



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y
BIOANÁLISIS

“Dr. Alfredo Usubillaga del Hierro”

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE
LOS EXTRACTOS DE *Sambucus mexicana*.

Trabajo Especial de Grado presentado como requisito para optar al Título de
Licenciado en Bioanálisis

Tutor:

Dra. Rosa L. Aparicio Z.

Co-tutor:

Dr. Luis B. Rojas F.

Bachiller:

Lozano Lisbeth

C.I: 18.641.000

Mérida, Julio de 2019

AGRADECIMIENTOS

Primeramente Agradecida con Dios por permitirme este gran logro y por darme la satisfacción de haber estudiado en la mejor universidad.

A la Universidad de Los andes por abrimme sus puertas y resurgarme en sus aulas, dejando en mi una huella imborrable, muchas gracias.!

A mi Tutora Dra. Rosa Aparicio por ayudarme en el desarrollo de este proyecto por la paciencia y comprensión, muchas gracias.

A mis Padres por darme la vida y estar allí cuando mas los necesite, por cuidar de mi hija, espero algún dia retribuir un poquito de todo lo que han hecho por nosotras. Mil Gracias! ¡Los Amo!.

A mi Esposo Howard por siempre tener una palabra de aliento en los momentos difíciles, por siempre estar allí cuando más te necesite, por el amor, la comprensión y la pasciencia. Te amo!

A mis hijos amados Milibeth, Adrian y Francisco, por la comprensión, por esperarme y por ser motivo de inspiración para seguir adelante. Los amo!

A mi Tio Juan por su apoyo incondicional por sus llamadas, que de alguna forma me inspiraron a seguir luchando, Gracias Tio!

A mis hermanos Janeth y Eduardo gracias por todo el apoyo brindado.

A la Familia Beltrán Palomino por su apoyo y colaboración, sin ustedes este logro no hubiese sido posible. Un millón de Gracias!

A mis Compañeras Rosana, Rosa, Lilibeth, Osmary, Heidi y Andreina gracias por toda la colaboración y por los momentos compartidos. Mil Gracias!

A Todas a aquellas persona que participaron en este logro a los que siguen estando presente y a los que ya se fueron a una mejor vida. Mil Gracias.!

No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a su aporte de lograr esta meta se ha notado menos. Les agradezco y hago presente mi gran afecto hacia ustedes.

Muchas Gracias.!

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	iv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación e Importancia de la Investigación	4
Objetivos de la Investigación.	5
<i>Objetivo General</i>	5
<i>Objetivos Específicos.</i>	5
Alcances y limitaciones	6
Alcances de la Investigación	6
Limitaciones de la Investigación	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	8
Trabajos Previos	8
Antecedentes Históricos	10
Bases Teórica	12
Taxonomía	12
Descripción de Familia Adoxaceae	12
Descripción del <i>Sambucus mexicanus</i>	12
Nombre Comunes	13
Especies comunes del Genero <i>Sambucus</i>	13
Composición Química del Sauco (<i>S. mexicanus</i>)	14
Usos de <i>Sambucus mexicanus</i>	16
Toxicidad del Sauco (<i>S. mexicanus</i>)	18
Metabolitos Secundarios	18
Extractos	22
Extractos Fluidos	23
Extractos Firmes	23
Extractos Secos	23
Extractos Blandos	23
Crioextractos	24

Analisis Químico de los extractos de <i>S. mexicanus</i>	24
Screening Fitoquímicos	24
Tecnicas Cromatograficas	25
Bacterias	28
Bacterias Gram positivas	28
Bacterias Gram negativas	30
Tecnicas para Determinar la Actividad Antibacteriana	31
Resistencia Bacteriana	32
Sistema de Hipotesis	32
Operacionalización de las variables	33
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	34
Tipo de Investigación	34
Diseño de Investigación	34
Población y Muestra	36
Técnica e Instrumentos de Recolección de Datos	35
Sistema de variables	36
Materiales y Metodos	37
Recolección de la planta	37
Preparación del Material Vegetal	37
Obtención de los Extractos de <i>S. mexicanus</i>	37
Separación e identificación de los componentes de los Extractos Hexanolicos y Etanolicos de <i>S. mexicanus</i>	39
Cromatografía Gases-Masas de los Extractos Hexanolicos de las Hojas, Tallos y Flores de <i>S. mexicanus</i>	39
Screening Fitoquímico de los extractos etanolicos de las Hojas Tallos y Flores	39
Determinación de la Actividad Antibacteriana de lo Extractos Hexanolicos y Etanolicos de las Hojas de <i>S. mexicanus</i>	41
Preparación de las Muestras	41
Microorganismos a Evaluar	41
Preparación de las Placas	41
Preparacion de los inoculos bacterianos	42
Inoculación	42
Incubación	42
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	43
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRAFICAS	57
ANEXO	64

ÍNDICES DE TABLAS

Tabla N° 1. Nombre Comunes del Sauco Según el País.	14
Tabla N° 2. Operacionalización de las variables Independiente y Dependiente	34
Tabla N° 3. Características físicas de los extractos Hexanolicos de <i>S. mexicanus</i>	44
Tabla N° 4. Características físicas de los Extractos Etanolicos de <i>S. mexicanus</i>	44
Tabla N° 5. Componentes químicos de los Extractos Hexanolicos de las Hojas, Tallos y Flores de <i>S. mexicanus</i> , analizados mediante Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas.	45
Tabla N° 6. Resultados del Screening Fitoquímico de los Extractos Etanolicos de las Hojas, Tallos y Flores.	48
Tabla N° 7. Resultados de la Actividad Antibacteriana de los Extractos Hexanolicos de las Hojas de <i>S. mexicanus</i>	51
Tabla N° 8. Resultados de la Actividad Antibacteriana de los Extractos Etanolicos de las Hojas de <i>S. mexicanus</i>	52

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICES DE FIGURAS

Figura N° 1. Planta de <i>Sambucus mexicana</i>	13
Figura N° 2. Algunas estructuras químicas del <i>Sambucus mexicana</i>	16
Figura N° 3. Algunos Alcaloides Presentes en Especies vegetales	20
Figura N° 4. Algunos Triterpenos Identificados en Especies vegetales	21
Figura N° 5. Algunos Tipos de Saponinas Presentes en Especies vegetales	21
Figura N° 6. Algunos Compuestos Fénolicos Identificados en Especies vegetales	22
Figura N° 7. Algunos Cumarinas Presentes en Especies vegetales	22
Figura N° 8. Algunos Quinonas identificadas en Especies vegetales	23
Figura N° 9. Algunos Tipos de Flavonoides Presentes en Especies vegetales	23
Figura N° 10. Representacion del Cromatografo de Gases	28
Figura N° 11. Cromatógrafo de gases modelo 6890 acoplado a un espectrómetro de masas modelo 5973 marca Hewlett Packard	29
Figura N° 12. Diferencias en la Estructura de la Pared Celular entre microorganismos Gram positivos y Gram negativos.	30
Figura N° 13. Concentración Inhibitoria Mínima	32
Figura N° 14. Variable Independiente y dependiente de la Investigación	37
Figura N° 15. Procedimiento de la obtención de los Extractos a través del Método a Reflujo	39

ÍNDICE DE GRAFICOS

Grafico N° 1. Cromatograma general de el Extracto Hexanolico de las Hojas con las Estructuras de los Compuestos mayoritarios	50
Grafico N° 2. Cromatograma general de el Extracto Hexanolico de las Tallos con las Estructuras de los Compuestos mayoritarios	50
Grafico N° 3. Cromatograma general de el Extracto Hexanolico de las Flores con las Estructuras de los Compuestos mayoritarios	51

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y
BIOANÁLISIS

“Dr. Alfredo Usubillaga del Hierro”

**Composición química y actividad antibacteriana de los Extractos de *Sambucus
mexicanus***

**Mérida – Venezuela
Trabajo de Grado
Realizado por:**

Br. Lisbeth Lozano

C.I: 18.641.000

Tutora: Dra. Rosa L. Aparicio Z.

Co-Tutor: Dr. Luis B. Rojas F.

RESUMEN

En el presente escrito se describe la composición química y actividad antibacteriana de los extractos hexanólicos y etanólicos obtenidos de las hojas de *Sambucus mexicanus*. Los extractos se obtuvieron por el método de Extracción a Reflujo, a una temperatura de 50 °C. Los extractos hexanólicos se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), siendo los compuestos mayoritarios Escualeno (50,62 %) y Fitol (40,26 %) en el extracto de las hojas, mientras en los tallos los mayoritarios fueron escualeno (78,19 %) y vitamina E (14,37 %) y en las flores se encontraron mayormente tricosano (16,20 %) y ácido hexadecanoico (12,72 %), así mismo en el Screening fitoquímico de los extractos etanólicos de las hojas, tallos y flores de *S. mexicanus* se observó los siguientes núcleos: compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos, taninos y alcaloides. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en agar con discos frente a microorganismos (*S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*). Los Extractos Hexanólicos de las hojas inhibió el crecimiento de *S. aureus*, *E. coli* y *K. pneumoniae* a una concentración de 250 ppm, mientras el extracto etanólico de las hojas ya que inhibió a *E. coli* a una concentración de 125 ppm. Este es el primer estudio de identificación y actividad antibacteriana de extractos de *S. mexicanus* en Venezuela.

Palabras claves: *Sambucus mexicanus*, Actividad Antibacteriana, Extracto.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia las enfermedades infecciosas han sido azotes para la humanidad, causando con frecuencia estragos en poblaciones más vulnerables, especialmente en niños. Algunos factores predisponentes como medidas higiénicas, condiciones ambientales y de saneamiento favorecen la aparición de estos microorganismos responsables de infecciones graves. El orden *Dipsacales* es un grupo de distribución mundial de plantas generalmente herbáceas o arbustivas que se compone de 2 familias y más de 1700 especies (Boluda, 2013). Dentro de este grupo extenso de plantas se encuentra el saúco que es un arbusto con características botánicas, composición química y sustancias activas, que ofrece las condiciones para ser aprovechado con fines medicinales, alimenticios, ornamentales, artesanales y para suplementación animal (Grajales y col, 2015).

El análisis de los extractos hexanolicos de *Sambucus mexicanus* se realizó por la técnica de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masa (CG/EM), el analisis de los extractos etanolicos se realizó mediante pruebas cualitativas y la actividad antibacteriana fue medida en presencia de bacterias Gram Negativas y bacterias Gram positivas, por el método de Difusión en Disco.

Se presenta una serie de capítulos en las cuales se desarrolló lo siguiente: en el Capítulo I: se describe de manera muy amplia el planteamiento del problema, conjuntamente con la justificación de la investigación y para culminar este capítulo se definen el objetivo general y los objetivos específicos. En el Capítulo II, se encuentra información de los trabajos actualizados realizados por otros autores, al que se encuentra los antecedentes históricos y las bases teóricas donde se desarrolla una serie de conceptos que sustenta la investigación. En el Capítulo III, se presentaran los métodos y las técnicas desarrolladas, el tipo de investigación evaluativa y el diseño de

investigación es experimental, ya que se manipulan variables; al igual se conceptualiza población y muestra, con un enfoque a la investigación, se especifica el instrumento de recolección de datos, se operacionalizará las variable y se delimita el sistema de variables. Para el Capítulo IV se plasmaron los resultados, discusiones, conclusiones y algunas recomendaciones para nuevas investigaciones.

Tomando en cuenta lo expuesto anteriormente, la investigación tuvo como objetivo Describir la composición química y actividad antibacteriana de extractos de *Sambucus mexicanus* obtenido en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

El Planteamiento del Problema

Investigaciones realizadas en los últimos años, de acuerdo a lo expresado por la Organización Mundial de la Salud, reflejan nuevos acontecimiento de afecciones microbianas adquiridas a nivel mundial, así como, el preocupante incremento de la resistencia que están presentando gran cantidad de microorganismos a los fármacos usualmente usados, adicionalmente, la falta de nuevos descubrimientos por los procesos tradicionales de síntesis química de posibles moléculas farmacológicamente activas de uso terapéutico y los efectos secundarios producto del uso incorrecto o abusivo de algunos fármacos sintéticos. Todo esto, ha planteado una situación que conlleva como resultado diversos daños a la población en general, en cuanto al tratamiento de afecciones microbianas. En tal sentido, se ha generado un amplio interés en la pesquisa de nuevas entidades terapéuticas o alternativas que nos permitan solucionar este inconveniente. Por dicha problemática se ha implementado el estudio fitoquímico y cromatografico de los extractos de las plantas para conocer los metabolitos secundarios que la conforman (Evangelista y Moreno, 2016) y estudiar si dichos compuestos presentan actividad antibacteriana que pudiera aportar la solución al problema planteado. De lo antes expuestos se deriva la siguiente interrogante: ¿Cuán eficaz serán los extractos de *Sambucus mexicanus* obtenidos en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis en el periodo comprendido entre septiembre de 2017 marzo de 2018?

Justificación e Importancia de la investigación

Las plantas medicinales representan un valioso recurso para tratar enfermedades, por lo cual merecen un interés especial en la búsqueda de medicamentos, porque recoge el conocimiento transmitido a través del tiempo por generaciones, en el tratamiento de diferentes enfermedades; además, existe una probabilidad mucho más alta de encontrar compuestos activos contra diversas enfermedades (Calderón, 2011).

La resistencia de los microorganismos a gran variedad de antimicrobianos ha sido originada por el uso de antibióticos sin prescripción, el posponer el tratamiento y el no contar con los recursos para la realización de antibiogramas para un mejor tratamiento, por lo que provoca la creación de mutaciones e intercambios genéticos entre las diversas especies, generando una elevada resistencia (Torres, 2012).

Por esta razón se ha provocado una baja efectividad de los antimicrobianos antes los diferentes microorganismos, dando origen a infecciones prolongadas, elevados índices de mortalidad y el alto costo en el cuidado de la salud por lo que se hace necesario indagar nuevas alternativas terapéuticas que sean accesibles, seguras, de bajo costo y eficaces para que puedan actuar de forma directa sobre la actividad antimicrobiana (Torres, 2012).

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Describir la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de *Sambucus mexicanus*

Objetivos Específicos

Reconocer cualitativamente los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas, tallos y flores *S. mexicanus* mediante el screening Fitoquímico.

Identificar los Componentes Química del extracto de Hexano de las Hojas, Tallos y Flores de *S. mexicanus* utilizando la Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG/EM).

Evaluar la Actividad Antibacteriana de los extractos de Hexano y Etanol de las Hoja de *S. mexicanus* empleando el método de difusión en agar con disco.

Alcances y limitaciones

Alcances de la Investigación

El alcance de una investigación se relaciona con la profundidad del conocimiento sobre el fenómeno de estudio. Establece la visión que posee el investigador para lograr los objetivos. Del alcance depende la estrategia de investigación, así, el diseño, los procedimientos y otros componentes del proceso serán distintos en estudios con alcances exploratorio, descriptivo, correlacional, o explicativo (Hernández, Fernández y Baptista, 2010).

El alcance de esta investigación, es decir, la profundidad del conocimiento que se pretendió fue determinar la composición química de los extractos hexanólicos y etanólicos de la hojas, tallos y flores y evaluar actividad antibacteriana de los extractos hexanólicos y etanólicos de las hojas de *S. mexicanus*. Específicamente, el criterio de la evaluación fue representado por la presencia de la actividad antibacteriana de los extractos hexanólicos y etanólico de las hojas de *S. mexicanus*. Por tal razón, se observó la presencia halos de inhibición en sepas preestablecida (*Klebsiella pneumoniane*, *Echerichia coli*, *Pseudomona auriginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*).

