



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
"Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro"



COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS
TALLOS DE *Vernonia gracilis* Kunth

Trabajo de grado requisito parcial para optar al título de Licenciada en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autor:

Loris Coromoto Graterol Moret
C.I: 25.468.945

Tutora:

Profesora Alida Pérez

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios primeramente, él me ha enseñado a ser paciente, luchadora y constante, me ha demostrado con su amor que lo imposible puede ser posible, el permitió que todo esto sucediera, me dio fortaleza y palabras en los momentos que veía esta meta lejana, ha forjado mi camino y me ha dirigido en el sendero correcto. A mi madre Ana Moret y mi padre José Graterol por apoyarme emocional y económicamente, estar presente en cada decisión que tomaba a lo largo de mi vida y de la carrera, me han formado como persona, en mis principios y valores, me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. A mis demás familiares, tías, primos y mi hermano por creer en mí, por inspirarme a seguir, cada uno de ustedes ha destinado tiempo para enseñarme cosas nuevas, especialmente estuvieron en el transcurso y posterior desarrollo de mi tesis. A mis amigos de la Universidad que en el recorrido de todo este proceso me han mostrado la verdadera amistad y sobretodo el poder de ser personas constantes, empáticas y enfocadas en la meta, sus consejos me han ayudado a llegar hasta aquí. A todos los profesores de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis que enseñan con amor y dedicación cada día en los salones de clases, por mostrarnos la importancia de ser excelentes profesionales y que a pesar de los problemas, circunstancias difíciles y malos tiempos debemos seguir. A mi tutora, Alida Pérez, mujer que admiro por su dedicación, me siento realmente privilegiada por darme la oportunidad de ser su tesista y compañera en esta investigación, valoro que me haya brindado su tiempo, apoyo y conocimientos, es un ejemplo a seguir. A todos ustedes y demás personas que no mencione pero que tengo siempre presente, dedico este trabajo de investigación porque han fomentado en mí, el deseo de superación y de triunfo. Espero contar siempre con su valioso e incondicional apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Gracias de corazón a Dios todopoderoso por darme la vitalidad, salud, inteligencia, sabiduría y paciencia. A todas las autoridades de la Universidad de Los Andes, especialmente a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis por prestar sus instalaciones, aulas, laboratorios, docentes y personal administrativo, técnico y obrero por su esfuerzo arduo, gracias a eso, los estudiantes estamos logrando nuestras metas y sueños. Gracias al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, así como a mi tutora Dra. Alida Pérez, a los jurados Dra. Rosa Aparicio y Dra. Ysbelia Obregón por las sugerencias e ideas en cada paso que se ha dado, también al Sr. Emilio Salazar y la Prof. Yndra Cordero por sus aportes en la parte experimental de este trabajo de investigación, además debo agradecer a todos por su amabilidad, atención, tiempo, dedicación, apoyo y sus conocimientos, que realmente son valiosos para mí, ustedes han hecho fácil lo difícil. Gracias a mis padres, por ser excelentes personas, humildes, llenos de amor, sin darse cuenta han formado a quien soy ahora, ustedes son mi motivo para seguir adelante, mi inspiración, ha sido conmovedor contar con el apoyo de ustedes e impulsarme a ser mejor persona. Quiero agradecer también al Prof. José Gregorio Hernández por su importante aporte, participación, paciencia y tiempo en las aulas de clase de la asignatura Elaboración de Proyecto, Trabajo de Grado I y finalmente Trabajo de Grado II. Gracias al Dr. Pablo Meléndez por ser guía y ayuda en la identificación taxonómica de la planta estudiada. Por último, debo agradecer a mis amigas, que han sido clave en la construcción de mi vida como profesional, en especial a Teresa Arellano, que por medio de su fe y amistad me ha demostrado que lo más importante es ser humilde y constante. Este es un momento muy especial para mí y agradezco a todos por invertir su tiempo para hacer realidad esta meta.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA.....	3
Planteamiento del Problema.....	3
Justificación de la Investigación.....	4
Objetivos de la Investigación.....	5
<i>Objetivo General.....</i>	5
<i>Objetivos Específicos.....</i>	5
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	5
<i>Alcances de la Investigación.....</i>	5
<i>Limitaciones de la Investigación.....</i>	6
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	7
Trabajos Previos.....	7
Antecedentes históricos.....	13
Bases teóricas.....	15
Familia Asteraceae.....	15
Género <i>Vernonia</i>	18
Especie <i>Vernonia gracilis</i> Kunth.....	26
Productos Naturales.....	28
Extractos Vegetales.....	34
Tamizaje fitoquímico o “screening” fitoquímico.....	35
Bacterias.....	39
Antibióticos.....	47
Actividad antibacteriana.....	50

ÍNDICE DE CONTENIDO

(Continuación)

Definición operacional de términos.....	51
Hipótesis.....	55
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO.....	56
Tipo de Investigación.....	56
Diseño de Investigación.....	56
Población y Muestra.....	57
<i>Unidad de Investigación.....</i>	<i>57</i>
<i>Selección del Tamaño de la Muestra.....</i>	<i>57</i>
Sistema de variables.....	57
Instrumento de recolección de datos.....	57
Procedimiento de la Investigación.....	58
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	64
Resultados.....	64
Discusiones.....	76
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	79
Conclusiones.....	79
Recomendaciones.....	81
BIBLIOHEMEROGRAFÍA.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

