcus aureus*, con una CMI de 32 µg/mL; frente a *Escherichia coli* el AU exhibió actividad antibacteriana moderada alcanzando valores de CMI de 64 µg/mL. Sin embargo, su eficacia fue notablemente menor frente a *Pseudomonas aeruginosa* obteniendo CMI de 512 µg/mL.

La rutina está bien documentada por su importante actividad antibacteriana contra varias cepas bacterianas. Por ejemplo, la investigación de Pimentel et al, (2013) ha demostrado que la rutina extraída de *Pteris vittata L.* exhibe actividad antibacteriana frente a *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, con valores CMI tan bajos como de 0,03 mg/ml. Su efecto antimicrobiano se basa en diversos mecanismos, como la alteración de las paredes celulares bacterianas, la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y la interferencia con el metabolismo energético microbiano; adicionalmente, la rutina es reconocida por su capacidad para regular la expresión de proteínas, especialmente dentro de las vías de respuesta al estrés, lo que puede comprometer la supervivencia de los microorganismos (Gullón et al., 2017).

Con respecto al estigmasterol, el estudio de Lestari et al. (2024) en el que se realizó la evaluación de las propiedades antimicrobianas de este compuesto aislado de las hojas de *Piper crocatum* (betel rojo), reveló que exhibió actividad antibacteriana moderada frente a *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* y *Enterococcus faecalis*; *S. sanguinis* fue particularmente sensible al estigmasterol, con zonas de inhibición notables a una concentración de 312,5 µg/mL;

adicionalmente demostró actividad antifúngica significativa frente a *Candida albicans* siendo eficaz a concentraciones del 2,5% y el 5%. Otros estudios han registrado que el estigmasterol, presente en el extracto de hexano de las hojas de *Icacina trichantha*, muestra una considerable actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, demostrando zonas de inhibición de 29 mm, 24 mm y 21 mm, respectivamente, a una concentración de 100 µg/mL (Alawode et al., 2021).

8.4 Evaluación de las propiedades antimicrobianas del extracto puro de hojas y tallos de la planta “Kıtove” *Nautilocalyx pallidus* (Sprague).

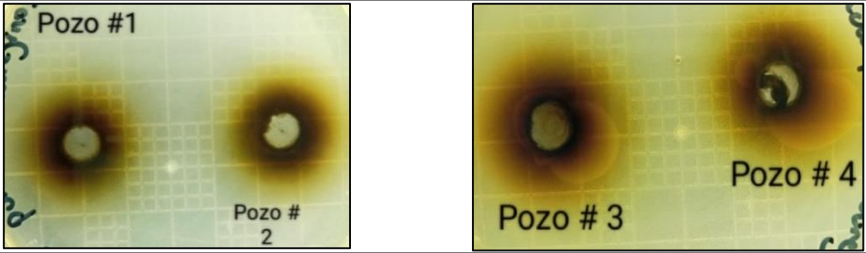
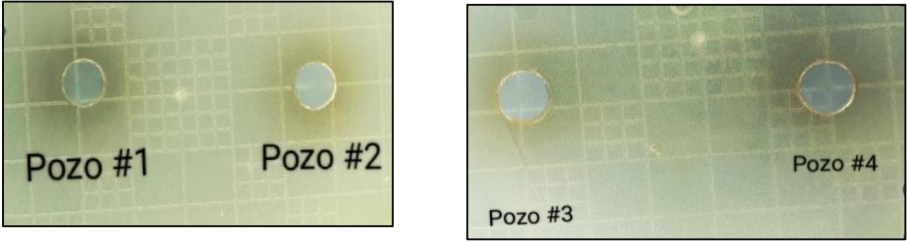
8.4.1 Bacterias Gram- Negativas

8.4.1.1 *Pseudomonas aeruginosa*

La Tabla 7 muestra las imágenes correspondientes a las pruebas realizadas, mientras que las Tablas 8 y 9 describen los diámetros obtenidos en cada prueba y su respectivo análisis estadístico. Los resultados revelaron que el extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” no presentó actividad antibacteriana aparente contra *Pseudomonas aeruginosa*, como lo indica la ausencia de halos de inhibición. La coloración observada alrededor de los pozos (Tabla 7) se debió al extracto en sí mismo y no a un efecto antimicrobiano. Por otro lado, el extracto diluido al 10% en DMSO al 98% (v/v) mostró un leve efecto antimicrobiano contra *Pseudomonas aeruginosa*, ya que, al comparar el promedio del extracto al 10% con el promedio del control positivo Ceftriaxona base 1 g, se encontró un valor p (0.0000313) extremadamente bajo, lo que indica una diferencia significativa entre el extracto al 10% y el control positivo. Esto sugiere que el diluyente podría actuar como adyuvante al potenciar la actividad antimicrobiana del extracto de *Nautilocalyx*

pallidus (Sprague) contra *P. aeruginosa*, ya que se han demostrado efectos inhibitorios del DMSO contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Ansel et al., 1969).

Tabla 7. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para *Pseudomonas aeruginosa* frente al extracto natural puro y dilución al 10% con DMSO al 98% (v/v) de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Ktove”.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Extracto puro	
Extracto al 10%	
Control positivo	
<i>P. aeruginosa</i> + Ceftriaxona base 1 g	
Control negativo	
Medio Müller-Hinton + <i>P. aeruginosa</i>	

(Elaboración propia)

Tabla 8. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (7 mm)
	Pozo 1	0
Extracto puro	Pozo 2	0
	Pozo 3	0
	Pozo 4	0
	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (7 mm)
	Pozo1	5
Extracto al 10%	Pozo2	7
	Pozo 3	7
	Pozo 4	8
	Número de pozos	Diámetro del halo de inhibición – Diámetro del pozo
	Pozo 1	23
Control positivo Ceftriaxona base 1 g	Pozo 2	24

(Elaboración propia)

Tabla 9. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS			
	Extracto puro	Extracto al 10%	Control positivo (Ceftriaxona base 1 g)
Media	0	6,75	23,5
Desviación estándar	0	1,26	0,71
Coefficiente de variación	0	19%	3%
Resultados prueba T			
	Prueba t	Valor p	
Extracto puro vs ceftriaxona base 1 g	-47	0,00173	
Extracto al 10% vs ceftriaxona base 1 g	-20,84	0,0000313	

(Elaboración propia)

Investigaciones anteriores han demostrado que los extractos de varias plantas medicinales, incluidas *Moringa oleifera* y *Matricaria recutita*, exhibieron diferentes niveles de actividad antibacteriana contra cepas sensibles y resistentes a los antibióticos de *Pseudomonas aeruginosa*; los extractos acuosos y de metanol de estas plantas fueron efectivos contra la mayoría de las cepas

sensibles y resistentes, mientras que los extractos de etanol mostraron una actividad reducida contra casi todos los aislados (Atef et al., 2019).

Las diferencias en los tamaños de los halos de inhibición (que van desde 5 mm a 8 mm) con el extracto diluido al 10% con DMSO podrían atribuirse a varios factores. Una posibilidad es que el extracto no se haya distribuido uniformemente en los pozos, lo que da lugar a concentraciones variables de compuestos activos en cada pozo. Además, los compuestos activos del extracto pueden tener distintos niveles de solubilidad, lo que hace que se difundan de forma desigual a través del agar, lo que podría dar lugar a halos de diferentes tamaños.

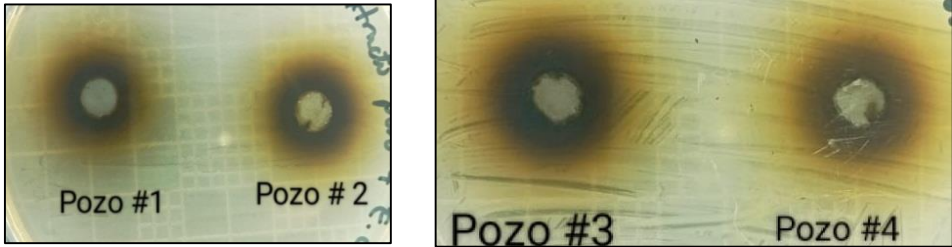
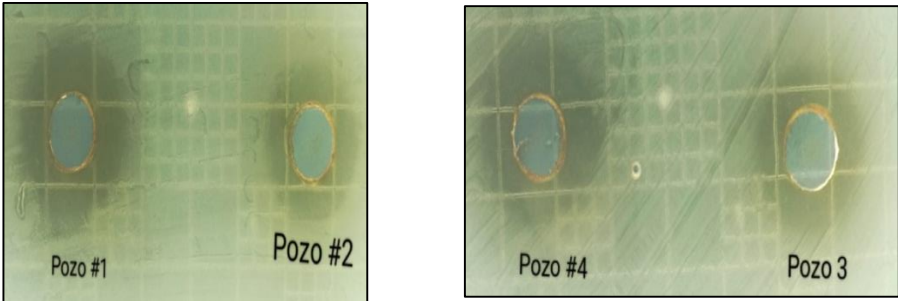
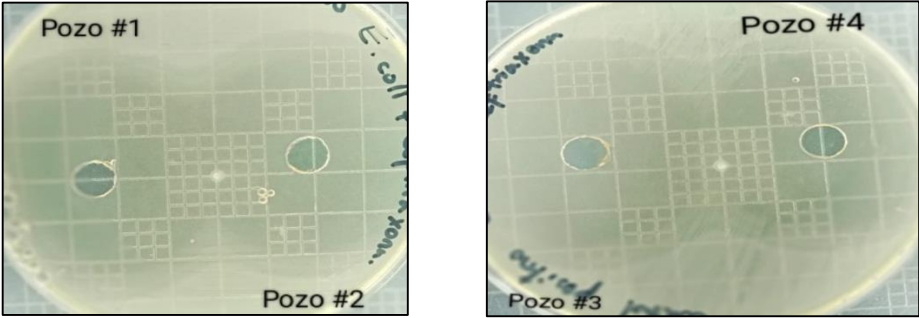
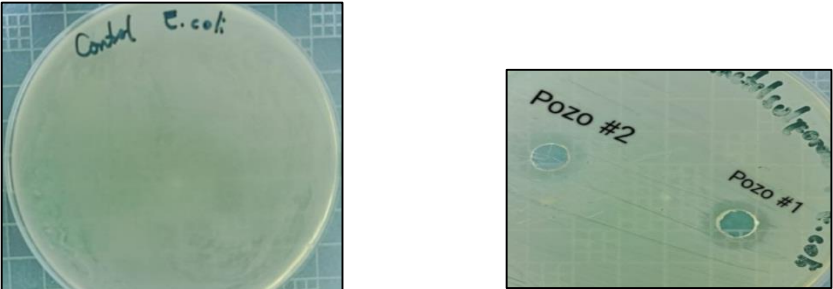
8.4.1.2 *Escherichia coli*