Limitaciones de la investigación

En el momento de efectuar una investigación nos encontramos con algunos aspectos que nos impiden su realización, una de las limitaciones más relevantes en esta

investigación es trasladarse hasta el lugar de recolección de la planta. Debido a que en el casco central del estado Mérida su disponibilidad es escasa, por lo tanto es necesaria la utilización del transporte público o un vehículo para dicho traslado

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Mohammadsadeghi S., Malekpour A., Zahedi S., y Eskandari F. (2013), publicaron un estudio titulado: La actividad antimicrobiana extracto del saúco (*Sambucus nigra* L.) contra bacterias grampositivas, gramnegativa El objetivo fue: determinar la actividad antimicrobiana del extracto de bayas de *Sambucus nigra* contra algunas bacterias grampositivas, bacterias gramnegativas y levaduras. El extracto metanólico de bayas de *Sambucus nigra* L se estudió por sus actividades antibacterianas *in vitro* mediante el método de dilución en agar. El extracto de baya inhibió el crecimiento de *Bacillus subtilis*, *Staphulococcus aureus*, *Pseudomona aeuriginosa*, *Salmonella Typhi* y *Escherichia coli*. También el crecimiento de *Candida albicans* fue inhibido por el extracto crudo de bayas de *Sambucus nigra*. La concentración inhibitoria mínima del extracto varió de 0,625 a 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$. El análisis fitoquímico del extracto crudo de esta planta medicinal reveló la presencia de antocianinas, vitaminas A y C, así como una buena fuente de calcio, hierro y vitamina B6. También contiene esteroides, taninos y aceites esenciales y se puede considerar como un alimento saludable. Sin embargo, se necesita más evidencia para sostener cualquier reclamo relacionado con sus valores medicinales. Los resultados del presente estudio sugieren que *Sambucus nigra* L. puede usarse en el tratamiento de enfermedades causadas por los organismos de prueba. También se puede usar como un fuerte conservante de alimentos. Este trabajo guardo relación con la investigación ya que los investigadores realizaron la actividad antibacteriana del extracto de *Sambucus nigra* L.

Por otra parte, Ramírez R, Mojica D, Espitia M. (2015). En un estudio titulado: Actividad antibacteriana de extracto de plantas provenientes del área rural de Soracá contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Su objetivo es: Evaluar la actividad antibacteriana de extractos metanólicos y diclorometánicos de plantas (reportadas por la población rural de Soracá-Colombia como tratamiento empírico para las infecciones) contra SARM. Se utilizaron siete plantas para este estudio. También se seleccionó según la entrevista la parte de la planta a utilizar para los ensayos de actividad antimicrobiana. Las plantas reportadas fueron: caléndula (hojas y flores), Hinojo (hojas), Malva (hojas), Llantén (hojas), Sauco (hojas), Haba (hojas) Y hierba mora (frutos). De los 16 extractos probados seis inhibieron al SARM en concentración de 10 mg/mL. Tales extractos tuvieron acción inhibitoria a 125 mg/mL. En lo que se concluyó que los seis extractos de las plantas que tuvieron acción inhibitoria frente a SARM son fuentes potenciales de moléculas que deben ser estudiadas más a fondo con el fin de aportar al estudio de posibles alternativas contra la resistencia bacteriana.

Más tarde, Rodríguez, Zarate y Sanchez (2017) en un trabajo titulado actividad antibacteriana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia, cuyo objetivo fue evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas *Bauhinia* sp., *Sambucus nigra*, *Eichhornia crassipes* y *Taraxacum officinale* frente a patógenos de importancia clínica. La metodología incluyó análisis fitoquímico y se separaron las fracciones por cromatografía en capa fina. Los microorganismos utilizados fueron *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* con presencia de KPC, *Providencia rettgeri* con presencia de ESBLs, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* β -lisina y *Candida albicans*. En los resultados se permitió comprobar la presencia de flavonoides, terpenos, saponinas, fenoles, quinonas y alcaloides que han sido reportados con actividad antimicrobiana. En los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana se encontró que los extractos presentaban diversos grados de inhibición frente a los

microorganismos de estudio, siendo el más eficaz los tallos de *T. officinale*. En donde concluyeron que los extractos vegetales podrían ser una alternativa de tratamiento para infecciones nosocomiales.

En el mismo año Agalar y col (2017), en un artículo titulado: Los componentes Volátiles aceite esencial y extractos de las flores de *S. nigra*. En este escrito, los autores se propusieron mostrar los compuestos de extracto hexanólico y aceite esencial de las flores del saúco cultivadas en Kutahya, Turquía. Empleando el método de microextracción en fase sólida (HSSEPM), para atrapar los componentes volátiles en el extracto de hexano de las flores del saúco secas. Los componentes volátiles en el aceite esencial de las flores de saúco fueron aislados por CG y CG-EM, simultáneamente. En el extracto de hexano identificaron 30 compuestos volátiles que representan el 84,4 % de la muestra, óxido de *cis*-linalol (27,3 %) y hexanona (10,5 %), son los componentes principales del extracto de hexano. En el aceite esencial los compuestos volátiles identificados fueron 55 que representan el 90,4 % del aceite, heneicosano (18,8 %), tricosano (17,3 %), nonadecano (13 %) y pentacosano, fueron los componentes principales del aceite. Por tal razón esta publicación guarda relación con este escrito, ya que nos permitirá corroborar los componentes del extracto hexanólico de las flores de *S. mexicanus*.

Antecedentes Históricos

La historia de las plantas medicinales inició desde el hombre se encontraba a nivel nómada y recolector, antes de lograr una condición social y cultural más compleja, este tuvo que acudir a lo que la naturaleza le brindaba y a través del método de ensayo y error, logró seleccionar lo que poseía, una acción real o imaginaria para sanar o aliviar las sensaciones extrañas que le impedían efectuar armónicamente sus actividades cotidianas (Rodríguez, 2008).

Las plantas de saúco son conocidas por los humanos desde los tiempos del Neolítico. Se recolectaban sus frutos, hojas, corteza y rizomas para ser consumidos como

alimento o empleados en la preparación de compuestos medicinales (Verberic y cols., 2009).

Según Font (1990), el sauco es una planta muy apreciada desde la antigüedad por sus grandes virtudes alimenticias y medicinales, que el hombre se ha encargado de expandir por todo el mundo. La palabra *Sambucus* es mencionada por Plinio, quien señala que los instrumentos musicales más sonoros eran elaborados con la madera de la planta del Sauco.

En la religión cristiana se comenta que fue en el árbol del sauco donde se colgó Judas y que inclusive la cruz del calvario estaba creada de madera del árbol del sauco (Font Quer, 1990).

La especie *Sambucus mexicanus* es originaria de Europa, noroeste de África y sudoeste de Asia, se introdujo en América, donde se encuentra desde México y Costa Rica hasta Argentina (Sánchez y col., 2010). En Colombia es altamente cultivada entre 1000 y 3000 msnm en bosques pre montañosos y montañosos (Alzate y col., 2013) En Sicilia ahuyentaban las víboras con él. En la baja Bretaña, cuando limpiaban las camas de las vacas, usaban el sauco para alejar los sapos, las serpientes y las salamandras y toda mala suerte que afectaba al hombre. El fruto de sauco es aprovechado como un alimento, desde los tiempos neolíticos, debido a que lo usaba para la elaboración de vinos. Los españoles lo llevaron al nuevo mundo, donde se halla aclimatado en numerosos países. Incluso en las alturas de los andes, donde el clima es favorable a tantas plantas europeas (Font Quer, 1990). El nombre del género *Sambucus* proviene del término sambuca, antiguo instrumento musical muy utilizado por los romanos y fabricado con la madera de esta especie. La palabra nigra se refiere al color negro de los frutos maduros (Fonnegra y Jiménez, 2006).

Bases Teóricas

Taxonomía

Dominio: Eukaryota.

Reino: Plantae.

Filum: Spermatophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Orden: Dipsacales.

Familia: Adoxaceae.

Género: *Sambucus*.

Especie: *Sambucus mexicana*

(Boluda, 2013)



Figura N°1. Planta de la especie *Sambucus mexicana*

Descripción de Familia Adoxaceae

Familia cosmopolita, principalmente representada en Europa y América del Norte. Solo se han descrito 4 géneros en centro América y sur América en las zonas subtropicales y tropicales. Adoxaceae está formada por setos o árboles pequeños, con hojas opuestas simples, o imparipinnadas, con las estipulas modificadas en nectarius extraflorales; en forma acampanadas o tubuladas, frecuentemente fragantes y por sus frutos bayas o drupas (González, 2009).

Descripción de *Sambucus mexicana*

El sauco es un arbusto de 2 a 4 m. de altura, sus hojas son compuestas y opuestas de figura entre ovaladas y lanceoladas y miden de 5cm a 8 cm de longitud. Son muy flexibles. Tienen un borde regularmente aserrado, (Reynel y Marcelo, 2009). Sus flores tienen la corola de 4 a 5 mm de diámetro, y forman una estrellita de cinco puntas que se desprenden y se caen con facilidad. El fruto es una baya de forma globosa, jugosa y comestible (Abella, 2000) de color negro cuando alcanza su

completa madurez (Font Quer, 1990) y azul, lila o violeta en estado inmaduro (Abella, 2000). Tienen de 3 a 6 semillas cada uno (Reynel y Marcelo, 2009). Las ramas presentan el desarrollo de una médula, abundante y muy blanca (Font Quer, 1990).

Nombres comunes

En el presente cuadro se presentan los nombres comunes según los países se encuentran:

PAIS	NOMBRE COMUN
Alemania	Flider, Holunder, Schwarzer Holuder
España	Saúco, Saúco Negro, Sabugo, Canillero
Francia	Grand Sureau, Sambuquier, Sue, Sureau
Inglaterra	Black Elder, Bour Tree, Elder, Elder Berry, European Elder, Piper Tree
Italia	Nebbi, Sambrugo, Sambuco, Saúgo, Savucu, Zambuco
Portugal	Biateiro, Sambuguiero, Saúgu
Colombia	Saúco, Tilo, Canillero, Layán y Rayán

Tabla N° 1. Nombres comunes del sauco según el país. Tomado y modificado de Fonnegra y Jiménez, 2006 ;Sánchez y col., 2010.

Especies comunes del género *Sambucus*

De acuerdo a informaciones obtenidas de distintas fuentes, las especies más estudiadas han sido *Sambucus nigra*, *Sambucus peruviana*, *Sambucus mexicana*, *Sambucus candensis*. En nuestro país, las especies mas conocidas son:

Sambucus canadiensis

Árbol o arbusto de 3 - 8 m de altura, fuste de 10 - 20 cm de diámetro, frondoso de copa globosa; las raíces más superficiales son capaces de emitir brotes aéreos; y follaje desfoliado en invierno, en el período de un año, la especie alcanza su porte arbóreo. Las fases de floración y fructificación se dan entre los meses de septiembre a febrero y enero a julio, respectivamente (Galindo, 2003).

Sambucus mexicanus

Árbol o arbusto pequeño de 2 - 4 m de altura de tronco torcido, frondoso, copa globosa, follaje siempre verde y presenta floración durante todo el año. Tiene ramas principales desde la base y la corteza externa del tronco es áspera (Galindo, 2003). Además, esta especie, requieren de podas para dirigir su crecimiento y formación de estructura; tronco susceptible a la rotura porque la madera es débil; normalmente resistente a las plagas (Gilman y Watson, 1994).

Sambucus peruviana

La especie *Sambucus peruviana* está representada por árboles o arbustos, normalmente de 3 a 6 metros de altura, llegando a alcanzar los 12 metros cuando se encuentra en buenas condiciones, presenta un diámetro máximo de 40 cm, copa globosa, frondoso, fuste recto y robusto, a veces se encuentra torcido, follaje siempre verde claro y con flores blancas, sus tallos tiernos son poco resistentes debido a una medula esponjosa; a medida que la planta envejece, el fuste se endurece de tal manera que constituye una madera más fuerte y utilizada en construcciones rurales (Pretell y col. 1985).

Composición Química del sauco (*Sambucus mexicanus*)

Entre las sustancias constituyentes del saúco, están los aceites volátiles y fitoesteroles (Cruz y col. 2011). La flor del sauco contiene pequeñas cantidades de una esencia de consistencia grasosa, colina, materias tánicas y resinosas, azúcares,

mucilago, así como los ácidos málico, valeriánico y tartárico, y un glucósido nitrílico. En las hojas se encuentra un glucósido, la sambunigrina, que por medio de un fermento parecido a la emulsina, produce glucosa, aldehído bencílico y una cierta cantidad cianhídrico. En la corteza también existe en mismo alcaloide de las hojas, la sambucina, el cual no ha sido estudiado todavía, y fitosterina, ácido resínico, flobafeno, materias tánicas, los ácidos esteáricos y mirístico, con otras sustancias no muy bien conocidas aun. Finalmente los frutos contienen alrededor de un 80 % de agua, pentosanas, azúcar invertido, un poco de aceite de saúco, proteínas, ácido málico, tanino, etc. Cuando no han llegado a completar su madurez, contiene también el mismo glucósido protector de cianhídrico (Figura 2) (Font Quer, 1990). Las flores presentan principios activos como ácido ascórbico, rutina, sitosterol, sambunigrina. Los frutos maduros son ricos en vitaminas y minerales (Pahlow, 1985).

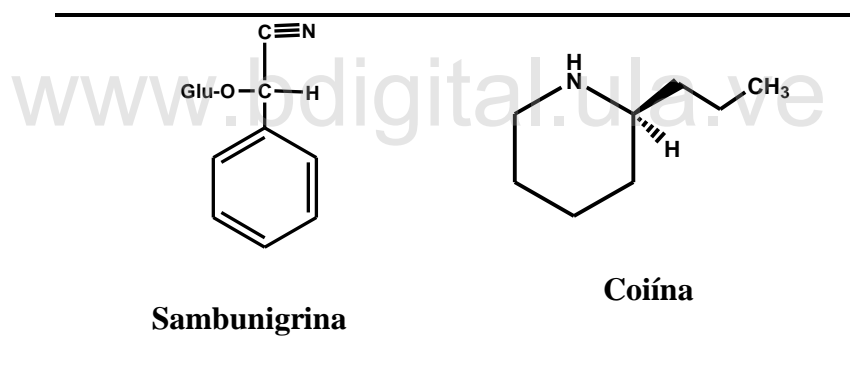


Figura 2. Algunas estructuras de la composición química del *Sambucus mexicanus*

Usos de *Sambucus mexicanus*

Usos tradicionales

El sauco es una planta con alto contenido de azúcar importante para tener en los huertos y proporcionar sombrero tenue a los cultivos (Fonnegra y Jimenez, 2006), al igual que se cultiva como planta ornamental y medicinal en climas templados y fríos (Alzate y col, 2013).

La madera de saúco es dura y resistente, cuando proviene de árboles maduros, se utiliza como soporte de umbrales de casas de adobes, mangos de herramientas, leña y cercos (Pretell y col. 1985). El fruto es procesado industrialmente en forma de mermeladas, licores, yogurt, jaleas, jugos, refrescos, proporcionándole valor agregado y ganancias al poblador rural (Galindo, 2003).