N°		Pág.
1	Compuestos aislados de la especie <i>Vernonia auriculifera</i> Hiern.....	8
2	Compuestos aislados de la especie <i>Vernonia cinerea</i>	9
3	Compuestos aislados de las hojas de <i>Vernonia amygdalina</i>	10
4	Compuesto aislado de las hojas de <i>Vernonia adoensis</i>	11
5	Compuestos aislados de las flores de <i>Vernonia amygdalina</i>	12
6	Algunos compuestos aislados de la familia Asteraceae.....	18
7	Arbusto de <i>Vernonia amygdalina</i>	20
8	Ceramida aislada de la especie <i>Vernonia guineensis</i> Benth.....	21
9	Antraquinonas aisladas de la especie <i>Vernonia guineensis</i> Benth.....	22
10	Triterpenos aislados de la especie <i>Vernonia guineensis</i> Benth.....	22
11	Esteroides aislados de la especie <i>Vernonia guineensis</i> Benth.....	23
12	Ácidos grasos derivados aislados de la especie <i>Vernonia guineensis</i> ... Benth.....	23
13	Compuestos obtenidos en el género <i>Vernonia</i>	26
14	<i>Vernonia gracilis</i> Kunth.....	28
15	Estructura química de los poliacetilenos.....	29
16	Estructura química de los fenoles.....	30
17	Estructura química de los taninos.....	30
18	Estructura química de los flavonoides.....	31
19	Estructura química de los quinonas.....	31
20	Estructura química de las cumarinas.....	32
21	Estructura química de los monoterpenos.....	32
22	Estructura química de las lactonas sesquiterpénicas.....	33
23	Estructura química de las saponinas.....	33
24	Estructura química de los alcaloides.....	34
25	Fundamento químico de la reacción de Borntrager.....	37
26	Fundamento químico de la reacción de Lieberman-Bourchard.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

(Continuación)

N°		Pág.
27	Fundamento químico de la Reacción con FeCl ₃	38
28	Pared celular de las bacterias grampositivas.....	40
29	<i>Staphylococcus aureus</i>	40
30	<i>Enterococcus faecalis</i>	41
31	Pared celular de las bacterias gramnegativas.....	42
32	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	42
33	<i>Escherichia coli</i>	43
34	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
35	Especie <i>Vernonia gracilis</i>	58
36	Váucher de la muestra de <i>Vernonia gracilis</i> Kunth, depositada en el..... Herbario MERF.....	59
37	Determinación de Alcaloides en el extracto de etanol.....	67
38	Determinación de Triterpenos y Esteroles en los extractos de hexano,..... diclorometano y etanol.....	67
39	Determinación de Compuestos Fenólicos en el extracto de etanol.....	68
40	Determinación de Saponinas en el extracto de etanol.....	68
41	Determinación de Taninos en el extracto de etanol.....	69
42	Determinación de Flavonoides en los extractos de diclorometano y..... etanol.....	69
43	Determinación de Cumarinas en los extractos de diclorometano y..... etanol.....	70
44	Determinación de Quinonas en los extractos de hexano, diclorometano y etanol.....	70
45	Determinación de Antraquinonas en los extractos de diclorometano y..... etanol.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

(Continuación)

N°		Pág.
46	Determinación de Lactonas en los extractos de hexano, diclorometano y... etanol.....	71
47	Ensayo de los extractos de diclorometano y etanol en <i>S. aureus</i>	72
48	Ensayo de los extractos de diclorometano y etanol en <i>E. faecalis</i>	73
49	Ensayo de los extractos de diclorometano y etanol en <i>K. pneumoniae</i>	73
50	Ensayo de los extractos de diclorometano y etanol en <i>P. aeruginosa</i>	74

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

Nº		Pag.
1	Actividad farmacológica y composición química de la familia..... Asteraceae.....	17
2	Actividad farmacológica y composición química del género <i>Vernonia</i>	25
3	Problemas comunes de resistencia bacteriana.....	47
4	Mecanismo de acción de los antibióticos.....	49
5	Operacionalización de la variable dependiente Actividad antibacteriana de los tallos de <i>Vernonia gracilis</i> Kunth.....	53
6	Operacionalización de la variable independiente Composición química de los tallos de <i>Vernonia gracilis</i> Kunth.....	54
7	Resultados obtenidos del porcentaje de rendimiento.....	65
8	Tamizaje fitoquímico de los extractos hexano, diclorometano y etanol de los tallos de la especie <i>Vernonia gracilis</i> Kunth.....	69
9	Resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de..... diclorometano y etanol de los tallos de la especie <i>Vernonia gracilis</i> Kunth.....	75

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Nº		Pág.
1	Procedimiento de la Investigación.....	63

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”



COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS TALLOS

DE *Vernonia gracilis* Kunth

Trabajo de Grado II

Autora:

Loris Coromoto Graterol Moret

Tutora:

Profesora Alida Pérez

RESUMEN

Vernonia gracilis Kunth es una especie botánica de arbustos perteneciente a la familia Asteraceae. Esta investigación tuvo como objetivo confirmar la relación entre la actividad antibacteriana y la composición química de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth. Los extractos se obtuvieron por maceración, se realizaron pruebas químicas de coloración y/o precipitación para detectar los metabolitos secundarios, presentes en los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de los tallos de la especie *Vernonia gracilis* Kunth y la evaluación de la actividad antibacteriana se efectuó mediante el método de Kirby-Bauer. Se determinó la presencia de alcaloides y compuestos fenólicos en el extracto de etanol, triterpenos y esteroides en los extractos de hexano, diclorometano y etanol. Los extractos de diclorometano y etanol fueron activos frente a *Staphylococcus aureus* (7 mm), *Klebsiella pneumoniae* (7 mm) y *Pseudomonas aeruginosa* (8 mm y 7 mm), respectivamente; mientras que el extracto de diclorometano presentó actividad contra *Enterococcus faecalis* (7 mm).

Palabras Clave: *Vernonia gracilis* Kunth, composición química, actividad antibacteriana, cepas grampositivas y gramnegativas.

INTRODUCCIÓN

Los extractos equivalen a preparar un jugo, añadiendo el solvente y las plantas medicinales, obteniéndose sus principios activos. Muchos extractos de plantas como *Vernonia gracilis* Kunth son recomendados por médicos naturistas a sus pacientes para el tratamiento de piodermias en baños para alergias y lavar heridas. Este efecto se debe a los componentes químicos que poseen actividad antibacteriana y que tienen capacidad de inhibir o destruir el microorganismo patógeno (Álvarez, 2006; Negroni, 2009; Canel, 2012).