Los resultados de la prueba de difusión en pozo para *Escherichia coli* se muestran en la tabla 10 y la descripción de los diámetros obtenidos en cada ensayo con su respectivo análisis estadístico se muestran en las tablas 11 y 12; el extracto puro de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” no presentó zonas de inhibición, lo que dio como resultado una zona de inhibición media de 0 mm, esta ausencia de actividad antimicrobiana en el extracto puro podría atribuirse a varios factores, incluida la presencia de compuestos inhibidores que pueden enmascarar o contrarrestar los agentes antimicrobianos activos. En cambio, el extracto diluido al 10% demostró un nivel moderado de actividad antimicrobiana, con una zona de inhibición media de 10,25 mm, estas zonas de inhibición observadas variaron de 9 mm a 12 mm, con una desviación estándar de 1,5 mm, lo que indica cierta variación en la respuesta antimicrobiana en los pozos. Al analizar la diferencia significativa del el extracto diluido al 10% frente al control positivo de ceftriaxona base 1 g se encontró un valor p de 0,0000351, lo que indicó que la diferencia en la actividad antimicrobiana es estadísticamente significativa y como se esperaba, el control positivo, ceftriaxona base1 g, mostró una zona de inhibición media de 28,5 mm, con una variabilidad mínima (desviación estándar = 0,71 mm);

aunque el extracto diluido al 10% exhibe cierta actividad antimicrobiana, es mucho menos eficaz que la ceftriaxona base 1 g. Esta disparidad significativa enfatiza las limitaciones del extracto de la planta en comparación con el antibiótico convencional. Este resultado confirma la eficacia de la ceftriaxona como un antibiótico potente y establece un punto de referencia para el potencial antimicrobiano del extracto examinado (Hassan, 2014).

La dilución del extracto con DMSO al 10% parece mejorar la solubilidad o disponibilidad de los compuestos antimicrobianos activos, lo que da como resultado zonas de inhibición mensurables; como se mencionó, la variación en las zonas de inhibición para el extracto diluido (que van desde 9 mm a 12 mm) podría deberse a ligeras diferencias en la concentración de compuestos activos, las tasas de difusión o las condiciones experimentales durante el ensayo de difusión en los pozos de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove”.

Tabla 10. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para *Escherichia coli* frente al extracto natural puro de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kítove” como a su dilución al 10%.

<i>Escherichia coli</i>	
Extracto puro	
Extracto al 10%	
Control positivo (Ceftriaxona base 1 g)	
Control negativo	 <p>Agar Müller- Hinton inoculado con <i>E. coli</i></p> <p><i>E. coli</i> + Dimetilsulfóxido 98% (v/v)</p>

(Elaboración propia)

Tabla 11. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a *Escherichia coli* y su respectivo control positivo.

	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (7 mm)
Extracto puro	Pozo 1	0
	Pozo 2	0
	Pozo 3	0
	Pozo 4	0
Extracto al 10%	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (7 mm)
	Pozo1	9
	Pozo2	9
	Pozo 3	11
Control positivo (Ceftriaxona base 1 g)	Pozo 4	12
	Número de pozos	Diámetro del halo de inhibición – Diámetro del pozo
	Pozo 1	29
	Pozo 2	28

(Elaboración propia).

Tabla 12. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a *Escherichia coli*.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS			
	Extracto puro (mm)	Extracto al 10% (mm)	Control positivo (Ceftriaxona base 1 g) (mm)
Media	0	10,25	28,5
Desviación estándar	0	1,5	0,71
Coeficiente de variación	0	15%	2%
Resultados prueba T			
	Prueba t	Valor p	
Extracto puro vs Ceftriaxona base 1 g	-57	0,0111	
Extracto al 10% vs Ceftriaxona base 1 g	-20,246	0,0000351	

(Elaboración propia)

Estudios realizados por otros autores han revelado actividad antibacteriana contra *E. coli* concretamente extractos etanólicos de *Psidium guajava* (guayaba) y *Salvia officinalis* (salvia), evidenciando el extracto etanólico de *Psidium guajava* una CMI de 625 µg/mL y una Concentración Mínima Bactericida (CMB) de 625 µg/mL, mientras que *Salvia officinalis* demostró una CMI de 2500 µg/mL y una CMB de 2500 µg/mL (Hemeg et al., 2020).

Adicionalmente, Yassin et al. (2022) evaluaron la eficacia antimicrobiana del extracto etanólico de *Elettaria cardamomum* exhibiendo una actividad antibacteriana significativa frente a *E. coli*, obteniendo un diámetro de zona de inhibición de $22,48 \pm 0,36$ mm y una CMI de 0,500 mg/disco.

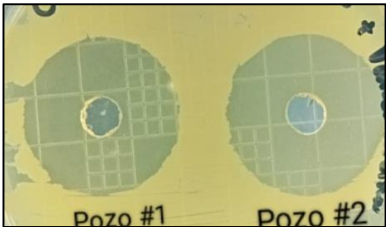
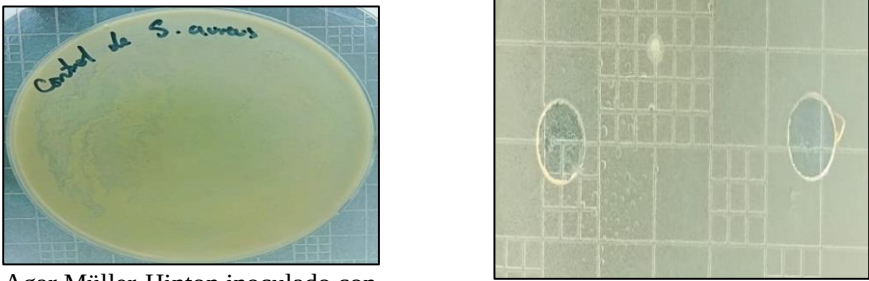
8.4.2 Bacterias Gram- Positivas

8.4.2.1 *Staphylococcus aureus*

Los resultados presentados en la Tabla 13 muestran que el extracto acuoso de la planta “Kıtove” *Nautilocalyx pallidus* (Sprague), tanto en su forma pura como en una concentración del 10%, exhibió actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*. El diámetro promedio de las zonas de inhibición producidas por el extracto puro fue de 12,5 mm, con una desviación estándar de 2,65 mm. Por el contrario, el extracto diluido con DMSO al 10% produjo un diámetro medio de la zona de inhibición de 6,75 mm, con una desviación estándar mucho menor de 0,5. Al realizar la prueba *t* para comparar estadísticamente las diferencias entre las zonas de inhibición del extracto puro y diluido al 10% frente a la vancomicina 500 mg, el análisis arrojó que el valor *p* (0,00776) del extracto puro vs la vancomicina 500 mg es inferior a 0,05, lo indica que el extracto puro presentó una mayor zona de inhibición que el extracto diluido al 10%; a la vez se observó que el valor *p* (0,00191) del extracto al 10% frente a la vancomicina 500 mg también es muy bajo, lo que indica que tanto el extracto puro como el diluido al 10% muestran una actividad antimicrobiana significativamente menor en comparación con el control positivo. La variación en los diámetros de las zonas de inhibición observadas se puede atribuir a varios factores, por ejemplo, que la concentración de compuestos antimicrobianos activos en el extracto diluido sea suficiente para inhibir el crecimiento bacteriano pero que, la distribución y concentración de estos compuestos puede variar, generando diferencias en los halos de inhibición; adicionalmente, la velocidad de difusión de los compuestos activos a través del agar puede diferir según su concentración y las

propiedades del medio, lo que provoca una mayor variabilidad en los diámetros de las zonas. Por último, pequeñas inconsistencias durante la preparación de los pozos, como variaciones en el volumen de extracto añadido o diferencias en la profundidad de los pozos, también podrían contribuir a las variaciones observadas en las zonas de inhibición.

Tabla 13. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para *Staphylococcus aureus* frente al extracto natural puro de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) como a su dilución al 10%.

<i>Staphylococcus aureus</i>	
Extracto puro	
Extracto al 10%	
Control positivo	 <p><i>S. aureus</i> + Vancomicina 500 mg</p>
Control negativo	 <p>Agar Müller-Hinton inoculado con <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Dimetilsulfóxido 98% (v/v) + <i>S. aureus</i></p>

(Elaboración propia)

Tabla 14. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a *Staphylococcus aureus* y controles

	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (7 mm)
Extracto puro	Pozo 1	14
	Pozo 2	15
	Pozo 3	12
	Pozo 4	9
	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (6 mm)
Extracto al 10%	Pozo1	6
	Pozo2	7
	Pozo 3	7
	Pozo 4	7
	Número de pozos	Diámetro del halo de inhibición – Diámetro del pozo
Control positivo Vancomicina 500 mg	Pozo 1	19
	Pozo 2	20

(Elaboración propia)

Tabla 15. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a *Staphylococcus aureus*.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS			
	Extracto puro	Extracto al 10%	Control positivo (Vancomicina 500 mg)
Media	12,5	6,75	19,5
Desviación estándar	2,65	0,5	0,71
Coefficiente de variación	21,1%	7,4%	3,62%
Resultados prueba <i>t</i>			
	Prueba <i>t</i>	Valor <i>p</i>	
Extracto puro vs Vancomicina 500 mg	-4,949	0,00776	
Extracto al 10% vs Vancomicina 500 mg	-22,807	0,00191	

(Elaboración propia)

En estudios anteriores se han explorado las propiedades antimicrobianas del ácido oleanólico (AO) y el ácido ursólico (AU), que son compuestos triterpenoides que se encuentran ampliamente en la naturaleza. Estos estudios, han demostrado que tanto el AO como el AU poseen propiedades antibacterianas significativas. Por ejemplo, la investigación de Jesús et al. (2015) ha demostrado que el OA y el UA exhiben fuertes efectos inhibidores contra una variedad de especies bacterianas,

incluida *S. aureus*, encontrando CMI para *S. aureus* sensible a la meticilina y resistente a la meticilina de 8 µg/mL y 64 µg/mL, respectivamente, lo que resalta la potencia de estos compuestos contra este patógeno.