Los ratones, topos y sabandijas son repelidos por hojas en cultivos (Fonnegra y Jiménez, 2006; Abella, 2000). De igual manera, quemadas son insecticida, mientras que la infusión se usa como repelente de mosquitos y rociada sobre las plantas sirve como protección contra los pulgones y las orugas (Sánchez y col., 2010).

Usos medicinales

El saúco contiene diferentes compuestos químicos, que proporcionan numerosas propiedades terapéuticas y profilácticas por lo que se describe a esta planta como “un botiquín completo” (Sánchez y col., 2010). Las flores y las hojas son las partes de la planta usualmente más utilizadas para uso medicinal (Díaz, 2003).

En las flores se encuentran principios activos que poseen propiedades antiinflamatorias y se prescriben en problemas reumáticos, dolores musculares, inflamaciones respiratorias, infecciones y gastritis (Pahlow, 1985). Sus flores son preparadas en infusión para la tos (Font Quer, 1990). Se considera que la infusión de

estas es usado para alteraciones nerviosas como el insomnio, la migraña, los dolores de cabeza (Fonnegra y Jiménez, 2006).

Las hojas tienen uso externo de piel y ojos, y como infusión (Laffita y Castillo, 2011) es utilizado como sudorífico y un calmante de la tos (Font Quer, 1990). En cocción, se usa para hematomas, contusiones, torceduras y otras alteraciones de la piel como heridas, quemaduras, inflamaciones, escaldaduras, eczemas, neuralgias, urticaria, forúnculos y hemorroides (Fonnegra y Jiménez, 2006). Las hojas poseen glucósidos cianogénicos, que pueden producir la muerte al hidrolizarse en el tracto gastrointestinal (por liberación de cianuro) (Grajales y col, 2015).

Los frutos en combinación con otras bayas del bosque son consumidos como suplemento alimenticio dado su carácter antioxidante y diurético (Walz y Chrubasik, 2008). El zumo de las bayas se ha utilizado como purgante y se consume como compota contra la tos y los resfriados (Pahlow, 1985), combinado con limón y miel de abejas para la constipación, dolor de garganta, gripes y bronquitis. Frescos y maduros se usan como laxantes y adelgazantes; También se utilizan para la elaboración de vinos y junta a la corteza es útil para la hidropesía (Font Quer, 1990).

En lociones y compresas contra las machas del rostro de las embarazadas, En enjuagues, para combatir las inflamaciones de las encías; en compresas, para detener la erisipela. (Font Quer, 1990). Purifica la sangre, elimina las impurezas de la piel y el mal olor corporal (Pahlow, 1985).

La corteza es purgante y estimulante hepático, emético, diurético y en uso tópico emoliente y al igual que la raíz se utiliza como diurética y emoliente (Fonnegra y Jiménez, 2006).

El saúco posee una serie de proteínas características de las plantas, como las lectinas y las proteínas inactivadoras de ribosomas, las cuales son proteínas estructurales, que han sido estudiadas particularmente por su interés para aplicaciones en la biomedicina, (Loaces, 2003). Por lo que en la actualidad se ha descrito sustancias

que activan eficazmente el receptor nuclear PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor) que estimula la captación de glucosa dependiente de la insulina, esto abre la posibilidad de su utilización en la prevención y el tratamiento de la resistencia a la insulina (Christensen y cols, 2010).

El saúco reduce la secreción excesiva de mucosidad en los senos paranasales en pacientes con sinusitis causada por bacterias. Otro beneficio medicinal es su capacidad hipocolesterolemica y que el jugo de las bayas en ocasiones ha disminuido la concentración sérica de colesterol e incrementado la estabilidad de las lipoproteínas de baja densidad (Laffita y Castillo, 2011).

Lopez y col (2016), en un estudio realizado en ratones demostraron que los extractos hidroalcoholicos al 30 y 70 % presentan efecto mucolitico siendo más efectivo en alcohol al 70 %.

Toxicidad del Sauco (*Sambucus mexicana*)

Las hojas y la corteza deben usarse con precaución, se han observado en ocasiones irritaciones en el estómago y el intestino. Por lo que a dosis altas, cualquier preparado de las hojas, produce sofocación, diarrea, dolor de cabeza, abundante sudoración y respiración entrecortada y sibilante (Fonnegra y Jimenez, 2006). Las bayas inmaduras no deben comerse porque son ligeramente toxicas. El jugo cocido es muy recomendable, pero crudo ocasiona a veces nauseas, vómitos y diarrea (Pahlow, 1985). La Corteza no debe emplearse durante el embarazo, ya que es un purgante muy fuerte (Ody, 1993).

Metabolitos secundarios

Entre los compuestos orgánicos podemos mencionar tanto a los metabolitos primarios que se encuentran relacionados con el metabolismo esencial celular, como los metabolitos secundarios que son los responsables de la actividad terapéutica (Carrion y Garcia, 2010).

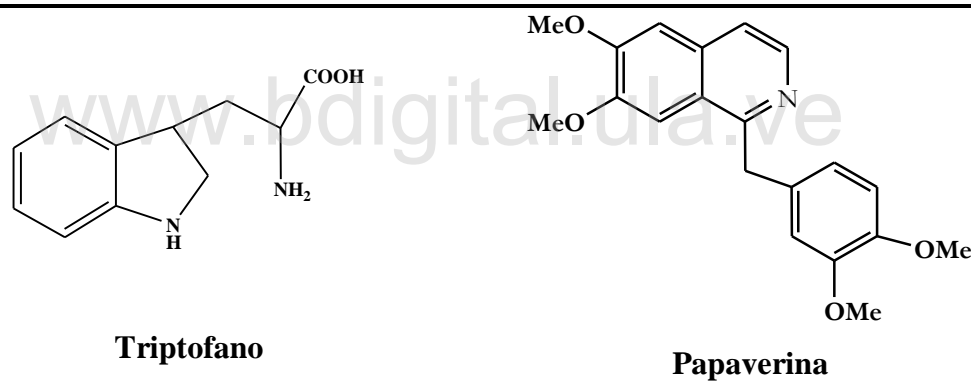
El metabolismo secundario de las plantas es originado en las rutas metabólicas básicas, dando lugar a una diversidad de compuestos algunos de estos son responsables de olores, colores de los vegetales, otros son responsables de virtudes culinarias, medicinales o venenosas. Estos son acumulados en grandes cantidades en las células vegetales o suelen ser excretados fuera de éstas (Carrion & Garcia, 2010).

Los metabolitos secundarios más importantes extraídos de plantas son:

Alcaloides:

Son compuestos básicos nitrogenados heterocíclicos, constituidos por uno o más átomos de carbono que posee un mecanismo de acción mediante la interacción entre la pared celular y el ADN del microorganismo (Aricapa, 2009).

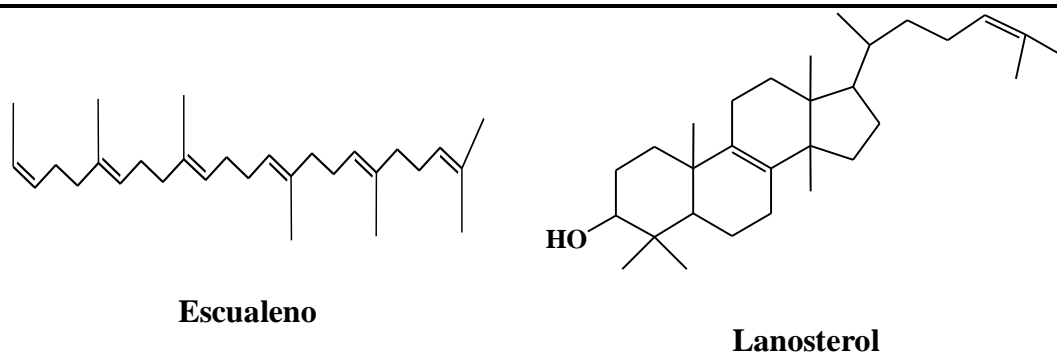
Figura N° 3. Algunos alcaloides presentes en especies vegetales.



Triterpenos:

Son un tipo de grasas no saponificables que se forman por unión de varias unidades de isoprenos (Coy y cols, 2014), y pueden descomponerse a altas temperaturas (Carrion y García, 2010). Constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios, ya que la ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios que son de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas (Avalos y Pérez, 2009).

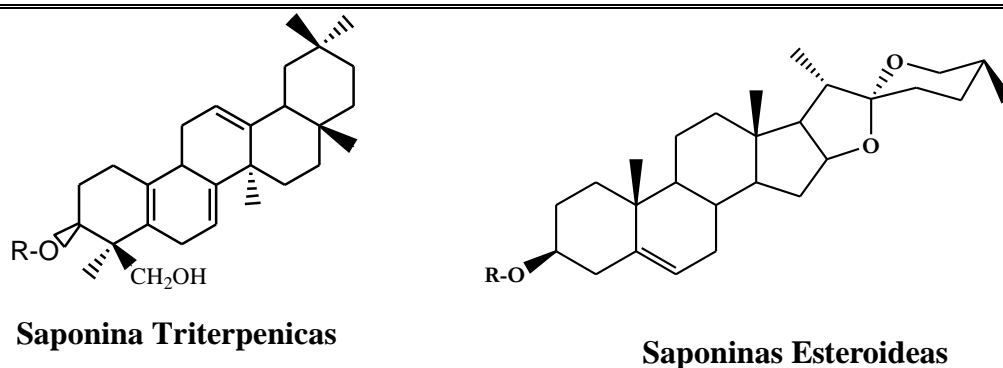
Figura N° 4. Algunos Triterpenos identificados en especies vegetales.



Saponinas:

Su nombre se debe a sus propiedades jabonosas. Son estructuras formadas por una parte glucosídica y una parte no glucosídica (aglicón) (Carrion y García, 2010).

Figura N° 5. Algunos tipos de Saponinas presentes en Especies Vegetales

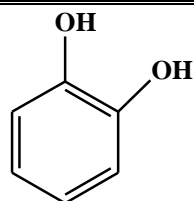


Compuestos Fenólicos:

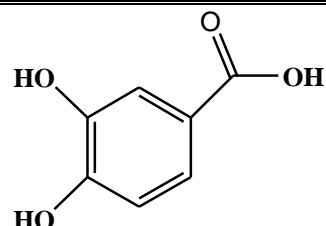
Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo hidroxilo en un anillo aromático, que les confiere una estructura fenólica

(Carrion y García, 2010). La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina (Avalos y Pérez, 2009).

Figura N° 6. Algunos Compuestos Fenolicos identificados en Especies Vegetales.



Catecol

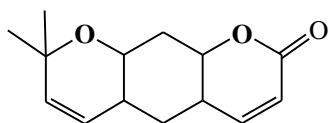


Ácido Galico

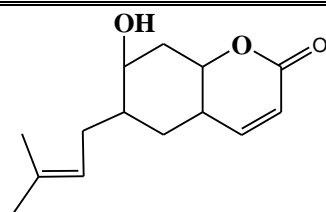
Cumarinas:

Son una amplia familia, que actúan como agentes antimicrobianos y como inhibidores de germinación (Avalos y Pérez, 2009). Según Carrion y Garcia, 2010 son derivados de la benzo-a-pirona, muchas de ellas son fenólicas, por lo que se incluyen dentro de los compuestos fenólicos.

Figura N° 7. Algunas Cumarinas presentes en especies vegetales.



Xantiletina



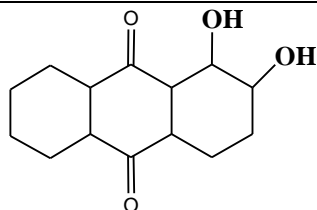
Suberosina

Quinonas

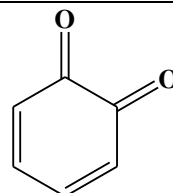
Son compuestos aromáticos con dos grupos cetona insaturadas que por un proceso de reducción cambian a polifenoles (Carrion y García, 2010). Gozan de una alta

reactividad, formando complejos con los aminoácidos hidrofílicos de la proteína, en su mayoría, inactiva la proteína logrando anular su función (Aricapa, 2009).

Figura N° 8. Algunas Quinonas identificados en especies Vegetales.



Alizarina

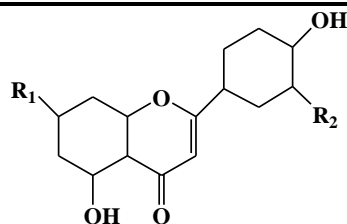


m-Benzoquinona

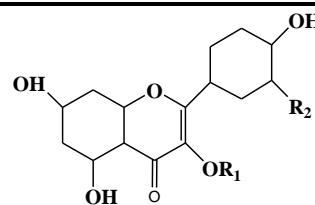
Flavonoides

Contiene 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos. De acuerdo a su grado de oxidación se puede clasificar en antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas. Sus principales funciones son la defensa y la pigmentación de la planta. Las antocianinas son flavonoides pigmentados responsables de la mayoría de los colores de las flores y los frutos (Avalos y Pérez, 2009).

Figura N° 9. Algunos tipos de Flavonoides presentes en Especies Vegetales.



Flavonas



Flavonoles

Extractos

Derivados de material vegetal desecado, generalmente concentrado de consistencia sólida, líquida o intermedia, se obtienen al evaporar parcial o totalmente el disolvente

en los líquidos extractivos de origen vegetal. Los extractos según su consistencia y concentración de principio activo se clasifican en: extractos fluidos, secos, blandos y los crioextractos (Carrion y García, 2010).

Extractos Fluidos

Son sustancias con concentraciones determinadas de etanol, están preparados de forma que una parte de droga corresponde a una parte o dos partes del extracto fluido; teniendo en cuenta que 85 partes de droga seca corresponden a 100 partes de planta fresca. (Voigt, 1982)

Extractos Firmes

Su característica especial es la de no adherirse a los dedos, se asemeja con la masa que se fabrican las píldoras (Barreto, 1997)

Extractos Secos

Los extractos secos son aquellos que tienen una consistencia seca y son fácilmente pulverizables, se obtienen por evaporación del disolvente y desecación del residuo. Los extractos secos no deben presentar un contenido de humedad mayor del 5 % (Voigt, 1982) Presentan una concentración muy superior de principio activo que la droga original, son preparados bastante estables y de fácil manipulación; como líquido extractor se utiliza alcohol de diversa concentración y agua (Carrion y García, 2010).

Extractos Blandos

Tienen consistencia semisólida y las concentraciones de sus principios activos son superiores a la de la droga original. El disolvente suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas. Los extractos blandos son poco estables y resultan difíciles de manipular; por lo que se usan poco (Carrion y García, 2010).

Crioextractos

Se obtiene por la molienda de la droga vegetal correctamente desecada, sometida a congelación (-196 °C), a través de la inyección de nitrógeno líquido, de forma que los principios activos no se verán modificados por la acción del calor desprendido en un proceso de molienda y que dependiendo de la droga vegetal, puede llegar a ser hasta 70 °C (Castillo, 2007). Los crioextractos resultan muy caros, pero son muy útiles para la obtención de proteínas y enzimas de ciertas especies (Carrion y García, 2010).

Análisis Químico de los Extractos Vegetales

Screening Fitoquímico

Las mismas consisten en elegir el solvente adecuados para la extracción de la planta de esa manera lograr una reacción de color y precipitación, la cual únicamente constituye una orientación que debe ser interpretada (Calixto, 2006). Entre ellas tenemos:

Alcaloides: El extracto seco es retomado con HCL al 10%, se mezcla y se filtra. La fase acuosa es tratada por separado con los reactivos de Meyer, Dragendorff y Acido yodoplatinico, débilmente básicos y sales cuaternarias de amonio (Albornoz, 2001). Los resultados son registrados como abundante (+++), moderado (++) , escaso (+), negativo (-) (Domínguez, 1973).