Junto a su actividad antimicrobiana los extractos provenientes de las plantas poseen otras aplicaciones de importancia clínica, entre las que podemos destacar: antiinflamatoria, analgésicas, antioxidantes, inmunomoduladoras, espasmolíticas y sedantes. La importancia de esta investigación radica en la proliferación de enfermedades causada por microorganismos patógenos siendo una preocupación generalizada, que constituye un factor de riesgo de salud pública, así como la resistencia bacteriana que han adquirido y que continúa en aumento y representa serios retos para el tratamiento de infecciones. Las bacterias utilizan diversos mecanismos para defenderse de los antibióticos, además de encontrarse en constante evolución (Corzo, 2012; Chilquillo y Cervantes, 2017).

Por ello, en los últimos años el hombre ha encontrado en los recursos naturales la solución a diferentes problemáticas, empleando las plantas a nivel alimenticio, industrial y medicinal, convirtiéndose de esta manera, en materias primas de vital importancia para el avance de la humanidad, es así como los productos naturales han desempeñado un papel importante y se ha demostrado en diversas investigaciones el poder antibacteriano de los extractos derivado de las plantas (Tafur, Torres y Villegas, 2008; Corzo, 2012).

El objetivo de esta investigación fue confirmar la relación entre la actividad antibacteriana y la composición química de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth.

Este trabajo de investigación estará estructurado de la siguiente manera: El Capítulo I, denominado el problema, formado por los siguientes subtítulos: Planteamiento del Problema, Justificación de la Investigación, Objetivos de la Investigación, Alcances y Limitaciones de la Investigación a llevar a cabo. El Capítulo II, llamado Marco Teórico, en el que se describen los Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Definición de Términos, Operacionalización de las Variables e Hipótesis. El Capítulo III, titulado Marco Metodológico, consta de los siguientes subtítulos: Tipo de Investigación, Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Sistema de Variables, Procedimientos y Diseño de análisis. El Capítulo IV, describe los Resultados y Discusiones, finalmente el Capítulo V hace referencia a las Conclusiones y las Recomendaciones.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

La resistencia a los antibióticos está aumentando en todo el mundo a niveles peligrosos. Día tras día están apareciendo y propagándose en todo el planeta nuevos mecanismos de resistencia que ponen en peligro nuestra capacidad para tratar las enfermedades infecciosas comunes. Un creciente número de infecciones, como neumonía, tuberculosis, septicemia, gonorrea, son cada vez más difíciles y a veces, imposibles de tratar, a medida que los antimicrobianos van perdiendo eficacia (Serra, 2017).

El incremento de la resistencia a los antimicrobianos ha sido impulsado por un conjunto de diversos factores, incluyendo la prescripción y venta inapropiada de antibióticos, su uso indiscriminado en procesos infecciosos virales, el abandono del tratamiento por algunos pacientes sin concluirse lo prescrito y factores intrínsecos de las bacterias por mutaciones genéticas (Serra, 2017).

El problema se ha agravado con la escasez de incentivos económicos para el impulso de nuevos productos farmacéuticos, sobre todo, en países de escaso y los en vía de desarrollo. La importancia de la vigilancia epidemiológica general en las instituciones y localidades, prescribir antibióticos sólo cuando sean necesarios, cuidar los aspectos básicos de higiene como el lavado de manos, generar y atender las campañas sobre el buen uso de antibióticos, son significativos para el enfrentamiento a esta problemática de salud (Lobato, 2019).

Después de describir la situación actual del problema la autora de esta investigación presenta el siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál es la relación entre la composición química de tallos de *Vernonia gracilis* Kunth y la actividad antibacteriana?

Justificación de la Investigación

Se puede afirmar que el uso de las plantas medicinales nació casi con el hombre. Desde los tiempos prehistóricos hasta comienzos del siglo XIX, por ensayo y error, éste utilizó los elementos que la naturaleza brindaba para curar enfermedades y las de sus animales, así mismo para mejorar su estado de ánimo. Esta práctica médica pasaba y se perfeccionaba de generación en generación, por lo cual se denominó medicina tradicional. Hasta el siglo XVIII se conocían las propiedades curativas de las plantas, su efecto sobre el organismo y su modo de aplicación, pero se desconocían sus principios activos (Fonnegra y Jiménez, 2007).

Desde tiempos remotos las plantas han cumplido un papel importante en el área terapéutica gracias a las múltiples propiedades que ellas poseen. Por esta razón en las últimas décadas ha ido tomando cada día mayor importancia su estudio y el desarrollo de técnicas analíticas que permitan la determinación e identificación de las sustancias o principios activos contenidos en las plantas medicinales (Lizcano y Vergara, 2008).

La práctica de la medicina herbaria se basa en el uso terapéutico de las plantas medicinales como sustitutas de las medicinas farmacéuticas. De las plantas se usan sus extractos en diversas formas de preparación, para mejorar el estado de salud, para aliviar las afecciones como dolor de cabeza, quemaduras, dolor de encías, estreñimiento, dolores estomacales, problemas de ovarios, obesidad, fiebres, epilepsia, cálculos biliares, gastritis, flemas de pecho, desinflamantes y antitumorales. Además, muchos extractos de

Vernonia gracilis Kunth son recomendados por médicos naturistas para el tratamiento de infecciones de la piel (García, 2007).

Los argumentos anteriores justifican el por qué se escogió estudiar la actividad antibacteriana y la composición química de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación entre la actividad antibacteriana y la composición química de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth.

Objetivos Específicos

- Obtener los extractos de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth, mediante el proceso de extracción por maceración.
- Detectar cualitativamente los metabolitos secundarios de los extractos de los tallos de *V. gracilis* Kunth, a través de pruebas químicas de coloración y/o precipitación.
- Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de diclorometano y etanol de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth, mediante el método difusión en disco (Kirby-Bauer).

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

Los alcances de una investigación se refieren a la amplitud de lo que se quiere saber, es decir, el conocimiento a adquirir durante el proceso de

indagación (Hernández, Fernández y Baptista, 2010). En cuanto a la profundidad del conocimiento, se logró determinar sensibilidad antibacteriana de los extractos de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth, frente a las bacterias grampositivas y bacterias gramnegativas ensayadas.