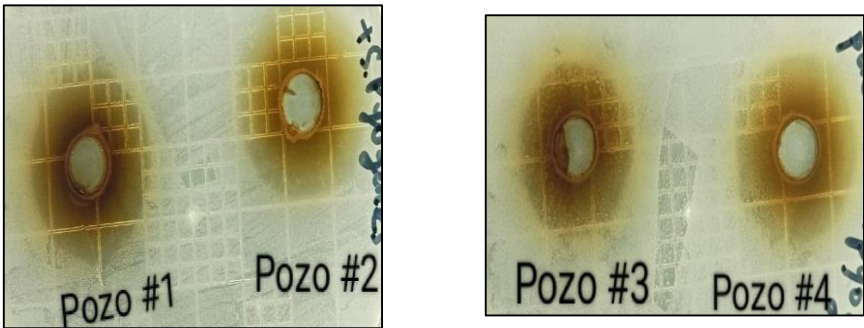
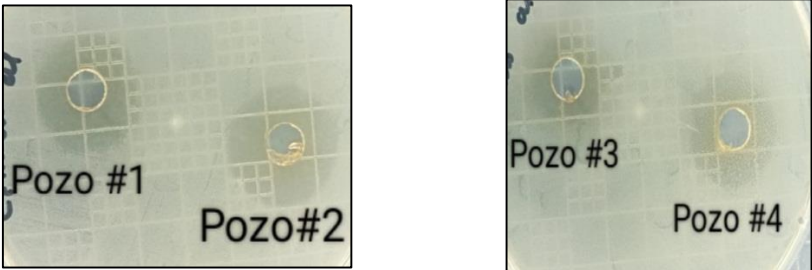
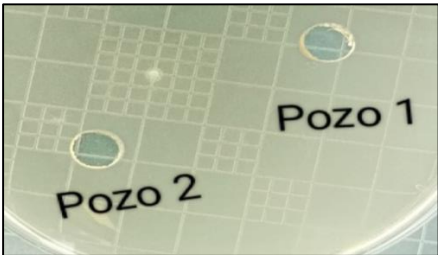
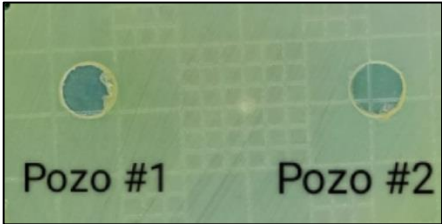
8.4.2.2 *Streptococcus pyogenes*

La eficacia antibacteriana del extracto puro y del extracto diluido con DMSO al 10% de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” contra *Streptococcus pyogenes* se describen en las tablas 16, 17 con sus respectivos análisis estadísticos ilustrados en la tabla 18. El extracto puro exhibió actividad antibacteriana con zonas de inhibición que oscilaban entre 14 mm y 17 mm. La zona de inhibición promedio fue de 15,5 mm con una desviación estándar de 1,29 mm estas variaciones atribuibles a los factores ya descritos. El extracto diluido con DMSO al 10% también exhibió efectos antibacterianos, con zonas de inhibición que oscilaban entre 9 mm y 14 mm. La zona de inhibición promedio para este extracto fue de 12 mm, pero la desviación estándar más alta de 2,16 mm sugiere una mayor variabilidad en sus efectos antibacterianos, lo que indica que la dilución condujo a resultados menos consistentes. En comparación con el control positivo, que mostró la actividad antibacteriana más fuerte con zonas de inhibición de 23 mm y 24 mm (promedio 23,5 mm, desviación estándar 0,71 mm), tanto los extractos puros como los diluidos exhibieron una eficacia menor. La pequeña desviación estándar en el control positivo implica una actividad antibacteriana altamente consistente, lo que resalta aún más la efectividad relativamente menor y más variable de los extractos de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”.

La prueba *t* que compara las zonas de inhibición del extracto puro, extracto al 10% contra el control positivo (Penicilina sódica G) muestran valores *p* muy por debajo de 0,001, lo que indica que las diferencias entre la actividad antimicrobiana de los extractos y el control positivo son estadísticamente significativas ya que los resultados negativos de la prueba *t* sugieren que el

control positivo (Penicilina sódica G) tiene una zona de inhibición media significativamente más alta en comparación con los extractos puros y diluido con DMSO al 10% de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) contra *Streptococcus pyogenes*. La mayor eficacia y consistencia observada en el extracto puro probablemente se pueda atribuir a la mayor concentración de compuestos activos en comparación con el extracto diluido al 10% con DMSO.

Tabla 16. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para *Streptococcus pyogenes* frente al extracto natural puro y dilución al 10% de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kitove”.

<i>Streptococcus pyogenes</i>	
Extracto puro	
Extracto al 10%	
Control positivo	
<i>Streptococcus pyogenes</i> + Penicilina G sódica	
Control negativo	 
Agar Müller-Hinton inoculado con <i>Streptococcus pyogenes</i> Dimetilsulfóxido 98% (v/v) + <i>Streptococcus pyogenes</i>	

(Elaboración propia)

Tabla 17. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a *Streptococcus pyogenes* y su respectivo control positivo.

<i>Streptococcus pyogenes</i>		
Extracto puro	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (7 mm)
	Pozo 1	17
	Pozo 2	15
	Pozo 3	16
	Pozo 4	14
Extracto al 10%	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (7 mm)
	Pozo1	13
	Pozo2	14
	Pozo 3	9
	Pozo 4	12
Control positivo Penicilina G sódica	Número de pozos	Diámetro del halo de inhibición – Diámetro del pozo
	Pozo 1	23
	Pozo 2	24

(Elaboración propia)

Tabla 18. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a *Streptococcus pyogenes*.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS			
	Extracto puro (mm)	Extracto al 10% (mm)	Control positivo Penicilina G sódica (mm)
Media	15,5	12,0	23,5
Desviación estándar	1,29	2,16	0,7071
Coefficiente de variación	8%	18%	3%
Resultados prueba T			
	Prueba t	Valor p	
Extracto puro vs. Penicilina G sódica	-9,80	0,000608	
Extracto diluido al 10% frente a control positivo	-9,661	0,000641	

(Elaboración propia)

Shuaib et al. (2021) determinaron que extractos de etanol y de metanol de la cáscara de limón no exhibieron zonas de inhibición contra *S. pyogenes*; por el contrario, el jugo de limón mostró una actividad antimicrobiana significativa con una zona de inhibición de 20 mm contra *S. pyogenes*. A su vez Marasini et al. (2015) evaluaron la actividad antibacteriana de extractos etanólicos de varias plantas medicinales de uso tradicional contra una variedad de bacterias patógenas humanas, incluida *Streptococcus pyogenes*; entre las plantas analizadas, los extractos de *Curculigo*

orchioides, *Cinnamomum camphora* y *Curcuma longa* exhibieron la mayor actividad antibacteriana contra *S. pyogenes*, con CMI de 49, 49 y 195 µg/mL, respectivamente.

8.4.3 Levadura

8.4.3.1 *Candida albicans*

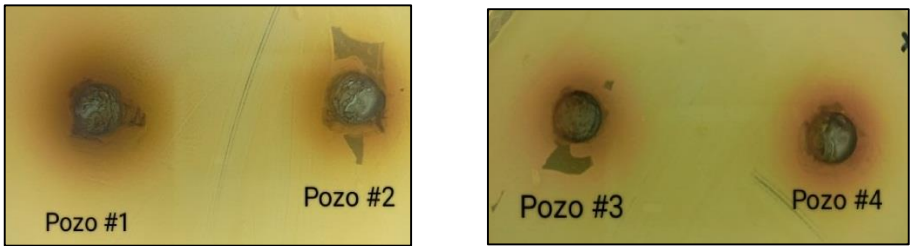
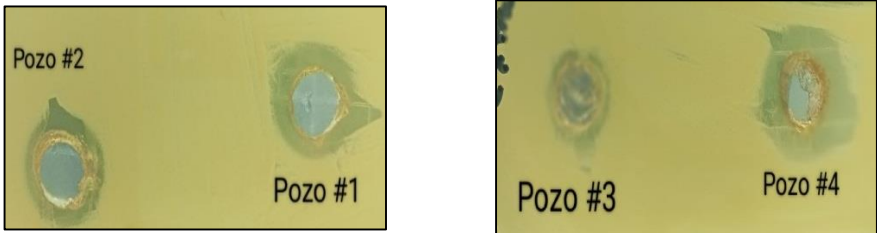
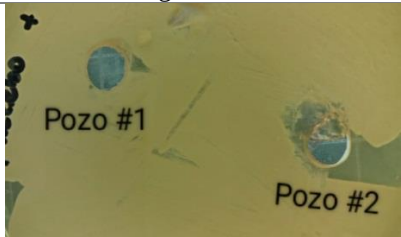
Los resultados de la evaluación de actividad anti-levadura del extracto acuoso y diluido de *Nautilocalix pallidus* (Sprague) “Kıtove” frente a *Candida albicans* se muestran en la tabla 19, mientras que la descripción de las zonas de inhibición y su análisis estadístico se ilustran en las tablas 20 y 21. El extracto puro de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” no presentó actividad antifúngica contra *C. albicans* ya que no se evidenciaron zonas de inhibición en todos los pozos. Sin embargo, el extracto diluido al 10% con DMSO mostró cierta actividad, con zonas de inhibición promedio de 7,5 mm con una desviación estándar de 3,0. Esta variación en las zonas de inhibición se puede atribuir a los factores descritos anteriormente. Esta variabilidad sugiere, además, que los efectos antifúngicos fueron inconsistentes, posiblemente debido a la influencia del DMSO más que al extracto en sí. Estos resultados son comparables con la actividad antifúngica del DMSO reportada por Hazen (2013) en la que describe que el DMSO a concentraciones de 0,5% y 1% tuvo efectos inhibitorios frente al crecimiento de especies de *Candida* spp.; en particular, el 71% de los aislados de esta levadura demostraron un crecimiento reducido cuando se expusieron a 1% de DMSO y el 64% mostraron un crecimiento reducido con 0,5% de DMSO. Randhawa (2006) encontró que el DMSO, en particular a concentraciones del 2% o superiores, ralentizaba el crecimiento de *Candida* spp. Mientras que las concentraciones de DMSO del 1% o inferiores tuvieron un impacto menos significativo en el crecimiento de *Candida* spp.

A su vez, el control positivo mostró una zona de inhibición media de 10,5 mm, pero con una mayor variabilidad (desviación estándar de 14,85 mm) debido a que un pozo no mostró inhibición; esto

podría explicarse debido a que se ha demostrado resistencia al fluconazol por parte de *Candida* spp. (Berkow y Lockhart, 2017).

La prueba t que compara las zonas de inhibición del extracto al 10% frente al fluconazol arrojó un valor p de 0,8245, dado que el valor p es mayor que 0,05, lo que indica que la diferencia en la actividad antifúngica entre el extracto al 10% y el control positivo no es estadísticamente significativa, lo que sugiere que el extracto al 10%, influenciado por DMSO, exhibió una actividad antifúngica similar al control positivo (Hazen, 2013).

