

## Actividad antimicrobiana de extractos de *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Myrtaceae) del estado Táchira - Venezuela

### Antimicrobial activity of *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Myrtaceae) extracts from Táchira state, Venezuela

Contreras-Moreno, Billmary<sup>1,2,3\*</sup>; Velasco, Judith<sup>4</sup>; Rojas, Janne<sup>1,5</sup>; Rodríguez-Castillo, Gabriela<sup>6</sup>; Alarcón, Libia<sup>1,3</sup>; Celis, María-Teresa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

<sup>2</sup>Laboratorio de Polímeros y Coloides (POLYCOL), Facultad de Ingeniería, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

<sup>3</sup>Grupo de Investigación de Productos Naturales (GIPRONA), Núcleo Universitario Rafael Rangel, Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela.

<sup>4</sup>Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

<sup>5</sup>Grupo de Investigación de Biomoléculas Orgánicas, Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

<sup>6</sup>Departamento de Química, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Falcón, Venezuela.

\*billmary.contreras@gmail.com

#### Resumen

*Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Myrtaceae), es una planta arbórea de hoja perenne, conocida como Bay rum, con un especial interés en la industria cosmética por sus aceites esenciales. En el presente estudio, se evaluó la actividad antimicrobiana de extractos obtenidos de diferentes partes de *P. racemosa* var. *racemosa* empleando el método de difusión en agar con disco frente a bacterias multirresistentes de origen nosocomial *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae* productoras de  $\beta$ -lactamasa de espectro extenso, bacterias (Gram positivas y Gram negativas) y levaduras de referencia internacional. Los extractos evaluados inhibieron el desarrollo de todas las bacterias Gram positivas (*S. aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y SARM), con valores de concentración inhibitoria mínima que oscilaron entre 50 y 480 mg/mL, representando estos extractos una alternativa para la industria farmacéutica como agente antimicrobiano frente a este grupo bacteriano. Este es el primer reporte sobre actividad antimicrobiana de extractos de diferentes partes de esta especie vegetal colectada en Venezuela.

**Palabras clave:** Extractos, *Pimenta racemosa*, actividad antimicrobiana, *S. aureus*, *E. faecalis*, SARM.

#### Abstract

*Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Myrtaceae) is an arboreal plant with perennial leaves known as Bay rum, with special interest in the cosmetic industry due to its essential oils. Present investigation dealt with the antimicrobial activity evaluation of extracts obtained from different parts of *P. racemosa* var. *racemosa* through the agar disk diffusion method against multiresistant bacterial of nosocomial origin such as Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae*, bacterial (Gram positive and Gram negative) and international reference yeasts strains. The evaluated extracts caused growth inhibition of all Gram-positive strains (*S. aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y MRSA), with minimal inhibitory concentration values between 50 and 480 mg/mL, representing these extracts an alternative for the pharmaceutical industry as an antimicrobial agent against this bacterial group. This is the first report on the antimicrobial activity of extracts from different parts of this species collected in Venezuela.

**Keywords:** Extracts; *Pimenta racemosa*; antimicrobial activity; *S. aureus*, *E. faecalis*, MRSA.

## 1 Introducción

*Pimenta racemosa* (Mill.) J.W. Moore (figura 1), perteneciente a la familia Myrtaceae, es un árbol tropical de porte erguido, hoja perenne y aromática, originaria del noroeste de Suramérica y de las Antillas, también se puede localizar en el sureste de Estados Unidos, Sri Lanka, este y oeste de África e Indonesia (Dupont y col., 1954, Weiss, 2002, Contreras-Moreno y col., 2014a, 2016, 2020, Contreras-Moreno, 2019); en Venezuela se conoce comúnmente como bay rum y se puede localizar en los estados Táchira, Mérida, Lara, Nueva Esparta, Falcón, Sucre, Zulia y en el Distrito Capital (Hokche y col., 2008, Contreras-Moreno y col., 2014a, 2014b, 2016, 2017, 2020, Contreras-Moreno, 2019). Se caracteriza por presentar cinco variedades: var. *grisea* (Kiaersk.) Fosberg; var. *hispaniolensis* (Urb.) Landrum; var. *ozua* (Urb. y Ekman) Landrum; var. *terebinthina* (Burret) Landrum y var. *racemosa* (Mill.) J.W. Moore (Tucker, 1991), aunque a partir de 2012 esta última variedad es considerada como un sinónimo de *Pimenta racemosa* (Theplantlist 2012); por lo que es factible reportar información de esta última variedad por cualquiera de estos dos nombres *P. racemosa* o *P. racemosa* var. *racemosa* (Contreras-Moreno, 2019).