Limitaciones de la Investigación

En el desarrollo de esta investigación se encontraron limitantes por las fallas constantes del suministro de energía eléctrica, agua, dificultad con el transporte público, limitaciones técnicas por la escasez y altos costos de reactivos y del material para elaborar la parte experimental, como la adquisición del agar Müeller Hinton con el que se analizó la actividad antibacteriana de los extractos de diclorometano y etanol de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth. Así también, inconvenientes en la recolección de la planta ubicada en las afueras de la ciudad de Mérida (Municipio Sucre, ciudad de Lagunillas, situado a 30 km) y la poca cantidad de la misma.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Jepkoech, Kerubo, Nchiozem, Kenanda, Guefack, Mbaveng, Kuete y Heydenreich (2022), publicaron un estudio titulado “Metabolitos secundarios antibacterianos de *Vernonia auriculifera* Hiern (Asteraceae) contra fenotipos multirresistentes”. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antibacteriana del extracto de *Vernonia auriculifera* y de las cepas aisladas frente a microorganismos multirresistentes. El estudio arrojó metabolitos secundarios conocidos como estigmasterol (1), apigenina (2), diosmetina (3) y D-manitol (4) (Figura 1), se determinaron basándose en métodos espectroscópicos; el extracto fue evaluado contra tales microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Providencia stuartii*. Los autores concluyeron que el extracto etanólico de *V. auriculifera* mostró una fuerte actividad antibacteriana contra el 100 % de las cepas bacterianas probadas, a una CIM < 100 µg/mL, en comparación con la Ciprofloxacina®, demostrando que podría ser una fuente potencial de fitofármacos para el control de infecciones bacterianas multirresistentes.

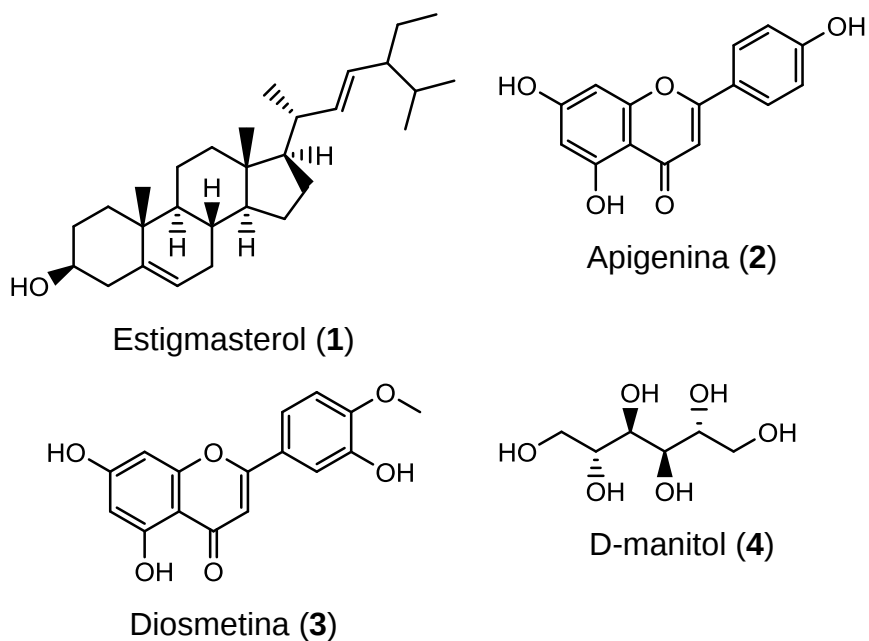


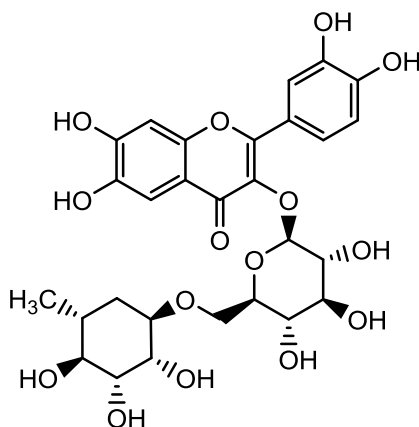
Figura 1. Compuestos aislados de la especie *Vernonia auriculifera* Hiern

Tomado y modificado de Jepkoech y cols., 2022.

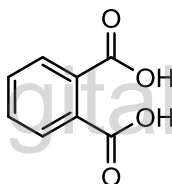
www.bdigital.ula.ve

Joshi, Pandey, Maiti, Tripathi, Paliwal, Nand, Sharma, Samant, Pande, y Chandra (2021), publicaron un estudio titulado “Actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de *Vernonia cinerea* contra *Xanthomonas oryzae* e identificación de sus compuestos mediante técnicas *in silico*”. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de *V. cinerea*. En los resultados obtenidos se observó que el extracto metanólico de la planta fue el más eficaz entre tres extractos de disolventes (cloroformo, cloroformo+etanol y etanol) y mostró una mejor zona de inhibición a diferentes concentraciones (25 µg/mL, 50 µg/mL y 100 µg/mL). Los autores concluyeron que, se pueden utilizar moléculas específicas como rutina (5) y ácido 1,2-benceno dicarboxílico (6) (Figura 2) de *V. cinerea* para desarrollar potenciales pesticidas naturales y pueden proporcionar mejores oportunidades para la innovación y el desarrollo de

compuestos antimicrobianos respetuosos con el medio ambiente contra la infección por *X. oryzae* en el arroz.



Rutina (5)



Ácido 1,2-benceno dicarboxílico (6)

Figura 2. Compuestos aislados de la especie *Vernonia cinerea*

Tomado y modificado de Joshi y cols., 2021.