Tabla 19. Resultados de las pruebas de difusión en pozo para *Candida albicans* frente al extracto natural puro de *Nautilocalyx pallidus*(Sprague) “Ktove” como a su dilución al 10%.

<i>Candida albicans</i>	
Extracto puro	
Extracto al 10%	
Control positivo	
<i>Candida albicans</i> +Fluconazol 500 mg	
Control negativo	<div>  <p>Agar Sabouraud + <i>C. albicans</i></p> </div> <div>  <p>Dimetilsulfóxido 98% (v/v) + <i>C. albicans</i></p> </div>

(Elaboración propia)

Tabla 20. Diámetro de las zonas de inhibición producidas por los extractos puros y diluidos frente a *Candida albicans* y su respectivo control positivo.

<i>Candida albicans</i>		
Extracto puro	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (7 mm)
	Pozo 1	0
	Pozo 2	0
	Pozo 3	0
	Pozo 4	0
Extracto al 10%	Número de pozos	Diámetro del halo – Diámetro del pozo (7 mm)
	Pozo1	10
	Pozo2	6
	Pozo 3	4
	Pozo 4	10
Control positivo (Fluconazol 500 mg)	Número de pozos	Diámetro del halo de inhibición – Diámetro del pozo
	Pozo 1	21
	Pozo 2	0

(Elaboración propia)

Tabla 21. Análisis estadístico de las zonas de inhibición producidas por el extractos puro y diluido frente a *Candida albicans*.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS			
	Extracto puro (mm)	Extracto al 10% (mm)	Control positivo (Fluconazol 500 mg) (mm)
Media	0	7,5	10,5
Desviación estándar	0	3,0	14,849
Coefficiente de variación	0	40%	141%
Resultados prueba T			
	Prueba t	Valor p	
Extracto puro vs Fluconazol 500 mg	-1	0,5	
Extracto diluido vs Fluconazol 500 mg	-0,282	0,8245	

(Elaboración propia)

Se han realizado investigaciones para evaluar la eficacia antifúngica de varios extractos naturales contra *Candida albicans*. Noushad et al. (2018) evaluaron las actividades antimicrobianas de diferentes extractos naturales, como el extracto de hoja de guayaba, el extracto de aloe vera, el extracto de hoja de papaya y el extracto de anacardo, revelando que el extracto de anacardo

demonstró la mayor actividad significativa contra *Candida albicans*, con una zona de inhibición media de 12,8 mm. También se han evaluado los efectos antimicóticos de los extractos etanólicos del propóleo, demostrando actividad antimicótica considerable con valores de CMI que oscilaron entre 32 y 1024 µg/mL, dependiendo de la especie de *Candida* y el tipo de propóleo utilizado (Bouchelaghem, 2022).

Latti et al. (2019) evaluaron la eficacia de varios extractos de especias, entre ellos: canela, pimienta negra, comino y laurel, contra *Candida albicans*. Los resultados demostraron que todos los extractos de especias exhibieron actividad antifúngica y que el extracto de canela mostró la zona de inhibición más alta de 49,3 mm y CMI más baja de menos de 0,05 mg/ml.

8.5 Comparación de las zonas de inhibición del extracto de *Nautilocalyx pallidus* “Kıtove”

Al analizar los datos representados en las Figuras 7 y 8 sobre la actividad antimicrobiana del extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”, se pueden destacar varios hallazgos importantes. En primer lugar, se encontró que el extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” presentó mayor efectividad antibacteriana contra cepas Gram-positivas, como *Streptococcus pyogenes*, que fue el microorganismo con mayor susceptibilidad tanto para el extracto puro como para el extracto diluido, mostrando zonas de inhibición de 17 mm y 14 mm, respectivamente. A su vez, *Staphylococcus aureus* presentó zonas de inhibición tanto para el extracto puro (14 mm) como para su forma diluida (7 mm). Estos resultados resaltan la sensibilidad de estas bacterias a los compuestos bioactivos presentes en el extracto acuoso de hojas y tallo de *N. pallidus* (Sprague) “Kıtove”.

Sin embargo, la actividad antibacteriana del extracto de *N. pallidus* (Sprague) se redujo notablemente contra bacterias Gram-negativas, como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, ya que no se observaron zonas de inhibición, lo que indicaría la baja susceptibilidad de estas cepas al extracto puro. No obstante, en su forma diluida con DMSO al 98% (v/v), estas cepas bacterianas mostraron una leve susceptibilidad, con zonas de inhibición entre 9 mm y 12 mm. Finalmente, al analizar la actividad antifúngica del extracto de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”, se observó que, en su forma pura, no tenía capacidad para inhibir el crecimiento de *Candida albicans*; sin embargo, en su forma diluida, se observó una leve susceptibilidad con zonas que oscilaron entre 4 mm y 10 mm.

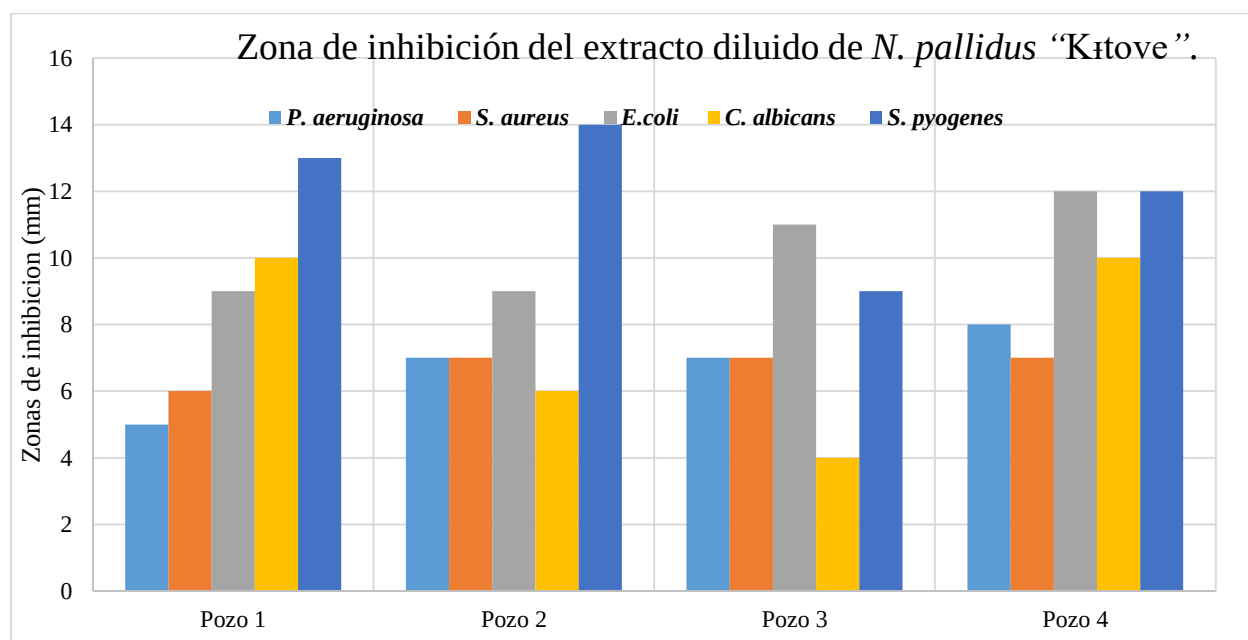


Figura 7. Histograma de las zonas de inhibición del extracto diluido al 10% de *Nautilocalyx pallidus* “Kıtove” frente a cepas de colección ATCC (Elaboración propia).

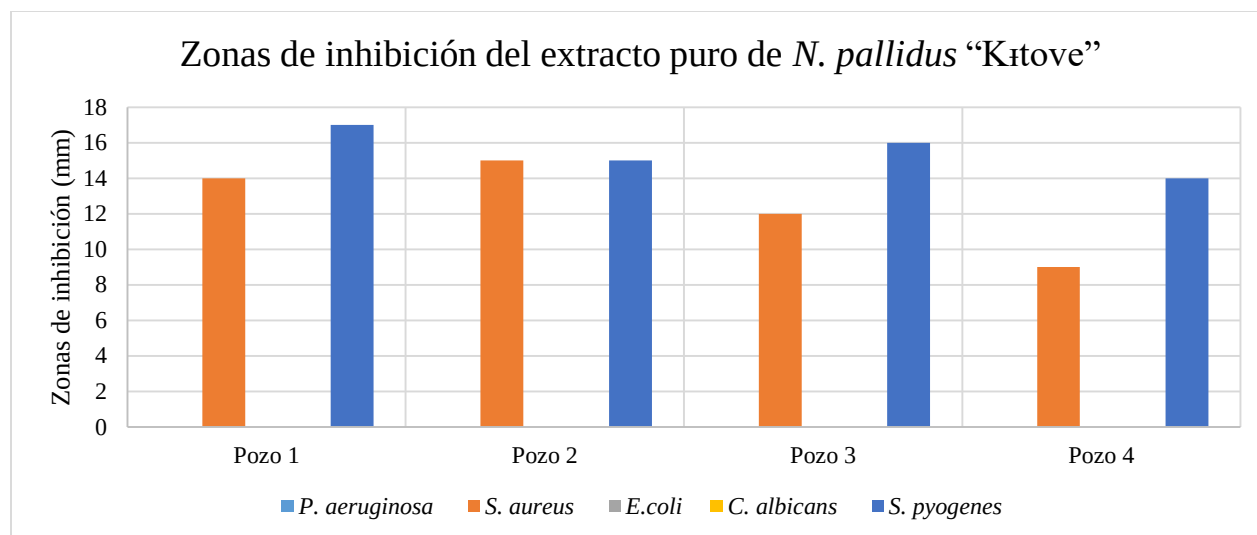


Figura 8. Histograma de las zonas de inhibición del extracto puro de *Nautilocalyx pallidus* “Kıtove” frente a cepas de colección ATCC (Elaboración propia).

La clara diferencia en las zonas de inhibición entre los extractos diluidos y puros indica que la concentración es un factor crucial para determinar la eficacia del extracto. Si bien las propiedades antibacterianas de la planta son evidentes, en particular contra *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*, se necesita una mayor investigación sobre su potencial antimicótico y su modo de acción. Además, los hallazgos validan el uso medicinal tradicional de *N. pallidus* por parte de las comunidades indígenas y resaltan su potencial como fuente de nuevos agentes antimicrobianos en la lucha contra patógenos resistentes a los antibióticos.