Flavonoides: La reacción de Shinoin consiste en desengrasar el extracto con éter de petróleo. La sustancia alcohólica es tratada con trozos de Mg y con HCl, la aparición de una coloración roja al dejar reposar por 15 min indica la presencia de estos componentes (Albornoz, 2001).

Taninos y compuestos fenolicos: Estos compuestos son detectados por una coloración parda que se produce en presencia de cloruro férrico al 1% (Marcano, 2001). Si luego tratamos el extracto crudo con solución al 1% de gelatina en cloruro de sodio. Al producirse un precipitado hay presencia de taninos (Albornoz, 2001).

Antraquinonas: El extracto seco es tratado con KOH al 0,5 N, se filtra, se acidifica y se mezcla con Benceno. La Capa orgánica se alcaliniza con hidróxido de amonio y debe aparecer una coloración roja si hay antraquinonas presentes (Albornoz, 2001).

Glucósido cianogénéticos: Se le agregan unas gotas de cloroformo al material fresco macerado y se calienta en un tubo cerrado a una temperatura de 50-70 °C. Los vapores desprendidos son puestos en contacto con un papel de filtro impregnado con ácido pícrico en carbonato de sodio al 10 %. Al cabo de 2 horas debe aparecer una mancha roja sobre el papel (Albornoz, 2001).

Saponinas: El extracto se disuelve en agua y luego se agita vigorosamente por 3-5 min. La aparición de espuma con apariencia de panal de abeja por uno 30min, se considera prueba positiva (Domínguez, 1973).

Cumarinas: en general, las cumarinas tienen fluorescencia azul cuando se les expone a luz ultravioleta, solo aquellas que tienen el oxígeno en la posición 7, presentan una fluorescencia verde cuando son tratados con ácido sulfúrico (H₂SO₄). Las cumarinas que tiene hidroxilo fenólico pueden copularse con las sales de diozonio derivadas del ácido sulfanílico o la p-nitronilina dando compuestos coloridos (Dominguez, 1973).

Técnicas Cromatografías

Son técnicas que se fundamentan en la separación de sustancias que se encuentran presente en una mezcla compleja, entre dos fases inmiscibles, una móvil y otra estacionaria. Las moléculas pertenecientes al soluto de la mezcla son retenidas por la fase estacionaria y arrastradas por la fase móvil, de modo que, si los componentes de la mezcla presentan unidades diferentes por algunas de las fases, sus velocidades medias de avance a lo largo del sistema serán diferentes. Entre ellos podemos mencionar:

- Cromatografía de gases
- Espectrometría de masas
- Cromatografía de Gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) (Lopez, 2008).

Cromatografía de Gases (CG)

La cromatografía es un procedimiento físico de separación basado en la repartición de la muestra en dos fases. Una fase estacionaria sumergida dentro de una columna. Esta es la fase estacionaria puede ser un sólido o una delgada película líquida que recubre al sólido. Y una fase móvil que consiste en un gas o un líquido que se encuentra junto a la fase estacionaria (López, 2008).

En la cromatografía de gases, la fase móvil es un gas inerte, su separación se basa en las diferencias en los puntos de ebullición y la temperatura de la columna. En la cromatografía de gases, la fase móvil se denomina gas transportador, ya que es un gas inerte cuya finalidad es transportar las moléculas de la muestra a través de la columna. Los adsorbentes, tales como carbón vegetal, gel de sílice y tamices moleculares, son las fases estacionarias en la CG de fase sólida. Esta se utiliza principalmente para la separación de gases ligeros. Los líquidos orgánicos de alto punto de ebullición constituyen la fase estacionaria de la CG de fase líquida. La fase líquida se extiende como una película delgada sobre un sólido inerte llamado soporte sólido. La base para la separación es la partición de la muestra dentro o fuera de esta película líquida. Si se puede encontrar una fase líquida que tenga solubilidad selectiva para dos compuestos, entonces estos dos pueden separarse mediante cromatografía de gases (López, 2008).

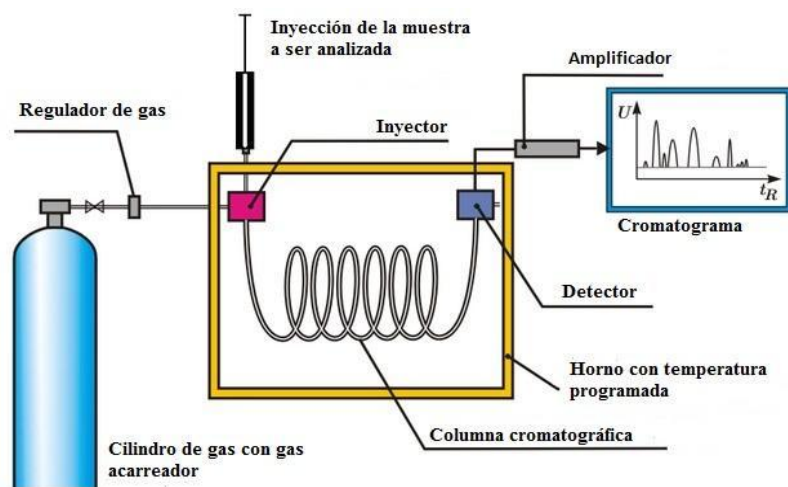


Figura N° 10. Representación del Cromatografo de Gases. *Fuente: No machine-readable author provided. Dz. assumed (based on copyright claims).*(<http://www.gnu.org/copyleft/fdl.html>), via Wikimedia Commons

Espectrometría de Masas:

Es la de mayor aplicación ya que es capaz de proporcionar información sobre:

- La composición elemental de las muestras
- La estructura de las moléculas inorgánicas, orgánicas y biológicas.
- La composición cualitativa y cuantitativa de las muestras complejas.
- La estructura y composición de superficies sólidas.
- Las relaciones isotópicas de átomos de las muestras.

El análisis por este método implica la transformación de los componentes de una muestra en iones gaseosos que se mueven rápidamente y se separa en función de su relación masas-carga (Skoog y col 2001).

Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas (CG/EM):

Esta técnica se ha convertido en una de las herramientas más poderosas por su exactitud, sensibilidad y reproducibilidad para el análisis de muestras orgánicas y bioquímicas complejas. Se fundamenta en la separación de compuestos volátiles dependiendo de sus puntos de ebullición. Al llegar al revelador, las moléculas del análisis son bombardeadas por electrones, rompiendo enlaces (en ocasiones no ocurre) y formando fragmentos más estables (Figura 11) (López, 2008).



Figura N° 11. Cromatografo de gases acoplado a un Espectrómetro de masas (CG-EM). Hewlet Parckard MSD modelo 5973.

Bacterias

Son microorganismos unicelulares con estructuras simples, sin Membrana nuclear, Mitocondrias, aparato de Golgi ni Retículo Endoplasmico que se reproducen por división asexual. Algunas bacterias carecen de pared celular y compensan su ausencia estando dentro de la célula del hospedador (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2017).

Las Bacterias de acuerdo a la Tinción de Gram se clasifican en: Bacterias Grampositivas y Bacterias Gramnegativas

Bacterias Grampositivas

Poseen una pared celular gruesa que consta de varias capas y está formada principalmente por Peptidoglicano que rodea toda la célula. El peptidoglucano es una membrana porosa que permite el paso de metabolitos a través de la membrana plasmática. La pared celular también posee otros componentes como proteínas, ácido teicoico, lipoteicoicos y polisacáridos complejos (Figura 12) (Murray y col, 2017).

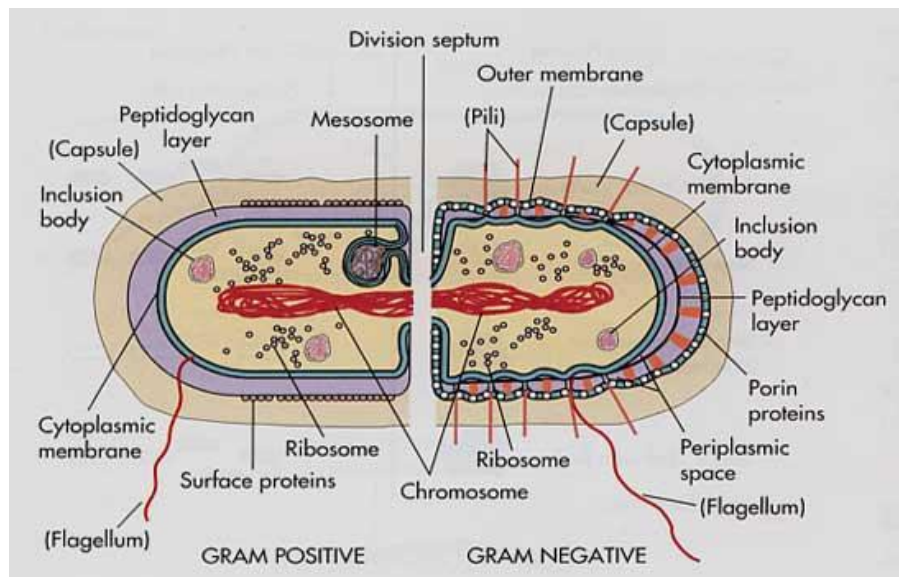


Figura N° 12. Diferencias en la estructura de la pared celular entre microorganismos Gram positivos y Gram negativos. Disponible en:

<http://biologiamedica.blogspot.com/2010/09/bacterias-gram-positivas-y-gram.html>

Bacterias Grampositivas a ensayar :

Staphylococcus aureus es un coco grampositivo causante de enfermedades mediante la producción de toxina o a través de la invasión directa y la destrucción del tejido. Las enfermedades mediadas por toxinas son: síndrome de la piel escaldada, intoxicación alimentaria, shock toxico. También produce algunas enfermedades supurativas como: impétigo (infección cutánea localizada que se caracteriza por la presencia de vesículas rellenas de pus sobre una base eritematosa), foliculitis, forunculos, carbuncos, bacteremia, endocarditis, neumonía y empiema, osteomielitis, artritis séptica (Tortora y col 2007).

Enterococcus faecalis Son cocos Gram positivos en forma de pares o de cadenas cortas. Son inmóviles, anaerobios facultativos, no formadores de endosporas. En agar sangre se observan colonias pequeñas opacas y blancas, suelen presentar hemólisis o no. Son catalasa negativos o, más comúnmente, débilmente positivos. Usualmente fermentan la lactosa. Son exigentes nutricionalmente (Díaz y col, 2010).

Bacterias Gramnegativas

Son más complejas, debido a que su pared celular contiene dos capas en el exterior de la membrana citoplasmática. La pared celular no contiene ni ácidos teicoicos ni lipoteicoicos y solo contiene un pequeño porcentaje de capa de peptidoglucano. En la parte externa de la capa de peptidoglucano se encuentra la membrana externa que es propia de las bacterias Gram negativas. El espacio periplásmico es el que está comprendido entre la superficie externa de la membrana citoplasmática y la superficie interna de la membrana externa (Figura 11) (Murray y col, 2009).

Bacterias gramnegativas a ensayar:

Escherichia coli es un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, fermentadores, oxidasa negativos. Poseen un lipopolisacárido que consiste en un polisacárido externo somático O, un núcleo polisacárido (antígeno común) y el lípido A (endotoxina). Al menos cinco grupos patógenos pueden producir gastroenteritis ECET, ECEP, ECEA, ECEH, ECEI; la mayoría produce infecciones en los países en vía de desarrollo, aunque ECEH es una causa importante de colitis hemorrágica (CH) y de síndrome hemolítico urémico (SHU) (Tortora y col 2007).

Klebsiella pneumoniae son Bacilos Gram negativo de la familia de las *Enterobacterias*, anaerobia facultativa, inmóvil y usualmente encapsulada, se encuentran ampliamente esparcida en el ambiente; en los seres humanos coloniza la nasofaringe y el tracto gastrointestinal (Echeverri y Castaño, 2010).

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram negativo, móvil por la presencia de flagelos polares, es aerobio obligado, produce endotoxinas, fermenta la glucosa y producen colonias mucoides. En un medio de agar sangre, las colonias presentan un brillo metálico (Esnard y Díaz, 1997). Algunas de las enfermedades que puede causar incluyen infecciones respiratorias, urinarias, de piel y tejidos blandos, oculares, auditivos y también bacteremias y endocarditis (Murray y col, 2009).

Técnicas para Determinar la Actividad Antibacteriana

Para la evaluación y valoración de la actividad antibacteriana de una sustancia de origen vegetal se utilizan diversos métodos, los cuales se rigen de acuerdo a las técnicas de ensayo, el método de cultivo, material biológico y vegetal (Janssen, 1987)

A. Pruebas de difusión en agar. Sobre una superficie de un medio con agar se extiende una concentración estandarizada de bacterias, seguidamente se colocan discos o tiras de papel filtro impregnadas con el antibiótico o sustancia orgánica sobre la superficie del agar. Tras incubado toda la noche se observa el área de inhibición del crecimiento que rodea las tiras o discos, esto se debe a que el antibiótico produce un gradiente de concentración. el tamaño del área de inhibición se corresponde con la actividad del antibiótico, de forma que cuanto más ancha es la zona que rodea al disco más sensible es el microorganismo (Murray y col, 2009).

B. Prueba de dilución en caldo se preparan diluciones seriadas de un antibiótico en un medio con nutrientes y posteriormente se inoculan una concentración estandarizada de la bacteria en estudio. Tras incubarla toda la noche, la menor concentración de antibiótico que consigue inhibir el crecimiento de la bacteria se llama la concentración inhibidora mínima (CIM) (Murray y col, 2009).



Figura N° 13. Concentración Inhibitoria Mínima. Disponible en:

[http://www.sochinf.cl/sitio/templates/sochinf2008/documentos/2014/pre_jornorte/Que debemos saber del ATB.pdf](http://www.sochinf.cl/sitio/templates/sochinf2008/documentos/2014/pre_jornorte/Que%20debemos%20saber%20del%20ATB.pdf)

Resistencia Bacteriana

Las bacterias han perfeccionado varios mecanismos para resistirse a la acción de los antibióticos, el primero de ellos es por la colocación una especie de bomba expulsora que comúnmente usan las bacterias para la excreción de productos residuales o tóxicos, con la que puede eliminar además muchos de estos agentes antibacterianos (Perez y Robles, 2013). El segundo, se realiza por medio de la disminución de permeabilidad de la pared bacteriana, con la pérdida o modificación de los canales de entrada (porinas) (Perez y Robles, 2013). El tercer mecanismo se realiza mediante la producción de enzimas inactivantes de los antibióticos. De tal forma son inhibidos los aminoglucósidos, el cloranfenicol por la acetil transferasa, y el caso más común que se refiere a las betalactamasas (Perez y Robles, 2013). Por último, un grupo de antibióticos que ejercen su acción contra las bacterias uniéndose las proteínas esenciales para la sobrevivencia de ellas, produciéndose la resistencia cuando el germen modifica la proteína diana, y modifica su función o produce enzimas distintas (Perez y Robles, 2013). De acuerdo a lo anteriormente expuesto, existen varios tipos de resistencia (Perez y Robles, 2013).

Natural o intrínseca: donde todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos, lo que les permite tener ventaja competitiva frente a otras cepas y pueden sobrevivir en caso de que se emplee ese antibiótico.