Fairuz, Farhanah, Muda, Asib, Zaharah, Abu y Izera (2020), publicaron un artículo que llevó como título "Actividad antifúngica y detección fitoquímica de extracto de *Vernonia amygdalina* contra *Botrytis cinerea* causando la enfermedad del moho gris en las frutas de tomate". El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antifúngica de los extractos de hojas de *V. amygdalina* contra *B. cinerea* y detectar los compuestos fitoquímicos en el extracto crudo que tuvo la mayor actividad antifúngica mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM). Los resultados demostraron que el extracto de diclorometano de *V. amygdalina* podría ser

útil para inhibir la enfermedad del moho gris en frutos de tomate. Entre los compuestos aislados destacan el escualeno (7), fitol (8), triacontano (9) y heptacosano (10) (Figura 3) con alta actividad antifúngica. Los autores concluyeron que se aislaron: triterpenos como escualeno, diterpenos como fitol, hidrocarburos alifáticos como triacontano y heptacosano.

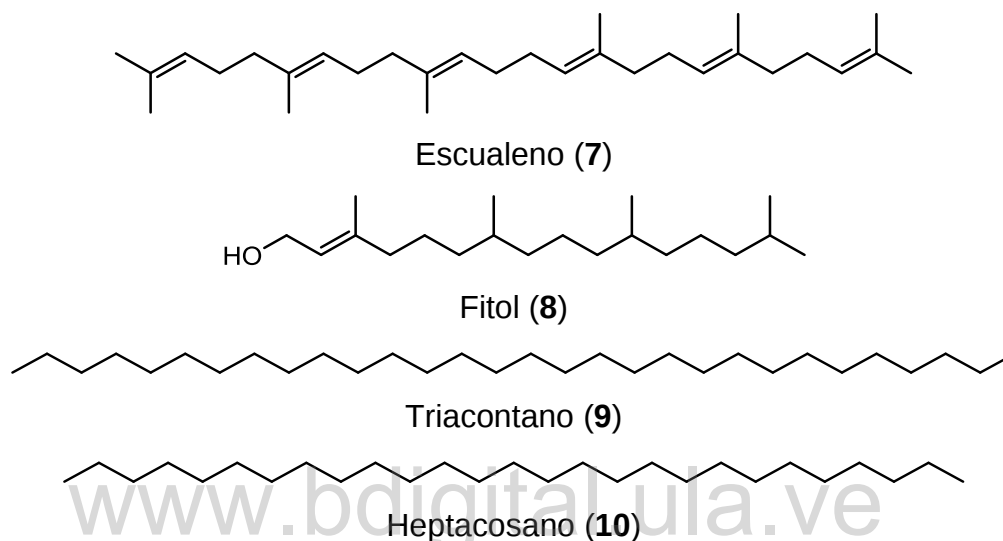
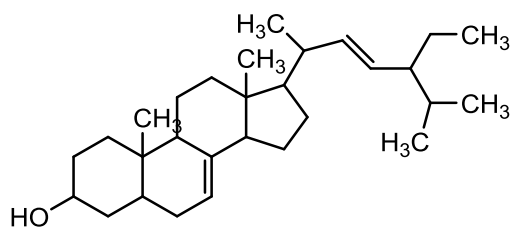


Figura 3. Compuestos aislados de las hojas de *Vernonia amygdalina*
Tomado y modificado de Fairuz y cols., 2020.

Unuofin, Oladipo, Msagati, Lebelo, Meddows-Taylor y More (2020), realizaron un artículo que se tituló “Nueva nanoaleación bimetálica de plata-platino (AgPtNP) sintetizada a partir de los extractos de *Vernonia mespilifolia*: actividad antioxidante, antimicrobiana y citotóxica”. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante, antimicrobiana y citotóxica de los extractos de *Vernonia mespilifolia*. Los resultados obtenidos demostraron que las nanopartículas o AgPtNP sintetizados de *V. mespilifolia* tenían alta capacidad de depuración de radicales libres, así como una potente actividad antimicrobiana frente a los patógenos ensayados. La concentración inhibitoria mínima (CIM) de AgPtNPs tuvo la más fuerte actividad inhibidora

frente a la cepa grampositiva (*S. aureus*: 32,5 µg/mL), seguido de 250 µg/mL y 125 µg/mL contra *E. coli* y *C. albicans*, respectivamente y una gran citotoxicidad selectiva hacia la línea celular de cáncer de mama MCF-7, concluyendo que la bioactividad mostrada destacó su potencial en aplicaciones biomédicas terapéuticas.

Mozirandi, Tagwireyi y Mukanganyama (2019), realizaron un artículo que se tituló “Evaluación de la actividad antimicrobiana del condriasterol aislado de *Vernonia adoensis* (Asteraceae)”. El objetivo de este estudio fue aislar los compuestos bioactivos del extracto de acetona de las hojas y evaluar su actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* por el método de microdilución en caldo. Los resultados demostraron que el condriasterol (**11**) (Figura 4) a una concentración de 100 µg/mL, posee actividad antibacteriana contra todas las cepas analizadas, la bacteria más susceptible fue *P. aeruginosa* cuyo crecimiento fue inhibido en un 65 %, *K. pneumoniae* en un 38 % y *S. aureus* en un 25 %. Los autores concluyeron que los extractos de *Vernonia adoensis* tienen potencial antibacteriano contra cepas de interés clínico.



Condriasterol (**11**)

Figura 4. Compuesto aislado de las hojas de *Vernonia adoensis*.

Tomado y modificado Mozirandi y cols., 2019.

Habtamu y Melaku (2018), publicaron una investigación que se tituló: “Compuestos antibacterianos y antioxidantes de los extractos de flores de *Vernonia amygdalina*”. El objetivo de este estudio se basó en identificar los

compuestos antibacterianos y antioxidantes de las flores de *V. amygdalina*. Como resultado el extracto de cloroformo condujo al aislamiento de dos compuestos identificados como tricosano (**12**) y vernolida (**13**), mientras que el extracto de acetona proporcionó isorhamnetina (**14**) y luteolina (Figura 5). Como resultado los extractos inhibieron significativamente el radical 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH). Los autores concluyeron que los extractos y compuestos ensayados a una concentración de 100 µg/mL, muestran alta actividad antibacteriana; mientras que, la actividad antioxidante presentada por el extracto de acetona y la isorhamnetina fueron significativas. Todos los trabajos descritos anteriormente, son de gran importancia puesto que los resultados de los mismos aportaron una orientación para la realización de esta investigación.