*P. racemosa* ha sido utilizada principalmente por sus esencias volátiles en la formulación de productos cosméticos, como colonias, lociones para después del afeitado, tratamientos para el cabello y jabones (Weiss, 2002, Boning, 2010, Contreras-Moreno y col., 2014a, 2014b, 2016, 2017, 2020, Contreras-Moreno, 2019), sin embargo, en la medicina tradicional, sus hojas, han sido usadas para el tratamiento del reumatismo, dolor abdominal, dolor de muelas, neumonía, fiebre, influenza, forúnculos infectados, escalofríos, diarrea, problemas menstruales, problemas de menopausia, sedante y tratamiento de la tendinitis de los cuartos traseros de los caballos (Longuefosse y col., 1996, García y col., 2004, Lans y col., 2006, D'Angelis y col., 2014, Godínez-Caraballo y col., 2008, Flores y col., 2014, Contreras-Moreno, 2019).

Dentro de las actividades biológicas reportadas para extractos de *P. racemosa* se encuentran: antiinflamatoria, antioxidante, antibacteriana, antifúngica, antinociceptiva, citotoxicidad sobre *Artemia salina* y esquistomicida (Fernández y col., 2001, García y col., 2004, Cáceres y col., 1995, Boning, 2010, Yousif y col., 2007, Rojas-Urdaneta y col., 2008, Ospina-Millán y col., 2009, Hernández y col., 2009, Contreras-Moreno y col., 2017), actividades que de acuerdo con la literatura consultada se asocian a la presencia de metabolitos secundarios de tipo flavonoide, saponina, triterpeno, esteroides, quinona, polifenol, entre otros (Contreras-Moreno y col., 2014b, 2017).

En un estudio realizado de tamizaje fitoquímico a

extractos de diferentes partes de *P. racemosa* var. *racemosa*, se detectó la presencia de grupos de metabolitos secundarios con núcleos de tipo flavonoide, terpenoidal y esteroidal, los cuales son en su mayoría compuestos asociados en actividades antibacterianas y antifúngicas (Contreras-Moreno y col., 2014b).

Debido a las propiedades fungicidas que posee *P. racemosa*, un extracto de las hojas de esta especie fue incorporado como uno de los principios activos de formulaciones comerciales en tratamientos antifúngicos para las aguas de los acuarios (Boning, 2010) siendo la formulación PondCare® y PimaFix® ideal en el tratamiento de infecciones causadas por las especies *Saprolegnia* y *Achlya* (Apifishcare, 2015).

Las infecciones ocasionadas por bacterias y levaduras cada vez toman más importancia en el área de la investigación farmacéutica debido a la resistencia que están presentando a los fármacos que se utilizan para dichos tratamientos, convirtiéndose en una gran amenaza para la salud pública, ya que se reducen las alternativas frente a infecciones causadas por patógenos resistentes. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE) como *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae* son los microorganismos más frecuentes presentes en las infecciones nosocomiales, de ahí la necesidad de buscar nuevas alternativas en productos naturales (Oteo y col., 2017, Contreras-Moreno y col., 2016).

En tal sentido, en esta investigación se reporta la actividad antimicrobiana realizada por el método de difusión en agar con discos, de extractos obtenidos por maceración en frío con alcohol isopropílico de diferentes partes de *P. racemosa* var. *racemosa*, recolectadas en Rubio (Venezuela) frente a diferentes bacterias multirresistentes de origen nosocomial, bacterias y levaduras de referencia internacional.