Adquirida: se produce por medio de mutaciones donde se presentan cambios en la secuencia de las bases de cromosoma, y por la transmisión del material genético extracromosómico proveniente de otras bacterias. De esta forma una bacteria es capaz de adquirir resistencia a uno o varios antibióticos sin la necesidad de haber estado en contacto.

Sistema de Hipótesis

Estudios anteriores afirman que los componentes de algunas especies de *Sambucus* presentan actividad antibacteriana, entre ellas el *Sambucus mexicanus*

En cuanto, a lo antes expuesto y tomando en cuenta que la variabilidad genética, ambiental, climática son factores que pueden variar la composición química de dichos extractos es probable que los componentes obtenidos de los extractos de las hojas, tallos y flores frescas de *Sambucus mexicanus* recolectadas en condiciones (clima, altura, y suelos) distintas, presenten variantes en la proporción de sus componentes por lo que hubo una disminución de su actividad antibacteriana.

Operacionalización de las variables

Variable	Tipo	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicador
Composición química de los Extractos hexanolicos y/o etanolico de <i>S. mexicanus</i>	INDEPENDIENTE	Son todos aquellos componente como terpenos , triterpenos, cumárinas, saponinas, que conforman los extractos de <i>Sambucus mexicanus</i> .	La composición química se obtendrá a través de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.	% de cada compuesto y su peso molecular.	Librería Wiley y NIST
Actividad Antibacteriana de los extractos hexanolicos y etanolicos de <i>Sambucus mexicanus</i>	DEPENDIENTE	Es la capacidad que tiene una sustancia de inhibir o matar a un agente patógeno.	Se determina colocando discos impregnados con el extracto hexanolico y/o etanolico de <i>S. mexicanus</i> , seguidamente se lee el antibiograma	<ul style="list-style-type: none"> • Sensible • Sensibilidad Intermedia • Resistente • No sensible 	Tamaño del halo de inhibición del crecimiento bacteriano

Tabla N° 2. Operacionalización de la Variable Independiente y Dependiente (Lozano & Aparicio, 2018)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Hurtado (2010), refirió que el tipo de investigación guarda relación con los niveles de complejidad del proceso de investigación. En tal manera que, se contemplan las acciones directas de los investigadores y dichas acciones están dirigidas a modificar el evento en algún aspecto. El tipo de investigación es evaluativa debido a que se examinarán continuamente si los objetivos que se han sido planteado serán o no alcanzados.

Diseño de Investigación

Según Fidias (2006), un objeto o grupos de individuos a determinadas condiciones es sometido a estímulos o tratamientos (variable independiente), para observar los efectos o reacciones que se producen (variable dependiente), esto se denomina diseño experimental. De acuerdo a lo antes expuesto el diseño de la investigación es experimental ya que se manejó una variable dependiente (Actividad Antibacteriana de los Extractos de *S. mexicanus*) y otra independiente (Composición Química de los Extractos Hexanólico y Etanólico de *S. mexicanus*), tomando en cuenta el lugar y tiempo de recolección de la planta, ya que pequeños cambios genéticos y de hábitat modifican cualitativa y cuantitativamente su composición.

Población y Muestra

Población.

Se refiere al conjunto de elementos de los que se desea saber algo o investigar alguna o algunas de las características (Arias, 2006). Por lo tanto la población investigada incluye el género *Sambucus*.

Muestra.

Es un subconjunto representativo de la muestra (Arias, 2006). Con respecto a la investigación, la muestra sería: las hojas, tallos y flores *Sambucus mexicana*.

Técnica e Instrumentos de Recolección de Datos

Según Arias, (2006), la observación consiste en visualizar, en forma sistémica cualquier hecho, fenómeno o situación que se produzca en la naturaleza, en función de objetivos preestablecidos. Con respecto a lo antes descrito la presente investigación estará relacionada con la observación, debido a que será percibido la presencia un halo claro alrededor de discos impregnados de cada uno de los extractos hexanólicos y etanólicos de las hojas de *S. mexicana*. Dispuesto en placas previamente inoculadas con bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*.

La lista de cotejo es herramienta en la que se va a indicar la presencia o no de un aspecto o conducta que será visualizada (Arias, 2006). En esta investigación se utilizó la lista de cotejo, por lo fue evidenciada la presencia o no de actividad antibacteriana de los extractos hexanólicos y etanólicos de las hojas de *S. mexicana*.

Sistemas de variables

Variable independiente

En este caso la variable independiente es la composición química de los extractos obtenidas a partir de las hojas de *Sambucus mexicanus*, ya que dependiendo de las concentraciones de dichos componentes puede variar la susceptibilidad antimicrobiana.

Variable dependiente

La actividad antibacteriana es una variable dependiente debido a que esta puede aumentar o disminuir de acuerdo con las proporciones de los compuestos de cada uno de los extracto de las hojas.

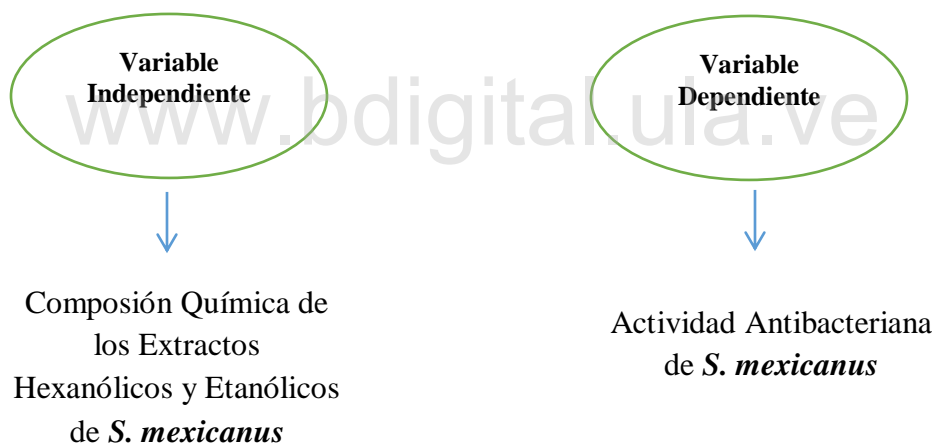


Figura N° 14. Variables Independiente y Dependiente de la Investigación

Materiales y Métodos

Recolección de la Planta

Las hojas frescas de *S. mexicanus*. se recolectaron en la localidad de Nueva Bolivia Sector Francisco de Miranda Mérida edo. Mérida; cuya planta fue identificada y examinada por el Ing. Juan Carmona. La recolección se realizó en el mes de Marzo del 2017.

Preparación Previa del Material Vegetal

La planta recolectada obtuvo un peso neto de 1350 g, el cual fue llevado a estufa a 37 °C durante 2 semanas aproximadamente.

Luego de transcurrido el tiempo de secado de la muestra vegetal fueron trituradas con un mortero de madera, posteriormente el peso obtenido es de 140,68 g (Hojas), 41,07 g (Tallos) y 7,81 g (Flores).

Obtención de los Extracto de *S. mexicanus*

Extractos Hexanolicos de Hojas, Tallos y Flores de *S. mexicanus*: El solvente usado es Hexano. En la preparación del extracto de hojas, tallos y flores de *S. mexicanus*, se usaron 100 g (hojas), 41,07 g (tallos) y 7,81g (flores) secas trituradas con 600 mL (hojas), 150 mL (tallos) y 50 mL (flores) del solvente antes mencionado. Estas mezclas fueron llevadas al sistema de reflujo durante una hora a una temperatura de 50 °C, culminada la hora se filtraron y se llevaron al Rotavapor para separar el solvente del soluto. Con el material que fue filtrado se le adiciona más solvente 100 mL (hojas), 30 mL (tallos) y 10 mL (flores) y se repite la extracción. Finalmente, se dejó reposar por aproximadamente una semana para que el solvente se evapore completamente dando como resultados 3,6 g (hojas), 0,49 g (tallos) y 0,19 g (flores) de extracto puro.

Extracto etanolico de Hojas, Tallos y Flores de *S. mexicanus*: En este procedimiento fueron utilizados el material resultante de la preparación del extracto hexanólico. En la elaboración de los extracto se usaron 100 mL (hojas), 50 mL (tallos) y 50 mL (flores) de etanol. Al igual que los extractos anteriores fueron llevados al sistema de reflujo por una hora, para luego ser filtrados y llevados a rotavapor (Figura 20). Este paso fue repetido con el material filtrado por una hora para obtener mejores resultados. Transcurrido el tiempo se deja reposar al igual que los extracto hexanolicos para obtener 11,8 g (hojas), 2,1 g (tallos) y 0,8 g (flores) del extracto etanolico puro.

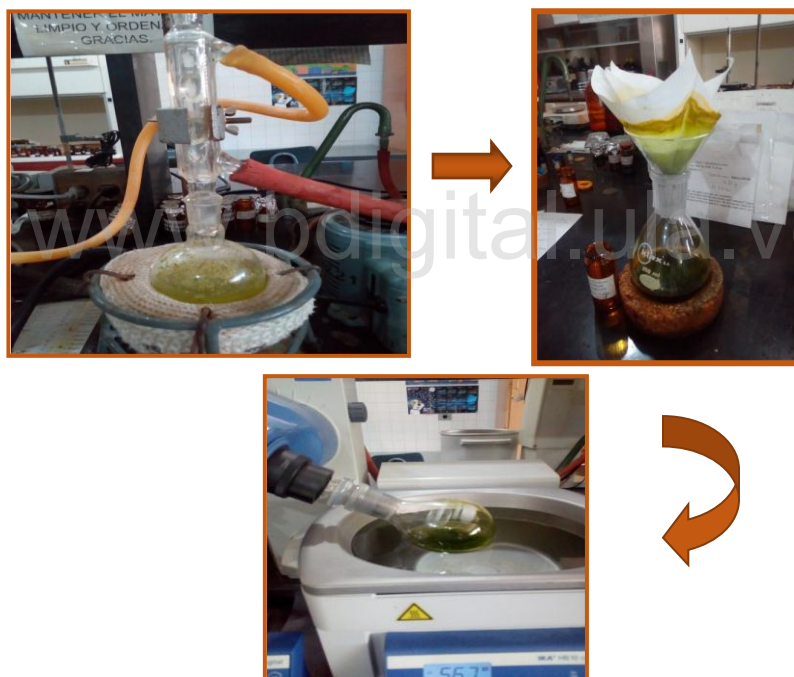


Figura N° 15. Procedimiento de la Obtención de los Extractos a través del Método a Reflujo

La obtención de los extractos fueron realizados en el laboratorio “A” de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis bajo la asesoría de la Dra. Rosa Aparicio.

Separación e identificación de los componentes de los extractos Hexanólicos y Etanólicos.

Cromatografía de Gases-Masas de los Extractos Hexanolicos de las Hojas ,Tallos y Flores: se realizó en un cromatógrafo de gases modelo 6890 acoplado a un espectrómetro de masas modelo 5973 marca Hewlett Packard (Figura 10), equipado con columna de fenil-metilpolixilosano (HP-5) de 30 m de longitud, se preparó una solución de 5 mg del extracto puro en 1 mL hexano. El programa de temperatura se realizó con una temperatura inicial de 100 °C, siguiendo con intervalos de 10 °C por minuto hasta una temperatura final de 300 °C (10 min), el tiempo de análisis fue de 40 minutos, con un split de 1:1. La identificación de los componentes de cada uno de los extractos se realizó mediante comparación computarizada de los espectros de masas obtenidos con los datos de la Librería Wiley (6ta edición) y NIST.

Screening fitoquímico de los Extractos Etanolicos de Hojas, Tallos y Flores:

A los extractos etanolicos obtenidos se le realizaron los ensayos correspondientes al tamizaje fitoquímico con el objetivo de determinar de forma cualitativa los grupos de metabolitos secundarios, teniendo en cuenta la metodología propuestas por Miranda y Cueller (2000). Los metabolitos secundarios analizados Fueron:

- **Presencia de Alcaloides:** se usaron pequeñas porciones de los extractos etanolicos de Hojas, tallos y flores de la planta *S.mexicanus*, llevándolos a Baño de María aproximadamente por 1 hora. Pasado el tiempo se le agrego 2 mL de Ácido Clorhídrico (HCL al 5 %), seguidamente se filtró y se dividió en tres tubos, por último se le agrego 3 gotas a cada tubo de los reactivos de Mayer, Dragendorff y Wagner. Este procedimiento fue realizado bajo campana de flujo laminal.
- **Determinación de Triterpenos:** el extracto fue dispuesto en un tubo seco y se le agrego diclorometano hasta cubrirlo completamente, se mezcló y se le

agrego 0,5 mL de anhídrido acético y 2 gotas ácido clorhídrico (HCL) concentrado.

- **Reconocimientos de taninos y compuestos fenólicos:** a los extractos se le adicionaron algunas gotas de cloruro férrico al 1 % para evidenciar compuestos fenólicos. Por otra parte para la identificación de taninos se usó una solución de gelatina al 1 % con agua tibia.
- **Determinación de Flavonoides:** en la ejecución de esta prueba fueron usadas ciertas cantidades de los extractos etanolicos de hoja, tallos y flores de *S. mexicanus*, agregándole 2 gotas de HCL concentrado y virutas de magnesio metalico (Reaccion de Shinoda).
- **Identificación de Saponina:** se prepararon soluciones acuosas de cada uno de los extractos y se agitaron vigorosamente durante un minuto.
- **Detección de quinonas y antraquinonas:** pequeñas porciones del extracto etanolicos de hojas, tallos y flores de *S. mexicanus*, fueran dispuestas por separado en capsulas de ceramicase, al que se le adicionó una gota de hidroxido de amonio concentrado, de tal manera se identificaron antraquinonas. Luego para la identificación de quinonas se realizo el mismo procedimiento descrita anteriormente para antraquinonas pero esta vez adicionando una gota de ácido sulfúrico (H_2SO_4).
- **Presencia de cumarinas:** cada uno de los extractos de las hojas, tallos y flores se disolvió en su solvente miscible (Etanol). Después se le adicionó una gota de hidróxido de amonio y se llevo bajo luz ultravioleta para observar si hubo fluorescencia.

Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos Hexanolicos y Etanolicos de las Hojas de *S. mexicanus*:

La actividad antimicrobiana se llevó a cabo de acuerdo con el ensayo de difusión en disco, descrita por Velasco y col. 2017. Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Actinomicetos del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo la asesoría de las Prof. Yndra Cordero, Prof. Ysbelia Obregon y la colaboración del auxiliar de Laboratorio TSU. Emilio Salazar.

Preparación de las Muestras

Se trabajó con los extractos hexanolicos y etanolicos, realizando las siguientes diluciones: 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125ppm, 62,5 ppm, 31,25 ppm, 15,62 ppm y 7,8 ppm. El solvente usado fue dimetil sulfóxido (DMSO).

Microorganismos a Evaluar

Para la evaluación de la actividad antibacteriana mediante el método de difusión en agar, se estudiaron 5 microorganismos; 2 especies de bacterias grampositivas (*S. aureus*, *E. feacalis*) y 3 de ellas gramnegativas (*E.coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*) de referencia internacional pertenecientes a la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC), provenientes del Cepario del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad de Los Andes.

Preparación de las Placas

A cada placa se le agrego 15 mL aproximadamente del agar Müeller-Hinton (HIMEDIA®), previamente preparado y esterilizado, se realizó siguiendo las instrucciones de la casa comercial, posteriormente se dejó solidificando a temperatura ambiente.