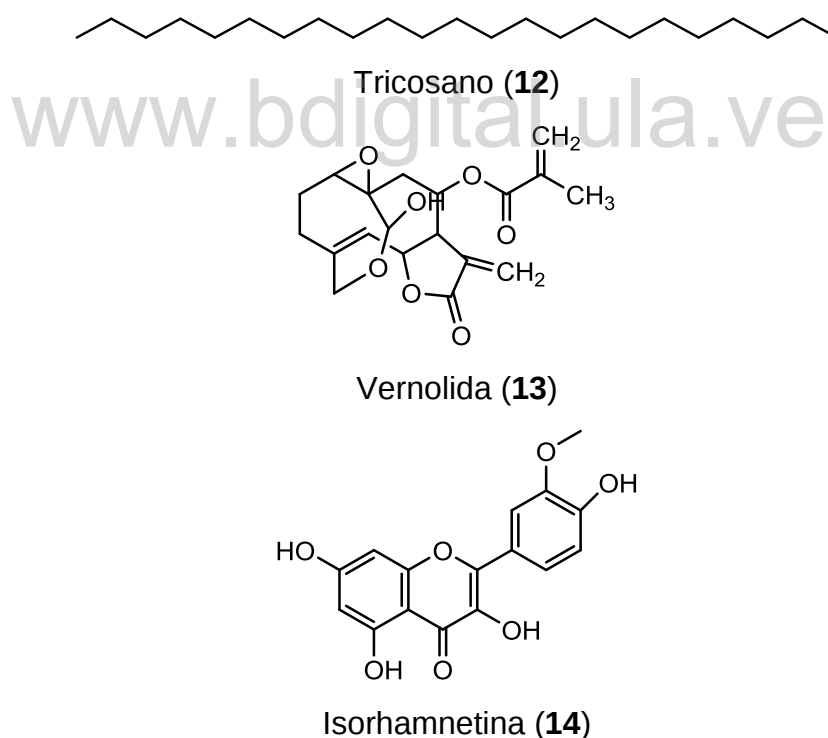


Figura 5. Compuestos aislados de las flores de *Vernonia amygdalina*
Tomado y modificado de Habtamu y Melaku, 2018.

Antecedentes Históricos

La tribu Vernonieae Cass., constituye uno de los grupos más grandes de la familia Asteraceae, con alrededor de 1700 especies distribuidas en las regiones tropicales de Asia, África y América. La mayoría de las especies pertenecen al extenso género *Vernonia* Shreb, que comprende alrededor de 1000 especies, de las cuales el 50 % crecen en el nuevo mundo. Las especies de este género presentan una gran variación en el hábito y morfología. Los géneros americanos se hallan agrupados actualmente en 10 subtribus, que se distinguen principalmente por el tipo de polen, el número de flores, el tipo de receptáculo, el número cromosómico y la presencia de metabolitos secundarios como lactonas sesquiterpénicas. En Sudamérica, las Vernonieae están representadas por alrededor de 350-360 especies que habitan principalmente en el norte de Argentina, Bolivia, Brasil y Paraguay (Angulo, Vega y Dematteis, 2012; Canel, 2012).

La delimitación tribal de Vernonieae se ha mantenido prácticamente sin cambios desde que fue propuesta por Cassini, sin embargo, la tribu ha presentado diversos problemas taxonómicos, debido principalmente al gran número de especies agrupadas en el género *Vernonia* Schreb. La gran variación en hábito y morfología de las especies, llevó a diferentes autores a adoptar distintos criterios en la delimitación taxonómica, circunscribiéndose *Vernonia* principalmente a Norteamérica y segrega casi todas las especies sudamericanas a nuevos géneros (Angulo, Vega y Dematteis, 2012). Tal como se delimita actualmente la tribu, dos de los grupos más grandes son los géneros *Lessingianthus* H. Rob. [= *Vernonia* sect. *Lepidaploa* (Cass.) DC. subsect. *Macrocephalae* Benth. & Hook.] y *Lepidaploa* (Cass.) Cass. [= *Vernonia* sect. *Lepidaploa* (Cass.) DC. subsect. *Axilliflorae* Benth. & Hook.] (Dematteis 2006; Borges y Dematteis 2008; Dematteis y Angulo 2014).

Los géneros *Lepidaploa* (Cass.) Cass y *Lessingianthus* H. Rob. (Vernonieae, Asteraceae) fueron establecidos para separar a las especies inicialmente ubicadas en *Vernonia* Schreb. En el año 1988 y el año 1990, Robinson indicó que no se han producido discusiones con respecto a los límites del género *Lessingianthus* y el género *Lepidaploa*, respectivamente. Las únicas novedades han sido la descripción de nuevas especies o combinaciones y la resolución de algunos problemas nomenclaturales puntuales, sin embargo; algunas especies todavía incluidas en *Vernonia* no han sido estudiadas apropiadamente y en consecuencia su posición y estatus taxonómicos permanecen inciertos (Dematteis 2006; Borges y Dematteis 2008; Dematteis y Angulo 2014).