**Fig. 1.** Especie *P. racemosa* var. *racemosa* (Myrtaceae).  
Foto: Billmary Zuleyma Contreras-Moreno

## 2 Materiales y Métodos

### 2.1 Material Vegetal

Las hojas (H), frutos (F), tallos finos (TF), tallos gruesos (TG), corteza (C) y raíz (R) de *Pimenta racemosa* var. *racemosa* fueron colectados cerca del Sector “Los Corredores de la Palmita”, del Municipio Junín, en la ciudad de Rubio, ubicada en el suroeste del Estado Táchira, Venezuela, a una altitud de 859 m.s.n.m. Longitud oeste: 72°21', Latitud norte: 7°42', en abril del 2012. La identificación botánica de la especie fue realizada por el Dr. Leslie R. Landrum, Curador del Herbario de Ciencias de La Vida, Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Estatal de Arizona, USA, Los ejemplares colectados en campo están resguardados en USA en el Herbario ASU de la Universidad Estatal de Arizona (código ASU0075448) y en Venezuela en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (código BC-01).

### 2.2 Reactivos

Agar Müeller-Hinton, Caldo Müeller-Hinton y agar Sabouraud Dextrosa de BBL™ (BD, Maryland, USA); Cloruro de Sodio de Riedel-de-Haën (Hannover, Alemania); Dimetilsulfóxido de Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA); Glucosa de Merck (Darmstadt, Alemania); azul de metileno del Laboratorio Químico Lab-Line C.A. (Barquisimeto, Venezuela) y agua destilada.

### 2.3 Extractos vegetales

Los extractos de diferentes partes de *P. racemosa* var. *racemosa* fueron obtenidos a temperatura ambiente por maceración en frío con alcohol isopropílico del material vegetal colectado en la ciudad de Rubio (Venezuela) en abril del 2012, los rendimientos, metodologías de maceración y extracción, y análisis de metabolitos secundarios presentes en estos extractos fueron reportados previamente por Contreras-Moreno y col., (2014b).

### 2.4 Antibióticos y fungicidas

Trimetoprin-Sulfametoxazol® 10 µg, BBL™; Vancomicina® 30 µg, BBL™; Gentamicina® 10 µg, BBL™; Aztreonam® 30 µg, BBL™; Cefepima® 30 µg, BBL™; Fluconazol® 100 µg, Liofilchem-Roseto-Italy; Vorcum® 200 mg (400 µg/mL Voriconazol), Pfizer.

### 2.5 Bacterias y levaduras:

Se emplearon los siguientes microorganismos de referencia internacional: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli*(ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Candida albicans* (CDC-B385), *Candida krusei* (ATCC 6258) actualmente *Pichia kudriavzevii* (Borman,

Fraser y Jhonson, 2020); y tres bacterias aisladas de pacientes con infecciones nosocomiales, hospitalizados en el Servicio de Neonatología (P28), del Instituto Autónomo del Hospital Universitario de Los Andes (Mérida, Venezuela), *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (SARM) (525), *Escherichia coli* productora de  $\beta$ -lactamasa de espectro extenso (BLEE) (7532) y *Enterobacter cloacae* productora de BLEE (10221).

### 2.6 Método antimicrobiano

La actividad antimicrobiana se realizó de acuerdo al método de difusión en agar con discos descrita por Velasco y col., (2005), Contreras-Moreno y col., (2016), la actividad antifúngica se realizó de acuerdo al método de difusión en agar con discos descrita por Contreras-Moreno y col., 2016.

Los controles positivos empleados en los ensayos fueron discos estándar del antibiótico de referencia y del antifúngico de referencia correspondiente a cada microorganismo ensayado (Tabla 1), a excepción del antifúngico Vorcum®, debido a que al no encontrarse disponible en discos estándar, sino en presentación inyectable, se preparó una solución que contuviera 400 µg/mL de Voriconazol y a partir de dicha solución se impregnaron discos de papel de filtro (de 2mm de grosor por 6 mm de diámetro) con 20 µL. Como control negativo se utilizaron discos saturados con el solvente de extracción de los extractos (alcohol isopropílico) para chequear la posible actividad de este solvente contra los microorganismos ensayados.

Para estos dos ensayos, el medio de cultivo inoculado con el extracto se preincubó durante 18 horas a 4°C y luego se incubaron a 37°C durante 24 horas. La lectura de los halos de inhibición se realizó pasado el tiempo de incubación, midiendo el diámetro de la zona de inhibición alrededor del disco, los resultados se expresaron en mm.