Preparación de los inóculos bacterianos

Las cepas frescas purificadas se mantuvieron en un medio de cultivo de Agar Mueller Hinton, con un tiempo de incubación no mayor a 24 horas, de estas se tomó una pequeña cantidad de colonias con un asa en aro para luego ser suspendidas en una solución de cloruro de sodio al 0,85 % estéril, ajustando el inóculo hasta una concentración de bacterias equivalente a 0,5 en la escala de Mac Farland.

Inoculación

Las cepas bacterianas fueron inoculadas en la superficie del agar agar Müeller-Hinton, correspondiente con un hisopo estéril, mezclando en forma envolvente con la finalidad de depositarlos en la placa de Petri. Luego se colocaron en la superficie del agar inoculado, los discos de papel de filtro previamente impregnados con los extractos hexanolicos y etanolicos de las hojas, además se ubicaron discos de antibióticos de referencia para cada microorganismo como controles positivos.

Incubación:

Posteriormente, las placas de agar Müeller-Hinton se dejaron a temperatura ambiente por 30 minutos, luego se incubaron a 37 °C durante 24 horas, en atmósfera aeróbica. Una vez finalizado el tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura, se consideró un resultado positivo o sensible (actividad antibacteriana) cuando se observó un halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor del disco. El caso contrario, la ausencia de dicho halo se interpretó como negativo o resistente (sin actividad antibacteriana). Los halos de inhibición alrededor de los pozos fueron expresados en mm.

CAPITULO IV.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

RESULTADOS

Del proceso de extracción a reflujo de las hojas de *S. mexicanum* se obtuvieron las siguientes características Macroscópicas de los Extractos:

Tabla N°3. Características Físicas de los extractos Hexanolicos de *S. mexicanus*

CARACTERISTICA	EXTRACTO HEXANOLICO		
	Hojas	Tallos	Flores
Aspecto	Viscoso	Viscoso	Viscoso
Color	Verde Oliva	Verde oliva	Verde oliva
Olor	Característico	Característico	Característico
Peso de material seco	140,68 g	48,22 g	7,81g
Peso de extracto	3,6 g	0,49 g	0,19
% De rendimiento	2,5%	1,0 %	2,43 %

Tabla N° 4.Características físicas de los Extractos Etanolico de *S. mexicanus*

CARACTERISTICA	EXTRACTO ETANOLICO		
	Hojas	Tallos	Flores
Aspecto	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Color	Verde Oscuro	Verde oscuro	Verde oscuro
Olor	Característico	Característico	Característico
Peso de material seco	140,68 g	48,22 g	7,81g
Peso de extracto	11,8 g	2,1 g	0,8
% De rendimiento	8,3 %	4,3%	10,2 %

El mayor rendimiento fue del extracto etanolico de las Flores (10,2 %), seguidamente el de las hojas(8,3 %). Según Robles y col (2016), Los rendimientos de

las plantas son muy variables y dependen de su composición, lugar de desarrollo, de la parte de la planta en estudio (raíz, hoja, tallo, fruto, etc.), así como del tipo y condiciones de extracción. Es por ello que las comparaciones entre otras especies de plantas se torna difícil.

Cromatografía de Gases acoplado a espectrometría de masas (CG/EM)

Los extractos hexanolicos de las hojas, tallos y flores *S. mexicanus* fueron analizados mediante CG/EM, la cantidad de cada compuesto de los extractos se calculo del cromatograma mediante normalización de las áreas de los picos, expresándose en porcentaje al comparar los espectros de masas eluidos atraves de la columna cromatografica con los espectros de masa de la librería Wiley y NIST.

De la tabla N° 5, podemos decir que del extracto de las flores fueron identificados 16 compuestos de los cuales estuvieron en mayor cantidad el Tricosano (16,20 %), Ácido Hexadecanoico (12,72 %) y Ácido Linoleico (11,18 %). En los tallos, fueron 7 los compuestos detectados, en donde el Escualeno , Vitamina E , Heptacosano y el Fitol resultaron los componentes mayoritarios. Y por ultimo el de las hojas, con la misma cantidad de compuestos que el de los tallos, 7 componentes revelados, cuyos principales fueron Escualeno (50,62 %) y Fitol(40,26 %).

Tabla N° 5. Componentes Químicos de los Extractos Hexanolicos de las Hojas,Tallos y Flores de *S. mexicanus*, analizados mediante Cromatografía de Gases Acoplado a Espectrometria de Masa.

Muestra	Nº Pico	T.R	% Área	Nombre del Compuesto
<i>S. mexicanum</i> Ext Hex. Hojas	1	7,71	1,46	β -Ionona
	2	11,52	1,06	Hexahidrofarnesil acetona
	3	14,15	40,26	Fitol
	4	18,85	3,10	Heptacosano
	5	19,85	50,62	Escualeno
	6	22,43	2,78	Vitamina E
	7	24,75	2,68	β -Sitosterol
<i>S. mexicanum</i> Ext Hex Tallos	1	12,65	3,42	Ácido hexadecanoico
	2	14,14	5,62	Fitol
	3	14,35	1,70	α -Gliceril linolenato
	4	17,34	3,27	Octadecano
	5	18,84	6,04	Heptacosano
	6	19,84	78,19	Escualeno
	7	22,41	14,37	Vitamina E
<i>S. mexicanum</i> Ext Hex Flores	1	9,97	0,78	Heptadecano
	2	12,06	2,63	Nonadecano
	3	12,78	12,72	Ácidos hexadecanoico
	4	13,04	1,09	Eicosano
	5	13,99	9,17	Heneicosano
	6	14,40	11,18	Ácido linoleico
	7	14,57	1,00	Ácido esteárico
	8	14,88	2,38	Docosano
	9	15,76	16,20	Tricosano
	10	16,55	1,21	Tetracosano
	11	17,37	6,19	Octacosano
	12	18,69	1,01	Heptacosanol
	13	18,87	3,46	Heptacosano
	14	19,87	1,86	Éster octadecilo del ácido valerico
	15	22,44	3,52	Vitamina E
	16	24,79	3,56	β -Sitosterol

Gráfico N°1. Cromatograma General del Extracto Hexanólico de las Hojas con las Estructuras de sus Compuestos Mayoritarios

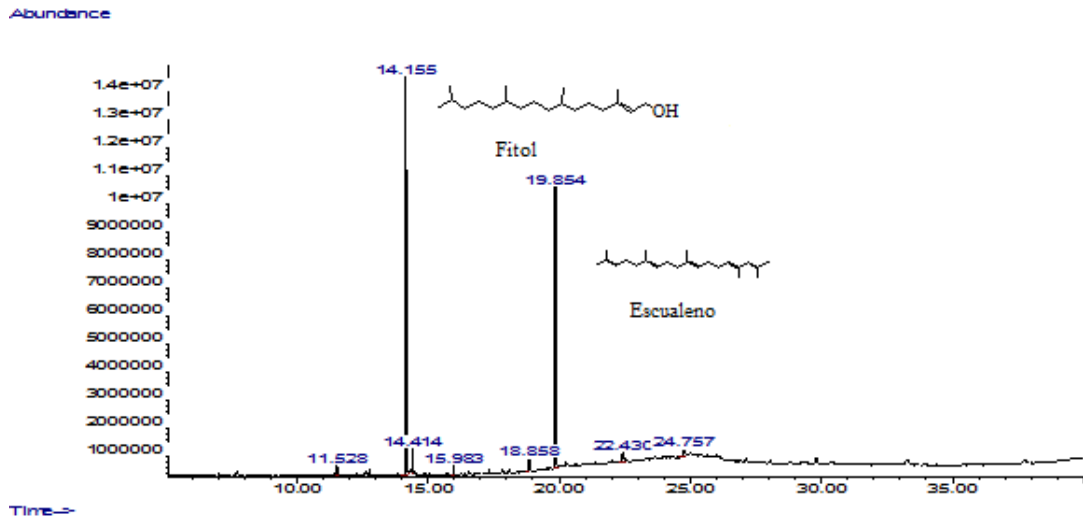


Gráfico N°2. Cromatograma General del Extracto Hexanólico de los Tallos con las Estructuras de sus Compuestos Mayoritarios

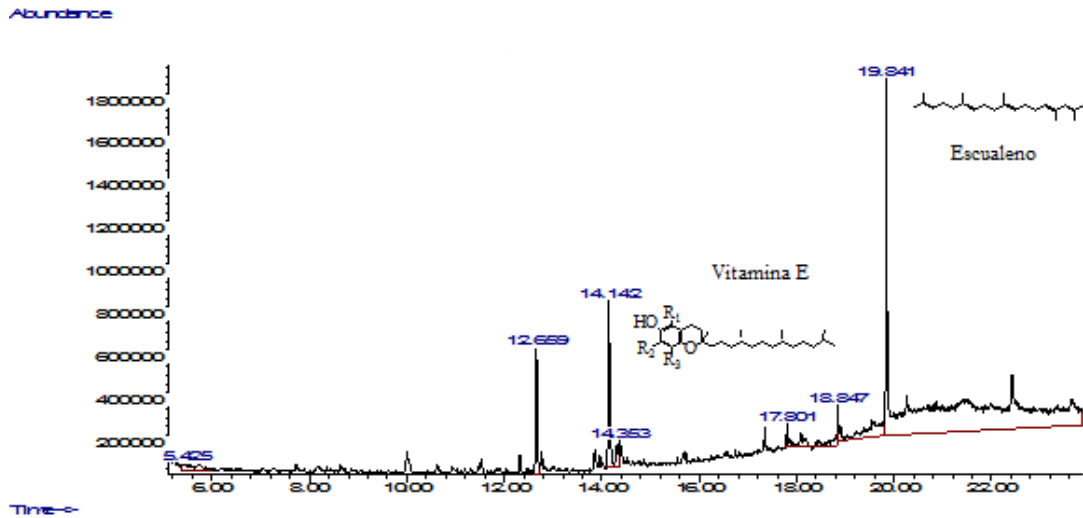
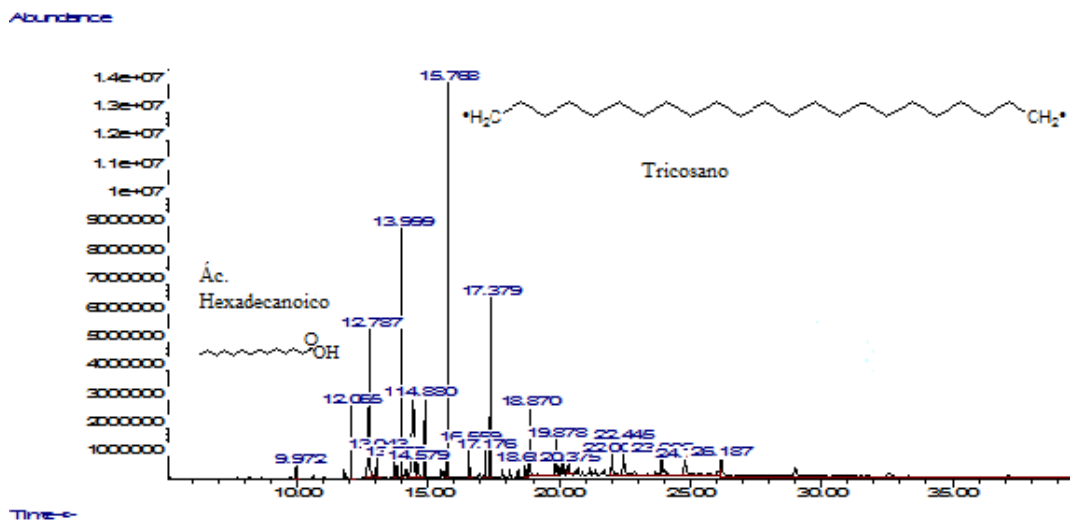


Grafico N°3. Cromatograma General del Extracto Hexanolico de las flores con la Estructura de sus Compuestos Mayoritarios



Screening Fitoquímico

En el análisis fitoquímico de los extractos etanolicos de las hojas, tallos y flores, a quienes se le realizó una serie de pruebas en donde se logro percibir que el extracto de las hojas y tallos posee compuestos fenólicos y triterpenos, mientras que el extracto de las flores presenta alcaloides (Dragendorff), compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y triterpenos. A continuación en la siguiente tabla N° se presentan los resultados.

Tabla N°6 . Resultados del Screening Fitoquimico de los extractos etanolicos de Hojas, Tallos y Flores.

Metabolito	Prueba	Extracto Etanólico		
		Hojas	Tallos	Flores
Alcaloides	Mayer	-	-	-
	Dragendorff	-	-	+
	Wagner	-	-	-
Compuestos fenólicos	Reaccion con FeCl3 al 1%	+++	+++	+++
Taninos	Rvo. Gelatina	-	-	+
Flavonoides	Reaccion de Shinoda	-	-	+
Esteroles y Triterpenos	Reaccion de Liebermann-Burchard	Triterpenos +++	Triterpenos ++	Triterpenos +
Cumarinas	Reacción de Hidróxido de amonio	-	-	-
Quinonas y/o Antraquinonas	Reaccion de Hidróxido de amonio	-	-	-
Saponinas	Reaccion de Espuma	-	-	-

+++ : Muy abundante, ++ : abundante + : poco abundante ; - : escaso

Alcaloides:

Como podemos observar en el Anexo N° 1, al agregarle el reactivo de Dragendorff, Mayer y Wagner a los extractos de hojas y tallos no se observó turbidez en ninguno de los tubos, mientras que en el extracto de las flores, solo al agregar el reactivo de Dragendorff se observó bastante turbidez (Anexo N° 2), caso contrario con los reactivos de Mayer y Wagner.

Compuestos fenólicos:

En los extractos etanólicos de hojas, tallos y flores si se pudo observar la presencia de una coloración verde (Anexo N°4), que indica presencia de compuestos derivados del catecol.

Taninos:

En esta prueba los extractos etanólicos de las Hojas y Tallos no presentaron la presencia de un precipitado blanco, solo se observó una coloración marrón (Anexo N°5 (1)), por tal razón es negativa para estos extractos. En el extracto etanólico de las flores si se visualizó la presencia de un precipitado blanco por lo que resultó positiva la prueba. Anexo N° 5(2)

Flavonoides:

En este análisis no se observó la aparición de una coloración naranja roja ni magenta por lo que para los extractos de las hojas y tallos resultó negativa (ver anexo 5). Mientras que para el extracto de las flores si se observó la presencia de una coloración rosada. Según Marcano (2001) estaríamos en presencia de flavonoles. Ver Anexo N° 7

Triterpenos:

Al agregar el HCL concentrado se observó la presencia de una coloración verde por lo que se pudo apreciar en el Anexo N° 7, que los extracto de las hojas tallos y flores tiene presencia de triterpenos.

Cumarinas:

Al ser expuesto los extractos etanolicos bajo luz ultravioleta no se observo ninguna fluorescencia (ver Anexo N° 6).

Quinonas y/o Antraquinonas:

Al hacer reaccionar los extractos etanolicos de las hojas, tallos y flores con acido sulfurico no se logro identificar quinonas. De la misma manera tampoco se logro determinar antraquinonas, al entrar en contacto con el hidróxido de amonio (ver Anexo N° 8 y 9).

Saponinas:

Para esta prueba no se logro apreciar la espuma, que permitirá la detección de estos metabolitos, por lo que fue negativa para los extractos etanolicos de hoja, tallos y flores (ver Anexo N° 3).