Tal como se delimitan actualmente, *Lepidaploa* está compuesto por alrededor de 150 especies ampliamente distribuidas en Sudamérica, mientras que *Lessingianthus* presenta 120 especies con una gran concentración en el sudeste de Brasil. El género *Lepidaploa* (Cass.) Cass., en Venezuela posee 20 especies incluye entre sus miembros tres especies de distribución restringida, *Lepidaploa carachensis*, *Lepidaploa imeriensis* y *Lepidaploa pari*. Una de estas especies *Lepidaploa carachensis*, se distribuye geográficamente de forma restringida al estado Trujillo, tiene un rango altitudinal: 1.500-2.400 m.s.n.m, se encuentra en Bosques montañosos andinos de Venezuela. Además, *Lepidaploa imeriensis*, se distribuye geográficamente en el estado Amazonas, sobre bancos arenosos de río, su rango altitudinal oscila entre 1.725-2.100 m.s.n.m., *Lepidaploa pari*, se encuentra presente sólo en el estado Bolívar, municipios Piar y Gran Sabana, su rango altitudinal oscila entre 970-1600 m.s.n.m., y su ecorregión en selvas húmedas de alta montaña de la Guayana. También es importante mencionar a la especie *Lepidaploa gracilis* Kunth, si bien hay pocos reportes a cerca de esta, se conoce que su sinónimo es *Vernonia gracilis* Kunth, nombre con el cual fue realizada esta investigación (Lasser, 1964; Benítez y Granada, 2017).

Bases Teóricas

Familia Asteraceae

El nombre “Asteraceae” deriva del género tipo de la familia Aster, término que a su vez significa estrella y hace alusión a la forma de la inflorescencia. Es uno de los grupos de plantas vasculares más grandes que hay; se estima que a nivel mundial existen alrededor de 1.535 géneros y de 23.000 a 32.000 especies. Las plantas que integran esta familia son un grupo altamente heterogéneo respecto a la morfología de sus partes vegetativas (raíces, tallos, hojas, indumento, etc.), ya que presentan casi todos los tipos de formas, disposición y arreglo; en cambio, es conspicuamente homogéneo en cuanto a la morfología de la inflorescencia que las hace verdaderamente inconfundibles. Son plantas herbáceas anuales o perennes, más raramente arbustos o árboles. Se caracterizan por presentar las flores agrupadas en capítulos, inflorescencia que funcionalmente se comporta como una flor. Sus hojas sin estípulas, generalmente alternas, en ocasiones en roseta basal; pueden presentar espinas. Presenta flores hermafroditas, unisexuales o estériles, sin cáliz o con éste reemplazado por vilano de pelos o escamas. Los frutos son tipo aquenio o cipsela, puede presentar en su extremo superior vilano, en ocasiones sobre una prolongación estrecha o pico, puede almacenar inulina, un polisacárido, como sustancia de reserva (Casco, 2009; Tapia, 2010; Delbón, Cosa y Bernardello, 2012; Canel, 2012).

La familia Asteraceae es el grupo más evolucionado de las dicotiledóneas, su distribución es cosmopolita y se considera la más abundante de las angiospermas en el mundo, pero se halla mejor representada en regiones semiáridas, tropicales y subtropicales. Las asteráceas representan una considerable importancia ecológica y económica

al integrar un alto porcentaje de la flora vernácula en muchas regiones del mundo. Tienen gran relevancia desde el punto de vista económico, ya que incluyen una gran variedad de usos como: plantas comestibles como la “lechuga”, medicinales como: “manzanilla”, especies cultivadas por sus semillas oleaginosas como el “girasol” y en la industria en la obtención de los ácidos grasos epoxi de *Vernonia* (Casco, 2009; Tapia, 2010; Delbón, Cosa y Bernardello, 2012; Canel, 2012). Taxonómicamente, se clasifica de la siguiente manera:

- **Reino:** Plantae
- **Subreino:** Tracheobionta
- **División:** Angiospermae
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Orden:** Asterales
- **Familia:** Asteraceae

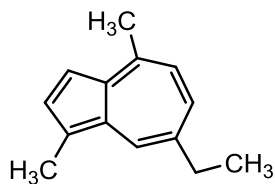
Actividad farmacológica y composición química de la familia Asteraceae

La familia de las asteráceas es una de las más empleadas en la medicina tradicional para tratamientos en numerosas dolencias. Diversos estudios han demostrado que especies de esta familia presentan actividad antiinflamatoria, antioxidante, antimicótica y antibacteriana. Esto se debe a metabolitos secundarios presentes en la planta, como terpenos, sesquiterpenos, triterpenos, lactonas sesquiterpénicas (Tabla 1, Figura 6) (Fahn, 1979; Evert, 2006; Delbón, Cosa y Bernardello, 2012; Canel, 2012).

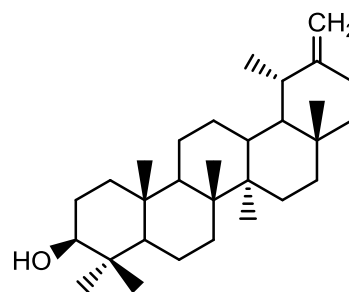
Tabla 1. Actividad farmacológica y composición química de la familia Asteraceae

Actividad farmacológica	Especies	Composición química	Referencias
Antiinflamatoria	<i>Matricaria ecutita</i>	Camazuleno (15)	(Vikas, Payal, Parveen, Sukhbir, y Dhirender, 2010).
	<i>Achillea millefolium</i>		(Ramadan, Goeters, Watzer, Krause, Lohmann, Bauer, Hempel y Imming, 2006).
	<i>Taraxacum officinale</i>	Taraxasterol (16)	(Wang, Li, Liu, Xu, Wang y Zhang, 2016).
Antioxidante	<i>Viguiera sylvatica</i> <i>Decachaeta thieleana</i>	Germacranólido (17)	(Dupuy, Murillo, y Bonilla, 2008).
Antimicótica	<i>Baccharis uncinella</i>	Espatulanol (18)	(Ascari, 2007).
Antibacteriana	<i>Tagetes patula</i>	Limoneno (19)	(Brijesh, Rohit, Suresh y Birendra, 2012).
	<i>Wedelia calycina</i>		(Nirmal, Chavan, Tambe, Jadhav, Ghogare, Bhalkey Girme, 2005).

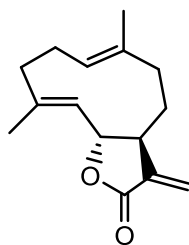
Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.