La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) del extracto se determinó sólo frente a los microorganismos donde se observó zonas de inhibición. Para la determinación de la CIM se prepararon diluciones del extracto en alcohol isopropílico en un rango de concentración de 5-500 mg/mL. Los discos de papel de filtro se impregnaron con 20 µL de cada dilución de extracto. La CIM se define como la concentración más baja capaz de inhibir el crecimiento bacteriano visible (CLSI 2013, Contreras-Moreno y col., 2016). Los ensayos se realizaron por duplicado.

## 3 Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se describen los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos (H, F, TF, TG, C y R) obtenidos de *P. racemosa* var. *racemosa* frente a los microorganismos de referencia internacional y aislados clínicos bacterianos de origen

nosocomial.

Los extractos mostraron solo actividad antibacteriana frente a los microorganismos Gram positivos, con total inhibición de *S. aureus*, y casi todos inhibieron el desarrollo de *E. faecalis* excepto el extracto de raíz, el mismo mostró reducida actividad inhibitoria con halos de inhibición de 7 mm y valores de CIM más elevados 480-490 mg/mL. El comportamiento del extracto de los frutos fue similar con valores de CIM 350-480. Siendo más activos los extractos de hojas, tallos finos, tallos gruesos y

corteza con rangos de CIM de 50-100 mg/mL para *S. aureus* y de 75-225 mg/mL para *E. faecalis*.

Estos resultados se semejan en la actividad antibacteriana reportada por Contreras-Moreno y col., (2016), quienes evaluaron la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales obtenidos de *P. racemosa* var. *racemosa*, pero difieren en la actividad antimicótica, es posible que los metabolitos secundarios responsables de la capacidad de inhibición de las especies de *Candida* se encuentren solo en el aceite esencial.

**Tabla 1.** Actividad antimicrobiana de extractos de *P. racemosa* var. *racemosa*

Microorganismos	Zona de inhibición (mm)*							CIM (mg/mL)						
	H	F	TF	TG	C	R	Control positivo	H	F	TF	TG	C	R	
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	16*	8*	17*	14*	14*	7*	SXT	42*	75	480	50	50	50	490
<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	9*	9*	13*	12*	12*	NA	VA	24*	225	350	75	100	180	NE
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	GM	30*	NE	NE	NE	NE	NE	NE
<i>K. pneumoniae</i> (ATCC 23357)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	AZT	42*	NE	NE	NE	NE	NE	NE
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	CEF	35*	NE	NE	NE	NE	NE	NE
SARM (N° 525)	16*	10*	15*	14*	13*	7*	-	-	100	350	50	50	75	480
<i>E. coli</i> BLEE (N° 7532)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE
<i>E. cloacae</i> BLEE (N° 10221)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE
<i>C. albicans</i> (CDC-B385)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	FLUC	32*	NE	NE	NE	NE	NE	NE
<i>C. krusei</i> (ATCC 6258) actualmente <i>Pichia kudriavzevii</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	VOR	30*	NE	NE	NE	NE	NE	NE

Zona de inhibición (mm)\*: discos de 6mm de diámetro, NA: No activo, NE: No ensayado, SXT: Trimetoprim-Sulfametoxazol®, VA: Vancomicina®, GM: Gentamicina®, AZT: Aztreonam®, CEF: Cefepima®, FLUC: Fluconazol®, VOR: Vorcum®, SARM: *S. aureus* resistente a Metecilina, BLEE: Betalactamasa de espectro extendido, CIM: Concentración Inhibitoria Mínima, H: extracto isopropanólico de hojas, F: extracto isopropanólico de frutos, TF: extracto isopropanólico de tallos finos, TG: extracto isopropanólico de tallos gruesos, C: extracto isopropanólico de corteza y R: extracto isopropanólico de raíz. 500 mg/mL: concentración inicial del ensayo.

Al comparar la actividad antimicrobiana de todos los extractos evaluados, el extracto de TF de *P. racemosa* var. *racemosa* mostró los valores de CIM más bajos de 50 a 75 mg/mL frente a las bacterias Gram positivas.