9. CONCLUSIONES

- Se proporcionó una descripción en campo de las características morfológicas de las distintas partes de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” incluidos el tallo, las hojas y las flores.
- El análisis fitoquímico del extracto de hojas y tallos de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” reveló un perfil fitoquímico diverso, donde se apreció una rica mezcla de compuestos bioactivos responsables de los efectos antimicrobianos y terapéuticos de la planta.
- El extracto natural de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” demostró efectos antimicrobianos contra las bacterias Gram positivas analizadas como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Esta actividad probablemente se deba a la presencia de polifenoles, flavonoides, triterpenos y esteroides. Las variaciones en la eficacia antibacteriana de los extractos obtenidas en este estudio, pueden explicarse por las diferencias en la concentración de los componentes fitoquímicos detectados y sus interacciones con otros componentes del tejido vegetal.
- El extracto natural de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” representa un recurso valioso para la investigación y el desarrollo de productos fitoterapéuticos de origen natural que puedan contribuir al bienestar de salud humana.
- Primer informe sobre el perfil fitoquímico y la actividad antimicrobiana de esta especie de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove”, planta medicinal utilizada en las comunidades indígenas del Amazonas colombiano para tratar las mordeduras de serpientes venenosas como *Bothrops atrox*, *Lachesis muta* y *Corallus caninus*.

10. RECOMENDACIONES

Realizar un análisis fitoquímico más detallado de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” para identificar y cuantificar los compuestos bioactivos específicos responsables de la actividad antimicrobiana observada. Se podrían emplear técnicas avanzadas como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o la espectrometría de masas (MS) para aislar y caracterizar estos compuestos.

Para validar los hallazgos *in vitro*, se recomienda realizar estudios *in vivo* para evaluar la eficacia y seguridad de los extractos de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” en modelos animales. Esto proporcionaría información sobre la farmacodinámica, la farmacocinética y la posible toxicidad de los extractos de plantas.

Podría resultar beneficioso investigar los posibles efectos sinérgicos de los extractos de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Kıtove” con los antibióticos convencionales. Este enfoque podría revelar si la combinación de los extractos de la planta con agentes antimicrobianos estándar mejora su eficacia general, reduciendo potencialmente las dosis necesarias y minimizando los efectos secundarios.

11. REFERENCIAS

- Abubakar, A.R., & Haque, M. (2020). «Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes». *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences* 12(1):1-10. doi: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2019). Farmacopeia Brasileira (6th ed., Vol. 1). Brasília, Brazil: Anvisa. Available from <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>
- Alawode, T.T., Lajide, L., Olaleye, M. & Owolabi, B. (2021). Stigmasterol and β -sitosterol: Antimicrobial compounds in the leaves of *Icacina trichantha* identified by GC–MS. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 10(80), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s43088-021-00170-3>
- Al-Khayri, J.M., Rashmi, R., Toppo, V., Chole, P.B., Banadka, A., Sudheer, W.N., Nagella, P., Shehata, W.F., Al-Mssallem, M.Q., Alessa, F.M., Almaghasla, M.I., & Rezk, A.A. (2023). «Plant Secondary Metabolites: The Weapons for Biotic Stress Management». *Metabolites* 13(6):716. doi: 10.3390/metabo13060716.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D., & Lightfoot, D. (2017). «Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts». *Plants* 6(4):42. doi: 10.3390/plants6040042.
- Álvarez-Martínez, F. J., Barrajon-Catalan, E., Herranz-Lopez, M., & Micol, V. (2021). Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*, 90, 153626. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153626>

- Ansel, H.C., Norred, W.P., & Rothi, I.L. (1969). Antimicrobial activity of dimethyl sulfoxide against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus megaterium*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58(7), 836-839. <https://doi.org/10.1002/jps.2600580712>
- Atef, N.M., Shanab, S.M., Negm, S.I., & Abbas, Y.A. (2019). «Evaluation of Antimicrobial Activity of Some Plant Extracts against Antibiotic Susceptible and Resistant Bacterial Strains Causing Wound Infection». *Bulletin of the National Research Centre* 43(1):144. doi: 10.1186/s42269-019-0184-9.
- Bahrami, S. A., & Bakhtiari, N. (2016). Ursolic acid regulates the aging process through enhancing the level of metabolic sensor proteins. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.04.047>
- Benke, D., Barberis, A., Kopp, S., Altmann, K.-H., Schubiger, M., Vogt, K. E., Rudolph, U., & Möhler, H. (2009). GABAA receptors as in vivo substrate for the anxiolytic action of valerenic acid, a major constituent of valerian root extracts. *Neuropharmacology*, 56(1), 174-181. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.06.013>
- Berkow, E.L., & Lockhart, S.R. (2017). Fluconazole resistance in *Candida* species: A current perspective. *Infection and Drug Resistance*, 10, 237-245. <https://doi.org/10.2147/IDR.S118892>
- Bittner Fialová, S., Rendeková, K., Mučaji, P., Nagy, M., & Slobodníková, L. (2021). «Antibacterial Activity of Medicinal Plants and Their Constituents in the Context of Skin and Wound Infections, Considering European Legislation and Folk Medicine—A Review». *International Journal of Molecular Sciences* 22(19):10746. doi: 10.3390/ijms221910746.

- Bitwell, C., Singh, S.I., Chimuka, L., & Maseka, K.K. (2023). «A Review of Modern and Conventional Extraction Techniques and Their Applications for Extracting Phytochemicals from Plants». *Scientific African* 19:e01585. doi: 10.1016/j.sciaf.2023.e01585.
- Bolliger, H. R., Brenner, M., Gänshirt, H., Mangold, H. K., Seiler, H., Stahl, E., & Waldi, D. (1965). *Thin-layer chromatography: A laboratory handbook* (E. Stahl, Ed.). Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-01031-0>
- Bouchelaghem, S. (2022). «Propolis Characterization and Antimicrobial Activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A Review». *Saudi Journal of Biological Sciences* 29(4):1936-46. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.11.063.
- Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2024). «Antibacterial Activity of Medicinal Plants and Their Role in Wound Healing». *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 10(1):68. doi: 10.1186/s43094-024-00634-0.
- Brouwer, S., Rivera-Hernandez, T., Curren, B.F., Harbison-Price, N., De Oliveira, D.M.P., Jespersen, M.G., Davies, M.R., & Walker, M.J. (2023). «Pathogenesis, Epidemiology and Control of Group A *Streptococcus* Infection». *Nature Reviews Microbiology* 21(7):431-47. doi: 10.1038/s41579-023-00865-7.
- Carezzano, M.E., Oliva, M.M., Foresto, E., Bogino, P., & Giordano, W. (2023). «Natural Products vs Bacteria: Laboratory Exercises to Determine the Antimicrobial Activity of Plant Extracts». *Journal of Biological Education* 1-16. doi: 10.1080/00219266.2023.2250351.
- Centers for Disease Control and Prevention (U.S.). (2019). *Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019*. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.). doi: 10.15620/cdc:82532.

- Chali, B.U., Hasho, A., & Koricha, N.B. (2021). «Preference and Practice of Traditional Medicine and Associated Factors in Jimma Town, Southwest Ethiopia» editado por Y. Mukudai. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2021:1-7. doi: 10.1155/2021/9962892.
- Congreso de Colombia. (2007). Ley 1164 de 2007: *Por la cual se dictan disposiciones en materia del Talento Humano en Salud*. Diario Oficial No. 46.772, del 3 de octubre de 2007. https://www.minsalud.gov.co/normatividad_nuevo/ley%201164%20de%202007.pdf
- Coskun, O. (2016). «Separation Techniques: Chromatography». *Northern Clinics of Istanbul*. doi: 10.14744/nci.2016.32757.
- Cronan, J.E., & Thomas, J. (2009). «Chapter 17 Bacterial Fatty Acid Synthesis and Its Relationships with Polyketide Synthetic Pathways». Pp. 395-433 en *Methods in Enzymology*. Vol. 459. Elsevier.
- Deepika, M. S., Thangam, R., Sakthidhasan, P., Arun, S., Sivasubramanian, S., & Thirumurugan, R. (2018). Combined effect of a natural flavonoid rutin from *Citrus sinensis* and conventional antibiotic gentamicin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *Food Control*, 90, 282-294. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.044>
- Departamento Administrativo de la Función Pública. (2013). Decreto Número 1973 de 2013: *Por el cual se crea la Subcomisión de Salud de la Mesa Permanente de Concertación con los Pueblos y Organizaciones Indígenas*. Diario Oficial No. 48.910, del 11 de septiembre de 2013. https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma_pdf.php?i=75988
- Do Nascimento, P., Lemos, T., Bizerra, A., Arriaga, A., Ferreira, D., Santiago, G., Braz-Filho, R., & Costa, J. (2014). «Antibacterial and Antioxidant Activities of Ursolic Acid and Derivatives». *Molecules* 19(1):1317-27. doi: 10.3390/molecules19011317.

- Feng, X.-M., & Su, X.-L. (2019). «*Anticancer Effect of Ursolic Acid via Mitochondria-dependent Pathways (Review)*». *Oncology Letters*. doi: 10.3892/ol.2019.10171.
- Fiagama, L. A., Fiagama, E., & Trujillo, W. (2012). *La medicina tradicional en pueblos indígenas de la Amazonia colombiana*. *Agroecología: Ciencia y Tecnología*, 1(1), 54-58. Servicio Nacional de Aprendizaje - SENA.
- Gärtner, H., & Schweingruber, F.H. (2013). *Microscopic Preparation Techniques for Plant Stem Analysis*. Originalausg. Remagen-Oberwinter: Kessel.
- Gebrewbet, G.H., & Hndeya, A.G. (2023). «Phytochemical Screening and Antibacterial Activity Studies on the Crude Leaf Extract of *Solanum Sisymbriifolium*: Traditional Ethiopian Medicinal Plant» editado por J. Wu. *Advanced Gut & Microbiome Research* 2023:1-7. doi: 10.1155/2023/5525606.
- Gesneriad Reference Web. (sin fecha). *Nautilocalyx*. Gesneriad Reference Web. Recuperado el 27 de agosto de 2024 de <https://gesneriads.info/gesneriad-genera/nautilocalyx/>
- Ghafoori, H., Sariri, R., Naghavi, M.R., Aryakia, E., Dolatyari, A., Shahzadeh Fazeli, S.A., Ramazani, H., & Farahmand, Z. (2013). «Analysis of artemisinin isolated from *Artemisia Annuua* L. BY TLC AND HPLC». *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 36(9):1198-1206. doi: 10.1080/10826076.2012.685916.
- Gullón, B., Lú-Chau, T.A., Moreira, M.T., Lema, J.M., & Eibes, G. (2017). *Rutina: una revisión sobre métodos de extracción, identificación y purificación, actividades biológicas y enfoques para mejorar su biodisponibilidad*. *Trends in Food Science & Technology*, 67 , 220-235. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.008>
- Hassan, A.S. (2014). The antibacterial activity of dimethyl sulfoxide (DMSO) with and without some ligand complexes of the transitional metal ions of ethyl coumarin against bacteria