Actividad antibacteriana

Los extractos obtenidos de las hojas de *S. mexicanus* fueron evaluados mediante la técnica de difusión en agar con disco frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, en concentraciones de 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,81 ppm, de tal manera que los extractos hexanolicos de las hojas fueron sencibles a una concentración de 250 ppm para *S. aureus*, *E. coli* y *K. pneumoniae*, mientras que en el extracto etanolic inhibio a *S. aureus* a una concentración de 500 ppm, a *E. coli* a la concentración de 125 ppm y finalmente fue sensible a 250 ppm para *P. aureginosa* (ver Anexo N° 10,11,12 y 13) , siendo el extracto etanolic el que obtuvo mayor inhibiciónAl hacer reaccionar los extractos etanolicos de las hojas, tallos y flores con acido sulfurico no se logro identificar quinonas. De la misma manera tampoco se

logro determinar antraquinonas, al entrar en contacto con el hidróxido de amonio (ver Anexo N° 8 y 9).

Saponinas:

Para esta prueba no se logro apreciar la espuma, que permitirá la detección de estos metabolitos, por lo que fue negativa para los extractos etanolicos de hoja, tallos y flores (ver Anexo N° 3).

Actividad antibacteriana

Los extractos obtenidos de las hojas de *S. mexicanus* fueron evaluados mediante la técnica de difusión en agar con disco frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, en concentraciones de 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,81 ppm, de tal manera que los extractos hexanolicos de las hojas fueron sencibles a una concentración de 250 ppm para *S. aureus*, *E. coli* y *K. pneumoniae*, mientras que en el extracto etanolicos inhibio a *S. aureus* a una concentración de 500 ppm, a *E. coli* a la concentración de 125 ppm y finalmente fue sensible a 250 ppm para *P. aureginosa* (ver Anexo N° 10,11,12 y 13) , siendo el extracto etanolicos el que obtuvo mayor inhibición.

Tabla N° 7. Resultados de la actividad antibacteriana de los Extractos Hexanolicos de las Hojas de *S. mexicanus*

	Concentración (ppm)	<i>S. aureus</i>	<i>E. Coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. aureginosa</i>
1	1000	7	7	9	0	10
2	500	7	7	7	0	9
3	250	7	7	7	0	9
4	125	6	6	6	0	9
5	62,5	6	6	6	0	9
6	31,25	6	6	6	0	8
7	15,62	6	6	6	0	8
8	7,8	6	6	6	0	8

CIM: Concentración Inhibitoria Minina

Tabla N° 7. Resultados de la actividad antibacteriana de los Extractos Etanolicos de las Hojas de *S. mexicanus*

	Concentración (ppm)	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. aureginosa</i>
1	1000	7	8	9	0	8
2	500	7	8	9	0	8
3	250	7	8	8	0	7
4	125	6	7	8	0	7
5	62,5	6	7	8	0	7
6	31,25	6	7	8	0	7
7	15,62	6	7	8	0	7
8	7,8	6	7	8	0	7

CIM: Concentracion Inhibitoria Minima

DISCUSIÓN

Los diferentes mecanismos de acción antibacteriana de las plantas y los posibles metabolitos implicados han sido estudiados mediante ensayos de susceptibilidad antimicrobiana, estudios cromatograficos y análisis fitoquímicos, debido a los potenciales usos contra las enfermedades infecciosas (Pesewu y col, 2008; Moreno y col, 2007). El presente estudio cromatografico reveló que en los extractos hexanolicos existen grandes cantidades de terpenoides, Vitamina E y el tricosano (ver Tabla N°5). El tricosano obtenido del extracto hexanólico de las flores de *S. mexicanus* fue identificado casi en la misma propoción, tanto en el extracto como en el aceite esencial de las flores de *Sambucus nigra* L. reportado por Agalar y col (2017). Los resultados del análisis fitoquimico del extracto etanolicos demostró que posee compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, triterpenos y alcaloides (ver Tabla N°6). Comparada con la investigación realizada por Rodriguez y col (2017), el cual encontraron en las hojas contenido de quinonas, flavonoides, saponinas y triterpenos, mientras que los tallos demostraron la presencia de quinonas y triterpenos y las flores presentaron quinonas, flavonoides, alcaloides y triterpenos, el cual se asemeja a nuestra investigación. Otro estudios realizados demuestró que los metabolitos, tales como alcaloides, flavonoides, taninos, y otros compuestos de naturaleza fenólica son responsables de las actividades antimicrobianas en plantas superiores (Panday, 2007; Mahomoodally y col, 2005).

La actividad antimicrobiana de los extractos Hexanólico inhibio a *S. aureus*, *E. coli* y *K. pneumoniae* a una concentración de 250 ppm (ver Tabla N°8), mientras que el extracto etanólico inhibio a *S. aureus* a una concentración de 500 ppm, inhibio a *P. auriguinosa* a una concentración de 250 ppm, siendo mas efectiva para *E. coli* cuya concentración fue de 125 ppm, lo que confirma lo expuesto por Rodriguez y

colaboradores (2017), quienes demostraron el efecto antibacteriano de *S. nigra* en presencia de *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*. Según estos autores, la actividad de *S. nigra* podría deberse a la presencia de compuestos fenólicos, ya que inhibió a *E. faecalis* resistente a Vancomicina, *S. aureus* y *C. albicans*. Así mismo el sauco presenta actividad antimicrobiana contra *S. aureus* resistente a la Meticilina (Ramirez y col, 2015).

En la búsqueda realizada, no se encontraron reportes de actividad antibacteriana de *S. mexicanus* por lo tanto, el presente estudio sería uno de los primeros reportes en los que se encontró que las hojas tienen actividad antibacteriana frente a las bacterias estudiadas.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIÓN

El estudio fitoquímico preliminar del extracto etanólico de las hojas, tallos y flores permitio establecer la presencia de taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos y alcaloides (Dragendorff). A partir de estos resultados, se podría inferir que podrían estar involucrados en la actividad antibacteriana de esta planta.

En la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se identificaron 16 compuestos en el extracto hexanólico, en donde el tricosano (16,20 %) y ácido hexadecanoico (12,72 %) son los componentes mayoritarios, en los tallos se identificaron 7 compuestos siendo el escualeno (78,19 %) y la vitamina E (14,37 %) como componentes mayoritarios y por ultimo en el extracto de hojas el escualeno (50,62 %) y fitol (40,26 %) los componentes mayoritarios.

La actividad antibacteriana de los extractos etanólico de las hojas, inhibiendo el crecimiento de *E. coli* a una concentración de 125 ppm, siendo la mas efectiva.

Los resultados obtenidos en el presente estudios corresponden a datos preliminares los cuales deben ser confirmados por técnicas más sensibles a cada extracto. En resumen, los extractos orgánicos de las plantas que se utilizaron en este estudio poseen propiedades antibacterianas, las cuales podrían ser útiles a futuro en la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos.

RECOMENDACIONES

Realizar un estudio químico más profundo con la finalidad de aislar e identificar otros compuestos en los extractos de hexano y etanol de las partes analizadas u otras partes. Determinar la actividad antibacteriana los extractos etanolicos de las flores por ser una fuente rica en flavonoides, taninos, alcaloides y compuestos fenólicos, utilizando otros métodos de susceptibilidad.

Evaluar la actividad antifúngica, antiinflamatoria y antioxidante ya que los extractos poseen compuestos polares interesantes que podrían resultar activos.

www.bdigital.ula.ve

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRAFICAS

- Abella, I. (2000). La Magia de los Arboles (tercera edicion).Asturias: Integral. 292 p
- Agalar H, Demirci B, y Can Baser K. (2014). Los compuestos volátiles de bayas de saúco (*Sambucus nigra* L) Vol 1 (1). Natural Volatiles & Essential Oils: 51-54
- Agalar H, Demirci B, Demerci F y Kirimer N. (2017). The Volatile compounds of elderflowers extract and esencial oil. Departamento de Farmacologia, Facultad de Farmacia, Universidad de Anodalu.11(5): ACG publications;491-496.
- Albornoz A. (2001).Medicina Tradicional herbaria. (cuarta edición). Caracas – Venezuela: Editorial Latino S.A. pag 48-49
- Alzate F., Idarraga A., Diaz O. y Rodriguez W. (2013). Flora de los bosque montanos de Medellin. Programa Expedicion Antioquia 2013, series Biodiversidad y Recursos Naturales. Alcaldia de Medellin, Universidad de Antioquia. 552 p.
- Aricapa, D. (2009). Actividad antimicrobiana de plantas sobremicroorganismos cariogénicos. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogota Colombia
- Avalos-García A, y Perez-Urria E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *REDUCA*. 2(3): 119-145.
- Barreto B., (1997). Efectos antimicrobianos de especies vegetales sobre microorganismos causantes de enfermedades de la piel. Bogotá D.C. Pág. 9, 23-29
- Boluda Carlos G. (2013). *The Taxateca's Garden*. www.taxateca.com.

Disponible en: <file:///E:/Order%20Dipsacales%20taxonomia.htm>

- Calderón H, Johana A. (2011). Caracterización Fitoquímica, Actividad Antibacteriana y Antioxidante de Extractos de plantas medicinales Utilizadas en Pereira y santa rosa de cabal (Risaralda). Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de tecnología química.
- Calixto, M. (2006). Plantas medicinales utilizadas en odontología. Kiru, págs 80-85.
- Castillo G. Encarna, Martínez S. Isabel. (2007). Manual de Fitoterapia. Elsevier. España.
- Carrión, A. y García, C. (2010). Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia metódica.
- Christensen K, Petersen R, Kristiansen K, Christensen L.,(2010). Identification of bioactive compounds from flowers of black elder (*Sambucus nigra* L.) that activate the human peroxisome proliferatoractivated receptor (PPAR) gamma. *Phytother Res*; 24 Suppl 2:S 129-132.
- Coy, C., Parra, J., y Cuca, L. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (Rutaseae). págs 4-513.
- Cruz A., Rodriguez, C. & Ortiz, C. (2011). Efecto insecticida in vitro del extracto etanolico de algunas plantas sobre la mosca adulta *Haematobia irritans*. *Revista Cubana de Planta Medicinales*, 16(3):216-226.
- Diaz M., Rodríguez C., Zhurbenko R. (2010). Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*; 48(2)147-161
- Díaz, J. (2003). Informe Técnico. Caracterización del mercado Colombiano de plantas medicinales y aromáticas. Instituto Alexander Von Humboldt. El Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogotá D.C., Colombia.
- Dominguez X.,(1973). *Metodos de Investigación Fitoquímica*. (1º edición). Mexico. Editorial Limusa. Pag 58-59.

- Echeverri L., Cataño J. (2010) *Klebsiella pneumoniae* como Patógeno Intrahospitalario: epidemiología y resistencia. Universidad de Antioquia. Colombia. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180518994006>
- Esnard, S., y Díaz, O. (1997). Identificación y caracterización de bacilos Gram-negativos no fermentadores aislados en el medio hospitalario. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 35(1), 30-37.
- Evangelista, Z. y Moreno, A. (2016). Metabolitos secundarios de importancia farmacéutica producidos por Actinomicetos. revista en línea, pág 3.
- Fideas A., (2006). El Proyecto de investigación. Introducción a la Metodología Científica (5ta edición). Caracas- Venezuela: Editorial Episteme c.a.
- Fonnegra, R. y Jiménez S. (2006). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Medellín. Editorial Universidad de Antioquia. Segunda Edición. 347 p.
- Font Quer P. (1990). Plantas Medicinales. (2ª edición). Barcelona, España: Editorial Labor, S.A.
- Galindo, M. 2003. Dendrología y propagación vegetativa de "Saúco" *Sambucus peruviana* H.B.K con muestras tomadas a tres niveles de la rama. Tesis Ing. Forestal. Lima, Perú. UNALM. 99p.
- Gilman, E. y Watson, D. (1994). Document adapted from Fact Sheet ST-580, a series of the Environmental Horticulture Department (en línea). Florida, EU, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Consultado 20 Abril 2018. Disponible en <http://hort.ufl.edu/trees/SAMMEXA.pdf>
- González José (2009). Organización para Estudios Tropicales. Flora Digital de la Selva. Pág. 1 Disponible en: <https://sura.ots.ac.cr/florula4/families/ADOXACEAE.pdf>
- Grajales A. Beatriz M, Botero G María, Ramírez Q Juan F. (2015) .Características, manejo, usos y beneficios del saúco (*Sambucus nigra* L.) con énfasis en su

implementación en sistemas silvopastoriles del Trópico Alto. Revista de investigación agraria y ambiental.

Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2010). Metodología de la Investigación. (5ª edición.). México: McGrawHill.

Hurtado J. (2010). Guía para la Comprensión Holística (3ª edición). Caracas, Venezuela.

Janssen, A.M., Scheffer, J.C and Baerheim K.C, A. (1987). Antimicrobial activity of esencial oil. Aspects the test methods. Planta médica. 53: 395-397

Laffita, O. y Castillo, A. (2011). Caracterización fármacotoxicológica de la planta medicinal *S. nigra* L subsp. canadensis (L). R. Bolli. Revista Cubana. 45(4): 586-596.

Loaces D, Rodríguez I, Cabrera G. (2003). Descubrimiento y desarrollo de agentes cancerígenos derivados de plantas medicinales. Revista Cubana. Plant Med;8(3).

López, J., (2008). Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos. Scientia et technica. 15: 228-233.

López A., Miranda M, Bello A., y García G (2016). Actividad expectorante y toxicológica de una formulación elaborada a partir de *Eucalyptus globulus* Labill, *Borago officinalis* L, y *Sambucus Nigra* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales:21(4); pp 1-2

Marcano D, Hasegawa M. (2002). Fitoquímica Orgánica. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Humanístico.

Miranda, M. y Cuellar, A. (2000). Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana, Cuba: Editorial Félix Varela.

- Mohammadsadeghi S., Malekpour A., Zahedi S., and Eskandari F. (2013) La actividad antimicrobiana del saúco (*Sambucus nigra* L.) se extrae contra Bacterias Gram positivas, Bacterias Gram negativas y levaduras. *Medwell Journals*; 8 (4); p.240-24
- Mahomoodally M, Gurib-Fakim A, Subratty A., (2005). Antimicrobial activities and phytochemical profiles of endemic medicinal plants of Mauritius. *Pharmaceutical Biology*; 43(3): 237-242.
- Moreno Z, Martínez P, Figueroa J. (2007). Efecto antimicrobiano In vitro de propóleos argentinos, colombianos y cubano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Nova*; (5) 7: 70-75.
- Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. (2009). *Microbiología Médica*. (5ª Edición). España: Elsevier.
- Ody, P. (1993). *The Herb Society Las Plantas Medicinales. Guía práctica con remedios útiles para los trastornos más comunes*. Buenos Aires, Argentina. Javier Vergara Editor s.a. 191p.
- Pahlow, M. (1985). *El gran libro de las plantas medicinales, Salud a través de las fuerzas curativas de la naturaleza*. España. Editorial EVEREST S.A, Séptima Edición. 465 p.
- Pandey A., (2007). Anti-staphylococcal activity of a pan-tropical aggressive and obnoxious weed *Parihenium hysterophorus*: an *in vitro* study. *National Academy Science Letters*; 30(11-12): 383-386.
- Pesewu G, Cutler R, Humber D. (2008). Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *J Ethnopharmacol*; 116(1): 102- 111.
- Perez, H. y Robles, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana recuperada revista en línea. pages 186-191.