La actividad antibacteriana observada solo frente a las bacterias Gram positivas sugiere que el efecto bactericida podría estar relacionado con la capa de peptidoglicano en la pared celular, que es de mayor tamaño en este grupo bacteriano. Esta interacción podría estar dada de diversas formas: afectando su estructura por una fuga de componentes citoplasmáticos, al favorecer la entrada de materiales tóxicos, por la inhibición enzimática a través de la formación de complejos con proteínas extracelulares y proteínas solubles, por la coagulación de las proteínas de la pared celular o por una interacción con las adhesinas (Araujo y col., 2008, Alabi y col., 2012).

Aunque el mecanismo de acción bactericida de los extractos no está plenamente descrito debido a la compleja mezcla de sustancias químicas que ellos poseen, esta actividad podría atribuirse a uno o varios de los

metabolitos secundarios revelados en el tamizaje fitoquímico realizado por Contreras-Moreno y col., (2014b), tales como flavonoides, fenoles, triterpenos, saponinas, entre otros, compuestos a los cuales ya se les ha descrito actividad antimicrobiana (Araujo y Salas., 2008, Paula y col., 2010, Alabi y col., 2012). En la literatura, algunos investigadores reportan que el modo de acción de los agentes antimicrobianos depende no solo del tipo de microorganismo, sino también de la estructura de la pared celular y la disposición de la membrana externa (Kalemba y col., 2003).

Este estudio tiene gran relevancia ya que comprueba científicamente el uso popular que le dan las personas a esta especie vegetal (*P. racemosa* var. *racemosa*) en el tratamiento de infecciones en la piel como abscesos, impétigo, furúnculos entre otras, cuya etiología está dada principalmente por *S. aureus* (Bartolomé y Solvez, 2020).

Es preciso destacar que, no existen reportes previos de actividad antibacteriana o antifúngica de extractos obtenidos de la especie *P. racemosa* var. *racemosa*, pero

si hay evidencia de estas actividades en aceites esenciales extraídos de esta especie y en extractos de otras especies pertenecientes al género *Pimenta*.

Al respecto, Paula y col., (2012) reportaron que el extracto etanólico de las hojas de *P. pseudocaryophyllus* del quimiotipo (E)-metiliso Eugenol fue activo contra las cepas bacterianas *S. aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus roseus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus atrophaes*, *Salmonella spp.*, *P. aeruginosa* con CIM de 1000 µg/mL y frente a las levaduras *C. albicans*, *Candida parasitopsis* y *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* con CIM de 125, 62,5 y 15,6 µg/mL, respectivamente. En este sentido, Sandigawad (2010) publicó que el extracto metanólico de la corteza de *Pimenta dioica* fue activo frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella Typhi*, *B. subtilis* con CIM de 1000, 2000, 1000, 500 y 500 µg/mL, respectivamente.

Un hallazgo importante de este estudio fue la capacidad de todos los extractos ensayados de *P. racemosa* var. *racemosa* frente a SARM (Tabla 1), estos productos podrían utilizarse como una alternativa a los antimicrobianos comerciales para tratar infecciones ocasionadas por estas bacterias consideradas importantes patógenos de infecciones de piel y tejidos blandos, neumonías, entre otras. Se requieren estudios complementarios para evaluar su toxicidad y modelos animales que permitan establecer su eficacia *In Vivo* como posibles agentes antimicrobiano

#### 4 Conclusiones

Los extractos evaluados de *P. racemosa* var. *racemosa* por el método de difusión en agar con discos revelaron actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *E. faecalis* y SARM lo que sugiere explotar el potencial de los metabolitos secundarios presentes en dichos extractos ya que podrían utilizarse como una alternativa a los antimicrobianos comerciales para tratar infecciones ocasionadas por bacterias patógenas incluyendo las del tipo multirresistentes. De acuerdo a la literatura consultada, no hay reportes que describan la actividad antimicrobiana de extractos de diferentes partes de *P. racemosa* var. *racemosa* frente a los microorganismos ensayados.