- isolated from burn and wound infections. *Journal of Natural Sciences Research*, 4(19), 106-111. <https://doi.org/10.7176/JNSR>
- Haque, M. N., Hannan, M. A., Dash, R., Choi, S. M., & Moon, I. S. (2021). The potential LXR β agonist stigmasterol protects against hypoxia/reoxygenation injury by modulating mitophagy in primary hippocampal neurons. *Phytomedicine*, 81, 153415. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153415>
- Hazen, K.C. (2013). Influence of DMSO on antifungal activity during susceptibility testing *in vitro*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 75(1), 60-63. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.09.002>
- He, Mengying, Ting Wu, Siyi Pan, y Xiaoyun Xu (2014). «Antimicrobial Mechanism of Flavonoids against *Escherichia coli* ATCC 25922 by Model Membrane Study». *Applied Surface Science* 305:515-21. doi: 10.1016/j.apsusc.2014.03.125.
- International Gesneriad Society. (n.d.). *Nautilocalyx*. Gesneriad Reference Web. Retrieved August 13, 2024, from <https://gesneriads.info/gesneriad-genera/nautilocalyx/>
- Jesus, J.A., Lago, J.H., Laurenti, M.D., Yamamoto, E.S., & Passero, L.F. (2015). Antimicrobial activity of oleanolic and ursolic acids: an update. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:620472. doi: 10.1155/2015/620472. Epub 2015 Feb 22. PMID: 25793002; PMCID: PMC4352472.
- Kaczor-Kamińska, M., Kaszuba, K., Bilska-Wilkosz, A., Iciek, M., Wróbel, M., & Kamiński, K. (2024). «Dimethyl Sulfoxide (DMSO) as a Potential Source of Interference in Research Related to Sulfur Metabolism—A Preliminary Study». *Antioxidants* 13(5):582. doi: 10.3390/antiox13050582.

- Khatkar, S., Lather, A., & Khatkar, A. (2021). «Chapter 3.1.7 - Valerenic and acetoxvalerenic acid». Pp. 117-25 en *Naturally Occurring Chemicals Against Alzheimer's Disease*, editado por T. Belwal, S. M. Nabavi, S. F. Nabavi, A. R. Dehpour, y S. Shirooie. Academic Press.
- Kashyap, D., Tuli, H. S., & Sharma, A. K. (2016). Ursolic acid (UA): A metabolite with promising therapeutic potential. *Life Sciences*, 146, 201-213. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.01.017>
- Khom, S., Baburin, I., Timin, E., Hohaus, A., Trauner, G., Kopp, B., & Hering, S. (2007). Valerenic acid potentiates and inhibits GABAA receptors: Molecular mechanism and subunit specificity. *Neuropharmacology*, 53(2), 178-187. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.04.018>
- Khom, S., Strommer, B., Ramharter, J., Schwarz, T., Schwarzer, C., Erker, T., Ecker, G. F., Mulzer, J., & Hering, S. (2010). Valerenic acid derivatives as novel subunit-selective GABAA receptor ligands: In vitro and in vivo characterization. *British Journal of Pharmacology*, 161(1), 65–78. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00865.x>
- Kovanda, L., Zhang, W., Wei, X., Luo, J., Wu, X., Atwill, E. R., Vaessen, S., Li, X., & Liu, Y. (2019). «In Vitro Antimicrobial Activities of Organic Acids and Their Derivatives on Several Species of Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria». *Molecules* 24(20):3770. doi: 10.3390/molecules24203770.
- Latti, P., Ramanarayanan, S., & Prashant, G.M. (2019). «Antifungal Efficacy of Spice Extracts against *Candida albicans*: An in Vitro Study». *Indian Journal of Community Medicine* 44(5):77. doi: 10.4103/ijcm.IJCM_140_19.

- Lestari, S., Kurnia, D., Mayanti, T. y Heliawati, L. (2024). Actividades antimicrobianas del estigmasterol de *Piper crocatum* in vitro e in silico. *Journal of Chemistry*, ID de artículo 2935516, 11 páginas. <https://doi.org/10.1155/2024/2935516>
- Liang, Q., Yang, J., He, J., Chen, X., Zhang, H., Jia, M., Liu, K., Jia, C., Pan, Y., & Wei, J. (2020). Stigmasterol alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by attenuating inflammation and improving antioxidant defenses in rats. *Bioscience Reports*, 40(4), Article BSR20192133. <https://doi.org/10.1042/BSR20192133>
- Liobikas, J., Majiene, D., Trumbeckaite, S., Kursvietiene, L., Masteikova, R., Kopustinskiene, D. M., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2011). Uncoupling and antioxidant effects of ursolic acid in isolated rat heart mitochondria. *Journal of Natural Products*, 74(7), 1640–1644. <https://doi.org/10.1021/np200060p>
- Liu, X., Zheng, L., Liu, M., & Mo, Y. (2018). Protective effects of rutin on lipopolysaccharide-induced heart injury in mice. *Journal of Toxicological Sciences*, 43(5), 329-337. <https://doi.org/10.2131/jts.43.329>
- Lone, A. S., Ravindran, K. C., & Jeandet, P. (2024). Evaluation of antimicrobial activity and bioactive compound analysis of *Verbascum thapsus* L. A folklore medicinal plant. *Phytomedicine Plus*, 4, Article 100560. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2024.100560>
- Lopez-Rodriguez, AB, & Yañez, A. (2020). Ácido valerénico. En M. Saad (Ed.), *Fitoquímicos en la salud humana* (pp. 545-560). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819212-2.00045-1s>
- Liu, D. (Ed.). (2018). *Handbook of Foodborne Diseases*. Boca Raton: CRC Press.
- Luo, J., Hu, Y.-L., & Wang, H. (2017). «Ursolic Acid Inhibits Breast Cancer Growth by Inhibiting Proliferation, Inducing Autophagy and Apoptosis, and Suppressing Inflammatory

- Responses via the PI3K/AKT and NF- κ B Signaling Pathways *in vitro*». *Experimental and Therapeutic Medicine* 14(4):3623-31. doi: 10.3892/etm.2017.4965.
- Mäder, P., Boho, D., Rzanny, M., Seeland, M., Wittich, H.C., Deggelmann, A., & Wäldchen, J. (2021). «The Flora Incognita App – Interactive Plant Species Identification». *Methods in Ecology and Evolution* 12(7):1335-42. doi: 10.1111/2041-210X.13611.
- Malavasi, U.C., & Malavasi, M.M. (2001). «Leaf Characteristics and Chlorophyll Concentration of *Schyzolobium parahybum* and *Hymenaea stilbocarpa* Seedlings Grown in Different Light Regimes». *Tree Physiology* 21(10):701-3. doi: 10.1093/treephys/21.10.701.
- Manjula, K., Rajendran, K., Eevera, T., & Kumaran, S. (2013). «Quantitative estimation of lupeol and stigmasterol in *costus igneus* by high-performance thin-layer chromatography». *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 36(2):197-212. doi: 10.1080/10826076.2011.647196.
- Manousi, N., Sarakatsianos, I., & Samanidou, V. (2019). «Extraction Techniques of Phenolic Compounds and Other Bioactive Compounds From Medicinal and Aromatic Plants». Pp. 283-314 en *Engineering Tools in the Beverage Industry*. Elsevier.
- Marasini, B.P., Baral, P., Aryal, P., Ghimire, K.R., Neupane, S., Dahal, N., Singh, A., Ghimire, L., & Shrestha, K. (2015). «Evaluation of Antibacterial Activity of Some Traditionally Used Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria». *BioMed Research International* 2015:1-6. doi: 10.1155/2015/265425.
- Martins, N., Ferreira, I.C.F.R., Barros, L., Silva, S., & Henriques, M. (2014). «Candidiasis: Predisposing Factors, Prevention, Diagnosis and Alternative Treatment». *Mycopathologia* 177(5-6):223-40. doi: 10.1007/s11046-014-9749-1.

- Masyita, A., Sari, R.M., Astuti, A.D., Yasir, B., Rumata, N.R., Emran, T.B., Nainu, F., & Simal-Gandara, J. (2022). «Terpenes and Terpenoids as Main Bioactive Compounds of Essential Oils, Their Roles in Human Health and Potential Application as Natural Food Preservatives». *Food Chemistry: X* 13:100217. doi: 10.1016/j.fochx.2022.100217.
- Mickymaray. (2019). «Efficacy and Mechanism of Traditional Medicinal Plants and Bioactive Compounds against Clinically Important Pathogens». *Antibiotics* 8(4):257. doi: 10.3390/antibiotics8040257.
- Ministerio de Salud. (1998). *Resolución Número 2927 de 1998: Por la cual se reglamenta la práctica de terapias alternativas en la prestación de servicios de salud, se establecen normas técnicas, científicas y administrativas y se dictan otras disposiciones*. Diario Oficial No. 43.358, del 10 de agosto de 1998. https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/RESOLUCI%C3%93N%202927%20DE%201998.pdf
- Ministerio de Salud. (1998). *Resolución Número 3131 de 1998: Por la cual se adopta el Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos con base en Recursos Naturales Vigentes*. Diario Oficial No. 43.367, del 20 de agosto de 1998. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/RESOLUCION-3131-de-1998.pdf>
- Ministerio de la Protección Social. (2004). *Decreto Número 2266 de 2004: Por el cual se reglamentan los regímenes de registros sanitarios, y de vigilancia y control sanitario y publicidad de los productos fitoterapéuticos*. Diario Oficial No. 45.613, del 15 de julio de 2004.

https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/DECRETO%202266%20DE%202004.PDF

Ministerio de la Protección Social. (2004). *Decreto Número 3553 de 2004: Por el cual se modifica el Decreto 2266 de 2004 y se dictan otras disposiciones*. Diario Oficial No. 45.693, del 28 de octubre de 2004.

https://minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/DECRETO%203553%20DE%202004.pdf

Ministerio de la Protección Social. (2005). *Resolución Número 5107 de 2005: Por la cual se adopta el Instrumento de Verificación de Cumplimiento de Condiciones Sanitarias para los Laboratorios que elaboren Productos Fitoterapéuticos*. Diario Oficial No. 46.154, del 17 de enero de 2006.

https://minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/RESOLUCI%C3%93N%205107%20DE%202005.pdf