- Pretell, C.; Ocaña, V.; John, J. y Barahona, Ch. (1985). Apuntes sobre algunas especies forestales nativas de la sierra peruana. Lima, Perú. Proyecto FAO/Holanda/INFOR.
- Ramírez R, Mojica D, Espitia M. (2015). Actividad antibacteriana de extractos de plantas provenientes de la zona rural de Soracá contra *Staphylococcus aureus* resistente a metilina.7(1). Revista Ciencia y Salud Virtual: 9-10
- Reynel, C. y Marcelo, J. (2009). *Árboles de los Ecosistemas Forestales Andinos, Manual de Identificación de Especies. Serie Investigación y Sistematización N° 9*. Programa Regional para la Gestión Social de los Ecosistemas Forestales Andinos. ECOBONA-INTERCOOPERACIÓN. Perú, Lima.
- Robles M., Aguilar A.,Gutierrez M., Rodriguez F.,Morales J.,Guerrero P.,Madrigal J.,Del Toro C.,(2016).Identificación Cualitativa de Metabolitos Secundarios y Determinación de la Citotoxicidad de Extractos de Tempisque (*Sideroxylum capiri* Pittier).Biotecnia;XVIII(3);pág 3-8
- Rodríguez R.,(2008). Estudio de las plantas medicinales conocidas por la población de la comunidad de primavera, del municipio de Ixcán, Quiché, utilizando técnicas etnobotánicas. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de agronomía.
- Rodriguez C., Zarate A., Sanchez L.(2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia.Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca 15(27). Revista NOVA:119-129.
- Sanchez, L., Amado, G., Criollo, P., Carvajal, T., Roa, J., Cuesta, A., Conde, A., Umana, A., Bernal, L. & Barreto, L. (2010). El Sauco (*Sambucus nigra* L) como alternativa silvopartoril en el manejo sostenible de praderas en el tropico alto Colombiano (primera edicion). Colombia.

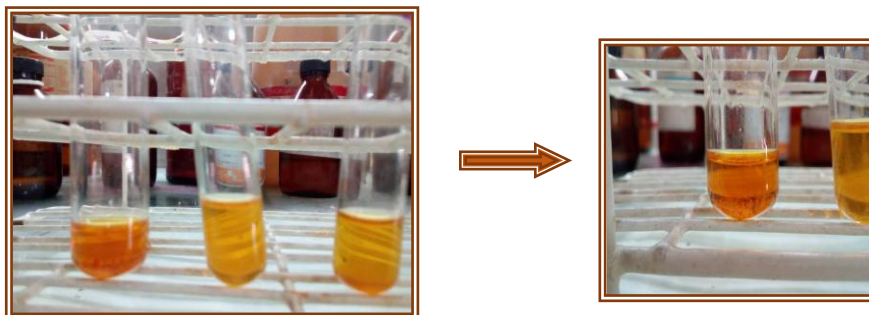
- Skoog D, Holler J, Nieman T. (2001). Principios de Análisis Instrumental (5ª edición). Madrid: McGraw-Hill.
- Tortora, G.; Funke, B.; y Case C.; (2007). Introducción a la Microbiología. 9ª Edición, Editorial Medica Panamericana. 988.
- Torres H. (2012). Espectro de inhibición de bacterias aisladas de muestras clínicas por cinco especies de plantas con actividad antimicrobiana. Universidad de San Carlos de Guatemala- Facultad de Ciencias Químicas Y Farmacia.
- Verberic R, Jakopic J, Stampar F, Schmitzer V. (2009) European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. Food Chem; vol 114. 511-515.
- Voigt R. (1982). Tratado de tecnología Farmacéutica. España: Acriba.
- Velasco, J., Rojas, J., Salazar, P., Rodríguez, M., Díaz, T., Morales, A., & Rondón, M. (2007). Antibacterial activity of the essential oil of *Lippia oreganoides* against multiresistant bacterial strains of nosocomial origin. *Natural Product Communications*, 2:85-88.
- Walz B y Chrubasik S. (2008) Impact of a proprietary concentrate of *Sambucus nigra* L. on urinary pH. *Phytother Res*; 22(7): 977-978.

anexo

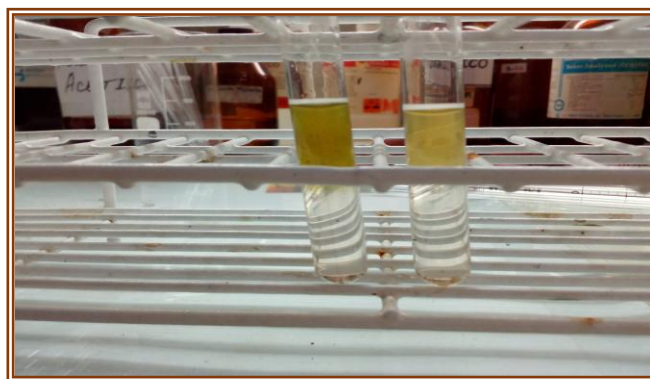


www.bdigital.ula.ve

Anexo N° 1. Detreminacion de Alcaloides del Extracto Etanolic de Hojas, Tallos y Flores



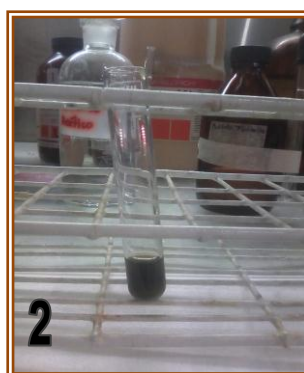
Anexo N° 2. Alcaloides Positivo (Dragendorff). Extracto Etanolic de las Flores



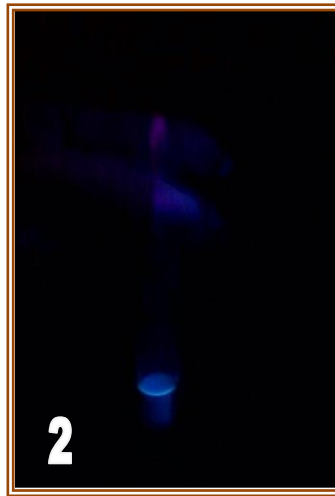
Anexo N° 3. 1. Presencia de Saponinas del extractos etanolico de Hojas y Tallos



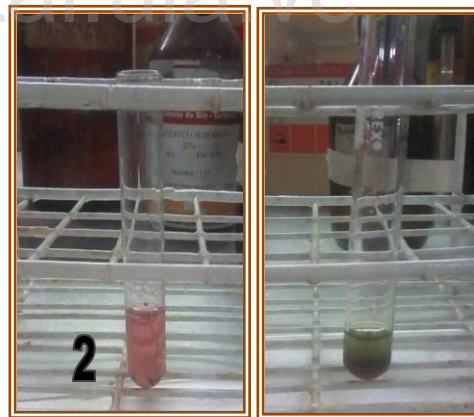
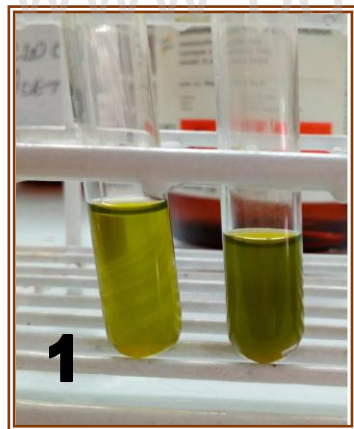
Anexo N° 4. 1. Presencia de compuestos Fenolicos en los Extractos etanolicos de las Hojas y Tallos. 2. Presencia de Compuestos Fenólicos del Extracto de Flores



Anexo N° 5. 1. Ausencia de Taninos y Flavonoides en Hojas y Tallos. 2. Presencia de Taninos en Flores



Anexo N° 6. 1. Ausencia de Cumarinas en el Extracto Hojas y Tallos. 2. Ausencia de cumarinas en Extracto de las flores y el control positivo



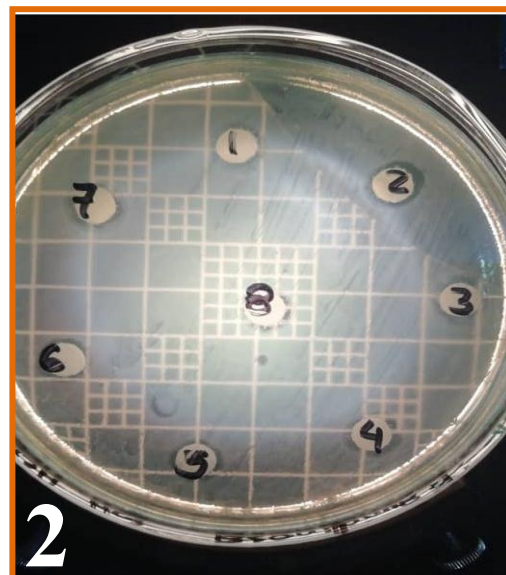
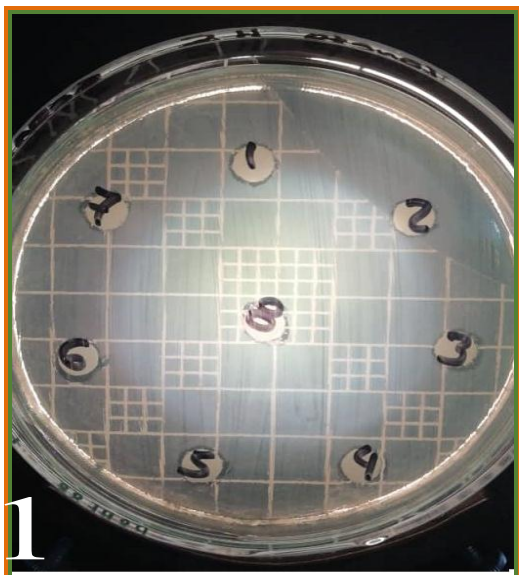
Anexo N° 7. 1. Ausencia de Triterpenos en el extracto de Hojas y Tallos 2. Presencia de Triterpenos y flavonoides del Extracto de las Flores



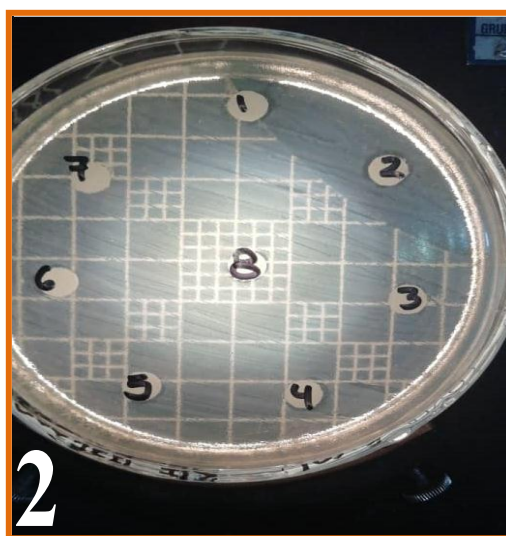
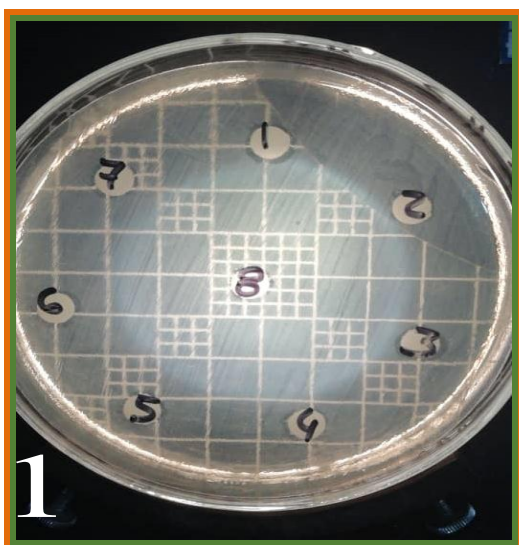
**Anexo N° 8. 1. Ausencia de Quinonas en el extracto Etanólico de Hojas y Tallos
2. Ausencia de Quinonas del Extracto Etanólico de las Flores**



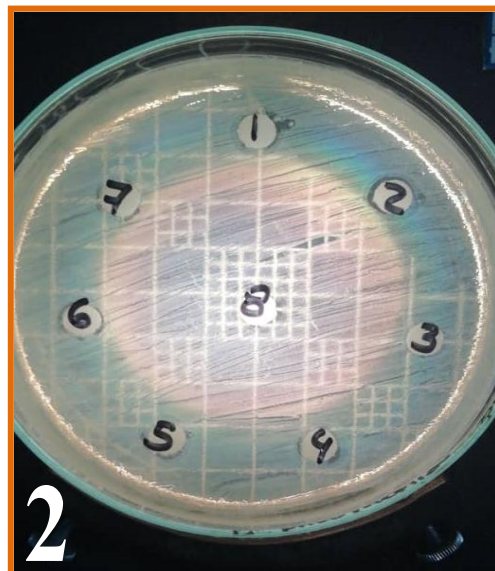
**Anexo N° 9. 1. Ausencia de Antraquinonas en el extracto Etanólico de Hojas y Tallos
2. Ausencia de Antraquinonas del Extracto Etanólico de las Flores**



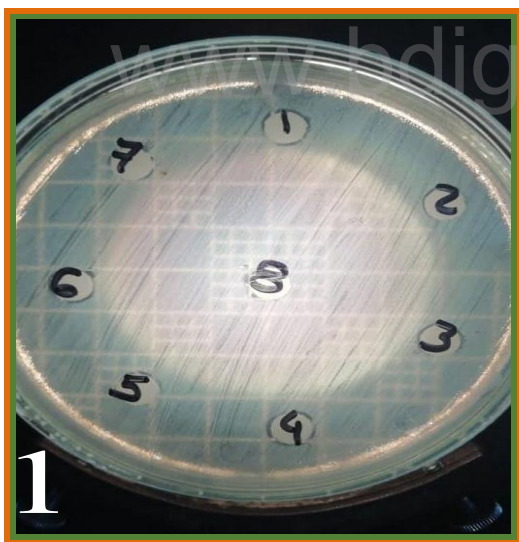
Anexo N° 10. Halos de inhibición de Extracto etanolico (1) y Hexanolico (2) *P. auriginosa*. 1. 1000 ppm; 2. 500 ppm; 3. 250ppm; 4. 125ppm; 5. 62,5 ppm; 6. 31,25ppm; 7. 15,62ppm y 8. 7,8ppm



Anexo N° 11. Halos de inhibición de Extracto Etanolico (1) y Hexanolico (2) *E. coli*. 1. 1000 ppm; 2. 500 ppm; 3. 250ppm; 4. 125ppm; 5. 62,5 ppm; 6. 31,25ppm; 7. 15,62ppm y 8. 7,8ppm



Anexo N° 12. Halos de inhibición de Extracto Etanolico (1) y Hexanolico (2) *K. pneumoniae* 1. 1000 ppm; 2. 500 ppm; 3. 250ppm; 4. 125ppm; 5. 62,5 ppm; 6. 31,25ppm; 7. 15,62ppm y 8. 7,8ppm



Anexo N° 13 . Halos de inhibición de Extracto Etanolico (1) y Hexanolico (2) *S. aureus* 1. 1000 ppm; 2. 500 ppm; 3. 250ppm; 4. 125ppm; 5. 62,5 ppm; 6. 31,25ppm; 7. 15,62ppm y 8. 7,8ppm.