#### Agradecimientos

Los autores reconocen y agradecen a la MSc. Evelyn Alviárez, del Laboratorio de Bacteriología Anaeróbica "Dr. Roberto Gabaldón Parra", del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (Venezuela), por la donación de las bacterias multirresistentes de origen nosocomial.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

#### Referencias

- Alabi OA, Haruna MT, Anokwuru CP, Jegede T, Abia H, Okegbe VU, Esan BE, 2012, Comparative studies on antimicrobial properties of extracts of fresh and dried leaves of *Carica papaya* (L) on clinical bacterial and fungal isolates, *Appl. Sci. Res.*, Vol. 3, No. 5, pp. 3107-3114.
- Apifishcare 2015, Fecha de consulta: 26 Agosto 2015. [http://www.apifishcare.com/product.php?id=630#Vd4uifl\\_Oko](http://www.apifishcare.com/product.php?id=630#Vd4uifl_Oko)
- Araujo J, Salas R, 2008, Actividad antimicrobiana de plantas. *Revista científica*, Vol. 6, pp. 6-18.
- Bartolomé-Álvarez J, Solvez-Ferriz V, 2020, Aumento de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y sensible a ciprofloxacino en infecciones osteoarticulares, de piel y tejidos blandos. *Rev Esp Quimioter.* Vol. 33, No 2, p. 143-144.
- Boning CR, 2010, Florida's Best Herbs and Spices: Native and Exotic Plants Grown for Scent and Flavor. Ed. Pineapple Press Inc., Florida, USA, pp. 32-33.
- Borman AM, Fraser M, Johnson EM, 2020, CHROMagar™ *Candida* Plus: A novel chromogenic agar that permits the rapid identification of *Candida auris*. *Medical Mycology.* Vol. 0, pp. 1-6.
- Cáceres A, Menéndez H, Méndez E, Cohobón E, Samayoa BE, Jauregui E, Peralta E, Carrillo G, 1995, Antigonorrhoal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases, *J. Ethnopharmacol.*, Vol. 48, No. 2, pp. 85-88.
- Cho JH, Kim JH, Kim MK, Lee HS, 2002, Fungicidal activities of 67 Herb-Derived oils against six phytopathogenic fungi, *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, Vol. 45, No. 4, pp. 202-207.
- CLSI 2013, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23, Vol. 33, No. 1, pp. 1-206.
- Contreras-Moreno B, Rojas J, Celis M, Rojas L, Méndez L, Landrum L, 2014a, Componentes volátiles de las hojas de *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Mill.) JW Moore (Myrtaceae) de Táchira-Venezuela, *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, Vol. 13, No. 3, pp. 305-310.
- Contreras-Moreno BZ, Rojas-V J, Méndez L, Celis MT (2014b) Preliminary phytochemical screening of *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Myrtaceae) from Táchira - Venezuela, *Pharmacologyonline*, Vol. 2, pp. 252 - 259.
- Contreras-Moreno BZ, Velasco JJ, Rojas JDC, Méndez LDC, Celis MT, 2016, Antimicrobial activity of essential oil of *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Myrtaceae) leaves. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, Vol. 4, No. 6, pp. 224-230.
- Contreras-Moreno B, Díaz L, Celis MT, Rojas J, Méndez L, Rosenzweig, P, Ontiveros J, 2017, Actividad