Ministerio de la Protección Social. (2008). *Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales*. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SA/vademecum-colombiano-plantas-medicinales.pdf#search=vademecum>

Ministerio de Salud y Protección Social. (2014). *Resolución Número 2003 de 2014: Por la cual se definen los procedimientos y condiciones de inscripción de los Prestadores de Servicios de Salud y de habilitación de servicios de salud*. Diario Oficial No. 49.159, del 28 de mayo de 2014.

https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%202003%20de%202014.pdf

Ministerio de Salud y Protección Social. (2018). *Lineamientos técnicos para la articulación de las medicinas y las terapias alternativas y complementarias, en el marco del Sistema General*

- de Seguridad Social en Salud*. Bogotá, Colombia: Ministerio de Salud y Protección Social.
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/lineamientos-mtac-sgsss.pdf>
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2018). *Decreto Número 1156 de 2018: Por el cual se reglamenta el régimen de registro sanitario de productos fitoterapéuticos y se dictan otras disposiciones*. Diario Oficial No. 50.606, del 6 de julio de 2018.
https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma_pdf.php?i=87281
- Mohammadi, Z., Pishkar, L., Eftekhari, Z., Barzin, G., & Babaeekhou, L. (2023). «Evaluation of the Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Cultivated *Valeriana Officinalis*»: *Plant Science Today*. doi: 10.14719/pst.2593.
- Moyroud, E., & Glover, B.J. (2017). «The Evolution of Diverse Floral Morphologies». *Current Biology* 27(17):R941-51. doi: 10.1016/j.cub.2017.06.053.
- Murphy, K., Kubin, Z. J., Shepherd, J. N., & Ettinger, R. H. (2010). *Valeriana officinalis* root extracts have potent anxiolytic effects in laboratory rats. *Phytomedicine*, 17(8-9), 674-678.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.10.020>
- Naumoska, K., Simonovska, B., Albreht, A., & Vovk, I. (2013). «TLC and TLC-MS Screening of Ursolic, Oleanolic and Betulinic Acids in Plant Extracts». *Journal of Planar Chromatography – Modern TLC* 26(2):125-31. doi: 10.1556/JPC.26.2013.2.4.
- Nortjie, E., Basitere, M., Moyo, D., & Nyamukamba, P. (2022). «Extraction Methods, Quantitative and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants for Antimicrobial Textiles: A Review». *Plants* 11(15):2011. doi: 10.3390/plants11152011.

- Noushad, M., Balan, B., Basheer, S., Usman, S.B., & Askar, M.K. (2018). «Antimicrobial Efficacy of Different Natural Extracts against Persistent Root Canal Pathogens: An In Vitro Study». *Contemporary Clinical Dentistry* 9(2):177. doi: 10.4103/ccd.ccd_754_17.
- Organización Mundial de la Salud. (2013). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- Organización Mundial de la Salud - OMS (2024). La OMS pone al día la lista de bacterias farmacorresistentes más peligrosas para la salud humana. Disponible en:
<https://www.who.int/es/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health>
- Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction, and pre-phytochemical screening strategies for herbal drugs. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 115-119. https://www.phytojournal.com/vol2Issue5/Issue_jan_2014/11.pdf
- Presidencia de la República de Colombia. (1997). Decreto 2753 de 1997: Por el cual se dictan las normas para el funcionamiento de los Prestadores de Servicios de Salud en el Sistema General de Seguridad Social en Salud. Diario Oficial No. 43.367, del 20 de diciembre de 1997.
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Decreto-2753-de-1997.pdf>
- Pimentel, R.B. de Q., Costa, C.A. da, Albuquerque, P.M., & Duvoisin, S., Jr. (2013). Actividad antimicrobiana e identificación de rutinas en la miel producida por la abeja sin aguijón *Melipona compressipes manausensis* y miel comercial. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13 , 151. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-151>

- Popova, M., & Bankova, V. (2023). «Contemporary Methods for the Extraction and Isolation of Natural Products». *BMC Chemistry* 17(1):68, s13065-023-00960-z. doi: 10.1186/s13065-023-00960-z.
- Prusty, J. S. (2022). «2 - Antifungal discovery from plant sources». Pp. 15-33 en *Phytoconstituents and Antifungals, Developments in Applied Microbiology and Biotechnology*, editado por A. Kumar. Academic Press.
- Quinlan, K. (2000). *Identifying Plants by Family and Genus: Wildflowers and Shrubs of the Western United States*. Xlibris Corporation LLC.
- Randhawa, M.A. (2006). The effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on the growth of dermatophytes. *Japanese Journal of Medical Mycology*, 47(4), 313-318. <https://doi.org/10.3314/jjmm.47.313>
- Rahaman, Md. S., Siraj, Md. A., Islam, Md. A., Shanto, P. C., Islam, O., Islam, Md. A., & Simal-Gandara, J. (2022). «Crosstalk between Xanthine Oxidase (XO) Inhibiting and Cancer Chemotherapeutic Properties of Comestible Flavonoids- a Comprehensive Update». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 110:109147. doi: 10.1016/j.jnutbio.2022.109147.
- Reynolds, D., & Kollef, M. (2021). «The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of Pseudomonas Aeruginosa Infections: An Update». *Drugs* 81(18):2117-31. doi: 10.1007/s40265-021-01635-6.
- Rowlett, Veronica W., Venkata, K.P.S. Mallampalli, Anja Karlstaedt, William Dowhan, Heinrich Taegtmeier, William Margolin, y Heidi Vitrac. (2017). «Impact of Membrane Phospholipid Alterations in Escherichia Coli on Cellular Function and Bacterial Stress Adaptation» editado por V. J. DiRita. *Journal of Bacteriology* 199(13). doi: 10.1128/JB.00849-16.

- Rütten, A., Kirchner, T., & Musiol-Kroll, E.M. (2022). «Overview on Strategies and Assays for Antibiotic Discovery». *Pharmaceuticals* 15(10):1302. doi: 10.3390/ph15101302.
- Sbhatu, D.B., & Abraha, H.B. (2020). «Preliminary Antimicrobial Profile of *Solanum Incanum* L.: A Common Medicinal Plant». *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2020:1-6. doi: 10.1155/2020/3647065.
- Semwal, R., Joshi, S.K., Semwal, R.B., & Semwal, D.K. (2021). «Health Benefits and Limitations of Rutin - A Natural Flavonoid with High Nutraceutical Value». *Phytochemistry Letters* 46:119-28. doi: 10.1016/j.phytol.2021.10.006.
- Shipunov, A. (2024). Introduction to Botany. Minot State University. LibreTexts. <https://libretexts.org>
- Shrestha, S., Malla, B., & Haramoto, E. (2024). «Group A Streptococcus Pyogenes in Wastewater: Applicability of Wastewater-Based Epidemiology for Monitoring the Prevalence of GAS Pharyngitis during the Late COVID-19 Pandemic Phase». *Science of The Total Environment* 928:172447. doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.172447.
- Shuaib, M.J., Shailabi, T.I., Borwis, E.O., & Muhammed, A.S. (2021). Antimicrobial activity evaluation of citrus lemon against *Streptococcus pyogenes* and *Escherichia coli*. *IOSR Journal of Pharmacy*, 11(12), 11-16. <https://www.iosrphr.org/papers/vol11-issue12/C1112011116.pdf>
- Shukla, A., Desai, K., & Modi, N. (2020). In vitro antioxidant and antimicrobial potential of *Sterculia urens* Roxb. root extract and its bioactive phytoconstituents evaluation. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(45), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00063-9>

- Simon, R., Holderied, M.W., Koch, C.U., & Von Helversen, O. (2011). «Floral Acoustics: Conspicuous Echoes of a Dish-Shaped Leaf Attract Bat Pollinators». *Science* 333(6042):631-33. doi: 10.1126/science.1204210.
- Singh, N., Gupta, A.P., Singh, B., & Kaul, V.K. (2006). «Quantification of Valerenic Acid in *Valeriana Jatamansi* and *Valeriana Officinalis* by HPTLC». *Chromatographia* 63(3-4):209-13. doi: 10.1365/s10337-005-0713-6.
- Souza, S.M. de, Delle Monache, F., & Smânia, A. (2005). «Antibacterial Activity of Coumarins». *Zeitschrift Für Naturforschung C* 60(9-10):693-700. doi: 10.1515/znc-2005-9-1006.
- Szopa, D., Wróbel, P., & Witek-Krowiak, A. (2024). «Enhancing Polyphenol Extraction Efficiency: A Systematic Review on the Optimization Strategies with Natural Deep Eutectic Solvents». *Journal of Molecular Liquids* 124902. doi: 10.1016/j.molliq.2024.124902.
- Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021). «*Candida albicans*—The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection». *Journal of Fungi* 7(2):79. doi: 10.3390/jof7020079.
- Tang, Y.-W., Hindiyeh, M., Liu, D., Sails, A., Spearman, P., & Zhang, J.-R. (2023). *Molecular Medical Microbiology*. Academic Press.
- Trauner, G., Khom, S., Baburin, I., Benedek, B., Hering, S., & Kopp, B. (2008). Modulation of GABAA receptors by Valerian extracts is related to the content of valerenic acid. *Planta Medica*, 74(1), 19-24. <https://doi.org/10.1055/s-2007-993761>
- Touchstone, J. C. (1992). Practice of thin layer chromatography (3rd ed.). John Wiley & Sons. <https://books.google.com.co/books?id=DP2UhvuR5cwC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>

- Vanmierlo, T., Bogie, J.F.J., Mailleux, J., Vanmol, J., Lütjohann, D., Mulder, M., & Hendriks, J. A. (2015). «Plant Sterols: Friend or Foe in CNS Disorders?» *Progress in Lipid Research* 58:26-39. doi: 10.1016/j.plipres.2015.01.003.
- Wagner, H., Bauer, R., Melchart, D., Xiao, P. G., & Staudinger, A. (Eds.). (2015). *Chromatographic fingerprint analysis of herbal medicines: Thin-layer and high performance liquid chromatography of Chinese drugs* (Vol. 3). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06047-8>;contentReference[oaicite:0]{index=0}
- Walker, C. I. B., Oliveira, S. M., Tonello, R., Rossato, M. F., Brum, E. S., Ferreira, J., & Trevisan, G. (2017). Anti-nociceptive effect of stigmasterol in mouse models of acute and chronic pain. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. <https://doi.org/10.1007/s00210>
- Wang, M., Zhang, Y., & Guo, P. (2017). Effect of florfenicol and thiamphenicol exposure on the photosynthesis and antioxidant system of *Microcystis flos-aquae*. *Aquatic Toxicology*, 186, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.02.022>17-1416-x
- Weberling, F., & Pankhurst, R.J. (1989). *Morphology of Flowers and Inflorescences*. Cambridge University Press.
- Wolska, K., Grudniak, A., Fiecek, B., Krackiewicz-Dowjat, A., & Kurek, A. (2010). «Antibacterial Activity of Oleanolic and Ursolic Acids and Their Derivatives». *Open Life Sciences* 5(5):543-53. doi: 10.2478/s11535-010-0045-x.
- World Flora Online WFO (2024). *Nautilocalyx pallidus* Sprague. Publicado en Internet; <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000379274>. Consultado el: 26 de agosto de 2024
- World Health Organization. (1999). *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*. Geneva: World Health Organization.