- antioxidante del aceite esencial de las hojas de *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Mill.) JW Moore (Myrtaceae) de Táchira-Venezuela, *Revista Ciencia e Ingeniería*, Vol. 38, No. 3, pp. 223–230.
- Contreras-Moreno BZ, Compuestos químicos aislados del género *Pimenta* (Myrtaceae): Revisión: *Pimenta* y sus metabolitos secundarios, 2019, Beau Bassin (Mauritius). Editorial Académica Española, pp.1-105.
- Contreras-Moreno BZ, Rojas-Vera J, Izaguirre C, Méndez L, Gómez R, Celis MT, Santiago B, 2020, Proximate analysis and mineral composition of *Pimenta racemosa* var. *racemosa* fruits collected from Táchira state, Venezuela, *Material Science & Engineering International Journal*, Vol. 7, No. 2, pp. 59–62.
- D'Angelis ASR, Negrelle RRB, 2014, *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum: aspectos botánicos, ecológicos, etnobotánicos e farmacológicos, *Rev. Bras. Plantas Med.*, Vol. 16, No. 3, pp. 607-617.
- Dupont G, Dulou R, Clément M, Martínez M, 1954, Études de l'huile essentielle de Bay de Porto-Rico, *Bull Soc Chim Fr*, Vol. 21, No. 9, pp. 1082-1084.
- Fernández A, Álvarez A, Garcia MD, Sáenz MT, 2001, Anti-inflammatory effect of *Pimenta racemosa* var. *ozua* and isolation of the triterpene lupeol, *Il Farmaco*, Vol. 56, No. 4, pp. 335-338.
- Flores KE, Quinlan MB, 2014, Ethnomedicine of menstruation in rural Dominica, West Indies, *Journal of ethnopharmacology*, Vol. 153, No. 3, pp. 624-634.
- García MD, Fernández MA, Álvarez A, Sáenz MT, 2004, Antinociceptive and anti-inflammatory effect of the aqueous extract from leaves of *Pimenta racemosa* var. *ozua* (Myrtaceae), *Journal of ethnopharmacology*, Vol. 91, No. 1, pp. 69-73.
- Godínez-Caraballo D, Volpato G, 2008, Plantas medicinales que se venden en el mercado El Río, Camagüey, Cuba, *Revista Mexicana de Biodiversidad*, Vol. 79, pp. 243-259.
- Hernández J, Claudio K, Rivera J, Ortiz I, Carvajal A, Pagan M, Ospina CA, 2009, Cytotoxic screening of tropical plants using brine shrimp lethality test. Abstracts, 61 st Southeast Regional Meeting of the American Chemical society, San Juan, Puerto Rico, October 21-24, SRM-375.
- Hokche O, Berry PE, Huber O. (Eds.), 2008, Nuevo Catálogo de la Flora Vasculare de Venezuela. Caracas: Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser, pp. 524.
- Kalemba D, Kunicka A (2003) Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*. 10(10): 813-829.
- Lans C, Turner N, Brauer G, Lourenco G, Georges K, 2006, Ethnoveterinary medicines used for horses in Trinidad and in British Columbia, Canada, *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, Vol. 2, No. 31, pp. 1-20.
- Longuefosse JL, Nossin E, 1996, Medical ethnobotany survey in Martinique, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 53, No. 3, pp. 117-142.
- Ospina-Millán CA, Pagán-Ortiz M, Carvajal A, Claudio K, Rivera J, Ortiz I, Hernández J, 2009, Cytotoxic Screening of Tropical Plants Using Brine Shrimp Lethality Test. Cuadernos de investigación. Instituto de investigaciones Interdisciplinarias, Universidad de Puerto Rico en Caney, pp. 1-20.
- Oteo J, Bou G, Chaves F, Oliver A, 2017, Métodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, Vol. 35, No. 10, pp. 667-675.
- Paula JAM, Reis JB, Ferreira LHM, Menezes AC, Paula JR, 2010, Género *Pimenta*: aspectos botánicos, composição química e potencial farmacológico, *Revista Brasileira de Plantas Medicinales*, Vol. 12, No. 3, pp. 363-379.
- Paula JAMD, Silva MDRR, Costa MP, Diniz DGA, Sá FA, Alves SF, ... Paula JRD, 2012, Phytochemical analysis and antimicrobial, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of two chemotypes of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Myrtaceae), *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2012420715. doi:10.1155/2012/420715
- Rojas-Urdaneta JE, Fernández N, Martínez G, 2008, Efectos antioxidantes de una mezcla de principios activos de origen natural con actividad potencial en el tratamiento del vitíligo, *Sociedad Iberoamericana de Información Científica*, Extraído de: <http://www.siicsalud.com/UTH> (ISSN 1667-9008). Argentina, en prensa. (Consultado el 15 de enero de 2013)
- Sandigawad AM, 2010, In vitro evaluation of antibacterial activity of bark and flower extracts of *Pimenta officinalis* Lindl, *Advances in Bioresearch*, Vol. 1, No. 2, pp. 61-68.
- Theplantlist.org, 2012, Extraído de: <http://www.theplantlist.org/tp1.1/search?q=pimenta>. (Consultado el 20 de febrero de 2013)
- Tucker AO, Maciarello MJ, Adams RP, Landrum LR, Zandoni TA, 1991, Volatile leaf oils of Caribbean Myrtaceae. I. Three varieties of *Pimenta racemosa* (Miller) J. Moore of the Dominican Republic and the commercial bay oil, *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 3, No. 5, pp. 323-329.
- Velasco J, Contreras E, Buitrago D, Velasco E, 2005, Efecto antibacteriano de *Virola sebifera* sobre *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, *Ciencia*. Vol. 13, pp. 411-415.
- Weiss EA, 2002, *Spice Crops*. New York: CABI Publishing, pp. 131-132.
- Yousif F, Hifnawy MS, Soliman G, Boulos L, Labib T, Mahmoud S, Ramzy F, Yousif M, Hassan I, Mahmoud K, El-Hallouty SM, El-Gendy M, Gohar L, El-Manawaty M, Fay-yad W, El-Menshawi BS, 2007, Large-scale in Vitro. Screening of Egyptian Native and Cultivated Plants for