- Xu, K., Ren, X., Wang, J., Zhang, Q., Fu, X., & Zhang, P.-C. (2023). «Clinical Development and Informatics Analysis of Natural and Semi-Synthetic Flavonoid Drugs: A Critical Review». *Journal of Advanced Research* S2090123223003302. doi: 10.1016/j.jare.2023.11.007.
- Xu, Z.R., Nicolson, D.H., & Skog, L.E. (1990). « (992) Proposal to Conserve 7892 Rhytidophyllum and Its Spelling against Codonophora (Gesneriaceae)». *Taxon* 39(4):693. doi: 10.2307/1223395.
- Yassin, M.T., Mostafa, A.A.-F., Al-Askar, A.A., & Alkhelaif, A.S. (2022). «In Vitro Antimicrobial Potency of Elettaria Cardamomum Ethanolic Extract against Multidrug Resistant of Food Poisoning Bacterial Strains». *Journal of King Saud University - Science* 34(6):102167. doi: 10.1016/j.jksus.2022.102167.
- Yeh, C.-H., Yang, J.-J., Yang, M.-L., Li, Y.-C., & Kuan, Y.-H. (2014). Rutin decreases lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibition of oxidative stress and the MAPK–NF- κ B pathway. *Free Radical Biology and Medicine*, 69, 249-257. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.01.028>
- Yuan, G., Guan, Y., Yi, H., Lai, S., Sun, Y., & Cao, S. (2021). «Antibacterial Activity and Mechanism of Plant Flavonoids to Gram-Positive Bacteria Predicted from Their Lipophilicities». *Scientific Reports* 11(1):10471. doi: 10.1038/s41598-021-90035-7.
- Yuan, C.-S., Mehendale, S., Xiao, Y., Aung, H. H., Xie, J.-T., & Ang-Lee, M. K. (2004). The gamma-aminobutyric acidergic effects of valerian and valerenic acid on rat brainstem neuronal activity. *Anesthesia & Analgesia*, 98(2), 353–358. <https://doi.org/10.1213/01.ANE.0000096189.70405.A5>

- Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). «Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review». *Chinese Medicine* 13(1):20. doi: 10.1186/s13020-018-0177-x.
- Zhang, Y., Tatsuno, I., Okada, R., Hata, N., Matsumoto, M., Isaka, M., Isobe, K.-i., & Hasegawa, T. (2016). «Predominant Role of Msr(D) over Mef(A) in Macrolide Resistance in *Streptococcus Pyogenes*». *Microbiology* 162(1):46-52. doi: 10.1099/mic.0.000206.

12. ANEXOS

12.1 Anexo 1: Identificación taxonómica de la muestra botánica de *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) “Krtove” por parte del Herbario Nacional Colombiano (COL)



Instituto de Ciencias Naturales
Facultad de Ciencias
Sede Bogotá



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

[B.ICN-207-2024]

HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)

Bogotá D.C., 21 de junio de 2024

Señores:
FUNDACION LABORATORIO DE FARMACOLOGIA VEGETAL LABFARVE

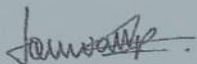
Asunto: *Identificación taxonómica de muestras botánicas*

Cordial saludo. Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de las muestras botánicas relacionadas a continuación:

Nombre	Familia	No. de Colecta	No. COL	Colector	Determinó
<i>Nautilocalyx pallidus</i> (Sprague) Sprague	Gesneriaceae	1	630158	Pedro Monaityama	L. Clavijo / 2024

Esta certificación no es válida para trámites ante el INVIMA o el ICA. El (los) pliegos testigo(s) quedará(n) depositados como muestra permanente en nuestro Herbario.

Cordialmente,


Laura Clavijo, Ph.D.
 Profesora asistente
 Directora, Herbario Nacional Colombiano (COL)
 Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias
 Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá
 E-mail: herbacol_fcbog@unal.edu.co
Copia: archivo Herbario COL

Av. Carrera 30 # 45-03 - Ciudad Universitaria
Edificio 425, ICN
(+57 1) 3165305 - (+57 1) 3165000 EXT: 11503
Bogotá, D. C., Colombia
Inscien_bog@unal.edu.co

PROYECTO
CULTURAL,
CIENTÍFICO
Y COLECTIVO
DE NACIÓN

12.2 Anexo 2: Carta de permiso por parte del corregimiento indígena la REFORMA para estudio de la planta medicinal “Kitove” *Nautilocalyx pallidus* (Sprague).

La Reforma, Amazonas; 23 de abril de 2024

Ciudad.

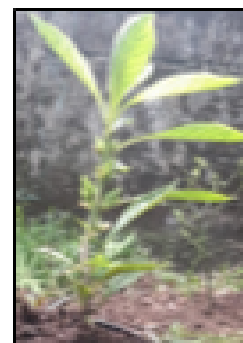
Señores CorpoAmazonia y Comunidad Indígena La Reforma

Cordial Saludo

ASUNTO: PERMISO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA A LA PLANTA MEDICINAL *Kitove*

Yo, PEDRO FERNANDO MONAITYAMA FUSIAMENA, identificado con la cédula de ciudadanía No. 1.133.154.014 expedida el 01 de diciembre de 2.008 en el municipio de Solano, Caquetá, en mis facultades de CACIQUE TRADICIONAL DE LA COMUNIDAD INDÍGENA UITOTO DE LA REFORMA, UBICADA EN EL RESGUARDO DE PUERTO SÁBALO – LOS MONOS, EN EL DEPARTAMENTO DEL AMAZONAS, autorizo a ALBERT ANDREY MUÑOZ MONAITYAMA, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.007.621.557 expedida el 06 de junio de 2018 en el municipio de Pamplona, Norte Santander, a realizar estudios de recolección e investigación científica sobre la planta medicinal tradicional indígena *Kitove* para su tesis de grado realizada en el Laboratorio de Farmacología Vegetal LABFARVE (empresa que ya tiene previo conocimiento del tema), ubicada en la ciudad de Bogotá; con el fin de optar por el título de MICROBIOLOGO en la Universidad de Pamplona, ubicada en el departamento de Norte de Santander, Colombia.

Dicha autorización, radica en la recolección de especies vegetales de la planta *Kitove*, ubicadas en áreas rurales del departamento del Amazonas durante el periodo de mayo a agosto de 2024, las cuales servirán como muestras de herbario para identificación y como muestras de análisis para estudios asociados a potenciales antimicrobiano. Adicionalmente, se tiene propuesto tener una muestra para identificación proteica del extracto acuoso de dicha planta y una futura radicación de esta en las Normas Farmacológicas Vegetales. Se anexa evidencia fotográfica de la planta autorizada a trabajar.



Atentamente,

PEDRO FERNANDO MONAITYAMA FUSIAMENA
Cacique tradicional indígena

ALBERT ANDREY MUÑOZ MONAITYAMA
Estudiante Microbiología – Universidad de Pamplona

12.3 Anexo 3: Declaración de la planta medicinal “Kıtove” *Nautilocalyx pallidus* (Sprague) por parte de Laboratorios de Farmacología Vegetal LABFARVE.

Bogotá, Distrito Capital; 23 de abril de 2024

Ciudad.

A quien interese

ASUNTO: Declaración Planta Medicinal Kıtove

Cordial saludo.

Con la presente, yo DANIEL EDUARDO LÓPEZ CABRA, identificado con la cédula de ciudadanía No. 1.032.472.137 expedida el 18 de junio de 2013 en la ciudad de Bogotá, declaro y hago constancia de que la planta medicinal tradicional indígena *Kıtove*, recolectada en LA COMUNIDAD INDÍGENA UITOTO DE LA REFORMA, UBICADA EN EL RESGUARDO DE PUERTO SÁBALO – LOS MONOS, EN EL DEPARTAMENTO DEL AMAZONAS (0°32'24.3"S, 73°23'29.8"W) no se encuentra registrada en el Vademécum de Plantas Medicinales de Colombia (ISBN: 978958701997-1).

Dicha planta medicinal indígena *Kıtove* se empleará únicamente como material de estudio de investigación experimental para la tesis de grado del pasante de microbiología de la Universidad de Pamplona; ALBERT ANDREYT MUÑOZ MONAITYAMA identificado con cedula de ciudadanía N° 1.007.621.557 expedida el 06 de junio de 2018 en el municipio de Pamplona, Norte de Santander.

Esta planta medicinal se encuentra autorizada por LA COMUNIDAD INDÍGENA UITOTO DE LA REFORMA, UBICADA EN EL RESGUARDO DE PUERTO SÁBALO – LOS MONOS, EN EL DEPARTAMENTO DEL AMAZONAS para el manejo (recolección) y manipulación para realizar los anteriormente mencionados estudios científicos en la empresa Laboratorio de Farmacología Vegetal LABFARVE, ubicada en la ciudad de Bogotá.

Además, se declara que este trabajo se realizará con el pasante de microbiología sin afectar o modificar nuestros procesos internos de trabajo y/o metodologías analíticas de rutina.

Atentamente,



Daniel Eduardo López Cabra

Jefe de Control de Calidad - Labfarve

12.3 Otras actividades realizadas en los Laboratorios de Farmacología Vegetal LABFARVE.

En la empresa de farmacología vegetal LABFRAVE, se mantuvo actualizada la tabla de tendencias microbiológicas de las plantas (ambientes, superficies, personal, agua, aire). Se realizaron muestreos microbiológicos en las plantas de producción, análisis e interpretación de los resultados de las muestras de agua, identificación de contaminaciones detectadas en productos y materias primas, así como controles de esterilidad y eficacia en medios de cultivo, líquidos de lavado, soluciones y en el cumplimiento de las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

Otras actividades incluyeron el conteo de microorganismos (bacterias, mohos y levaduras) y la detección de microorganismos específicos, como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* o *Salmonella* spp., en materiales de empaque, materias primas, productos en proceso y productos terminados. Estas pruebas están diseñadas para determinar si las muestras cumplen con las especificaciones establecidas de calidad microbiológica.