Schistosomicidal Activity, *Pharm. Biol.*, Vol. 45, No. 6, pp. 501-510.

**Recibido:** 13 de julio de 2020

**Aceptado:** 12 de octubre de 2020

**Contreras-Moreno, Billmary Zuleyma:** Ingeniero Químico, Universidad de Los Andes (ULA), Mérida, Venezuela-2009; Doctora en Química de Medicamentos, ULA, Mérida, Venezuela-2016. Plan II, Facultad de Ingeniería ULA. Líneas de investigación: productos naturales, alimentos, polímeros y emulsiones. Correo electrónico: [billmary.contreras@gmail.com](mailto:billmary.contreras@gmail.com)

**Velasco, Judith:** Licenciada en Bioanálisis, Especialista en Microbiología Clínica, Dr. del Programa Ciencias Médicas Fundamentales. Profesora asociada, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Venezuela. Correo electrónico: [juvel@ula.ve](mailto:juvel@ula.ve)

**Rojas Vera, Janne:** Farmacéutica Universidad de Los Andes (ULA), Mérida, Venezuela-1990; Magister Scientiae en Química de Medicamentos, ULA, Mérida, Venezuela-1995; Ph.D. en Fitoquímica, University of Portsmouth, Inglaterra, UK-2002. Profesora Titular adscrita al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Coordinadora del grupo de investigación "Biomoléculas Orgánicas". Miembro correspondiente estatal de la Academia de Mérida desde el 29 de mayo de 2019. Correo electrónico: [janner@ula.ve](mailto:janner@ula.ve)

**Rodríguez-Castillo, Gabriela:** Profesora de Química Orgánica de la Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. Lcda. en Química y Doctorado en Química de Medicamentos, Líneas de investigación: productos naturales, elucidación de estructuras orgánicas y actividades biológicas. Correo electrónico: [gabrielarodriguezcastillo@gmail.com](mailto:gabrielarodriguezcastillo@gmail.com)

**Alarcón, Libia:** Profesora Agregada del Departamento de Biología y Química, en el Núcleo Universitario Rafael Rangel, de la Universidad de los Andes. Farmacéutico. MSc. en Química Aplicada, Mención Química Orgánica y Doctorado en Química Aplicada. Líneas de investigación: productos naturales, elucidación de estructuras orgánicas y actividades biológicas. Correo electrónico: [libia\\_alarcon@yahoo.es](mailto:libia_alarcon@yahoo.es)

**Celis, María- Teresa:** Ingeniero Químico Universidad de Los Andes (ULA), Mérida, Venezuela-1981; Master en Ingeniería Química, 1997, University of South Florida (USF), USA; Ph.D. en Ingeniería Química 2000, USF, USA; Post. Doc. (Water-based, Natural Polymer Surfactants: Implications for Deep wáter Horizon Oil Spill Dispersions and Cleanup Operations), 2012, USF, USA;

Directora Laboratorio de Polímeros y Coloides, Facultad de Ingeniería (ULA); Profesora Titular, Facultad de Ingeniería ULA. Investigadora y experta en el área de polímeros, emulsiones y caracterización de sistemas dispersos usando espectroscopia. Miembro correspondiente estatal academia de Mérida. Correo electrónico: [celismt@ula.ve](mailto:celismt@ula.ve)