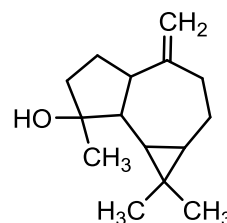
Camazuleno (15)



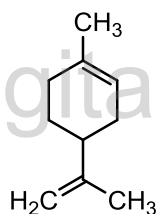
Taraxasterol (16)



Germacranólido (17)



Espatulenol (18)



Limoneno (19)

Figura 6. Algunos compuestos aislados de la familia Asteraceae

Tomado y modificado de Nirmal y cols., 2005; Ramadan y cols., 2006; Ascari, 2007; Dupuy y cols., 2008; Vikas y cols., 2010 y Wang y cols., 2016.

Género *Vernonia*

Es un género constituido por aproximadamente 1.000 especies de arbustos, que pertenecen a la familia Asteraceae, fue nombrado en honor al botánico inglés William Vernon. Se caracteriza por ser arbusto o árbol puede alcanzar hasta 2-3 m y 6 m de alto, respectivamente. Las ramas son tomentulosa o glabras, las hojas cortas pecioladas, oblongas a lanceoladas,

simples, alternas mayoría de 6-15 cm de largo y 1,5-3 cm de ancho, agudo o acuminado obtuso o agudo en la base, márgenes enteros a veces denticulados, inflorescencia usualmente de 20-30 cm. Las flores se presentan en panículas terminales con flores pequeñas, aromáticas, de color blanco, rosado o morado. Se reproduce por estacas y semillas (Rojas, Bermúdez y Jiménez, 2006; Gtedhill, 2008).

Se distribuye naturalmente en la mayoría de los países de África y América del Sur, se han descrito más de 300 especies de África, y aproximadamente un tercio se encuentra en Madagascar, crece a altitudes entre 100- 2.300 metros. Es un género muy común en claros de bosques y praderas, a orilla de carreteras y jardines. Se encuentra a orilla de ríos y lagos, a veces es cultivada o mantenida en las fincas luego de su presencia espontánea, crece en tierras de cultivo abandonadas. Requiere de luz solar plena en el cultivo, la floración se induce por días cortos, prefiere un ambiente húmedo aunque es resistente a la sequía, se puede encontrar en todos los tipos de suelo, pero funciona mejor en suelos ricos en humus (Grubben, 2004).

Las semillas de esta planta oleaginosas son ricas (70-80 % del total de ácidos grasos) en ácidos grasos epoxidados. Los aceites epoxi tienen amplio uso en plastificantes y en aditivos para la manufactura de resinas. En África, *Vernonia galamensis* es utilizado como aceite de semilla, *Vernonia amygdalina* (Figura 7) es la especie más cultivada y estudiada del género *Vernonia*, que cuenta con unas 1.000 especies de arbustos, normalmente, no produce semillas sino que su cultivo suele realizarse mediante la plantación de tallos y crece sobre todo en zonas tropicales. Se encuentra principalmente a lo largo de los drenajes, las plantaciones comerciales o los bosques, es un arbusto arbolado de unos 2 a 10 m de altura que se regenera rápidamente después de plantado. Las hojas tienen forma peciolada, su sabor amargo se ha asociado con la presencia de saponinas, alcaloides, taninos y glucósidos; es un sustituto del lúpulo utilizado para controlar la contaminación microbiana

en la elaboración de la cerveza sin reducir la calidad de la malta, puede cosecharse dos veces al mes durante el período de siete años. En Uganda de las hojas producen un polvo verdoso y es consumida como té por los pacientes que sufren de malaria, en Nigeria es una hortaliza muy consumida siendo un ingrediente clave del Ndolé (Iwu, 1993; Grubben, 2004; Rojas, Bermúdez y Jiménez, 2006; Alaraa, Abdurahmana, Abdul y Olalerea, 2017).



Figura 7. Arbusto de *Vernonia amygdalina*

Tomado y modificado de Grubben, 2004

Varios estudios fitoquímicos realizados sobre *Vernonia amygdalina*, revelaron que esta planta está enriquecida con proteínas, grasas, fibras, aminoácidos, minerales vitaminas y carbohidratos; también han sugerido que contiene compuestos bioactivos entre ellos, flavonoides, saponinas, alcaloides, taninos, fenoles, triterpenoides y varios tipos de lactonas sesquiterpénicas; estos le confieren diferentes propiedades farmacológicas como antimicrobianas antimalárico, antitrombótico, antioxidante, antidiabético, laxante, hipoglucémico, antihelmíntico, antiinflamatorio, catártico, anticancerígeno, antifúngico y antibacteriano (Alaraa y cols., 2017).

La especie *Vernonia guineensis* Benth conocida localmente como "ginseng africano", es una planta herbácea que se distribuye principalmente por África, desde Malí hasta el oeste de Camerún, los tubérculos enteros, parecidos a la zanahoria, son vendidos por los herbolarios en los mercados y es de gran importancia debido a su uso en preparados tradicionales para el tratamiento de la malaria y la ictericia. De sus raíces, se aislaron algunos

compuestos químicos, como una nueva ceramida, llamada vernoguinaamida (**20**) (Figura 8), junto con otros compuestos más, incluidos tres antraquinonas: physion (**21**), eritroglauquina (**22**) y emodina (**23**) (Figura 9), triterpenoides: hop-17(21)-en-3 β -il acetato (**24**), lupeol (**25**) y ácido betulínico (**26**) (Figura 10), esteroides: vernoguinosido (**27**) (Figura 11) y estigmasterol y tres ácidos grasos derivados: ácido tetracosanoico (**28**), ácido tricosánico (**29**) y éster de glicerol de ácido araquídico (**30**) (Figura 12). Las antraquinonas physion y emodina y el triterpeno hop-17(21)-en-3 β -il acetato, se aislaron por primera vez del género *Vernonia*. Los compuestos aislados fueron probados por su actividad antibacteriana, el metabolito más activo fue la antraquinona eritroglauquina contra *E. coli* (CIM de 62,5 μ g/mL) y *Shigella flexneri* (CIM de 31 μ g/mL) (Wouamba, Happi, Lenta, Sewald y Kouam, 2020).

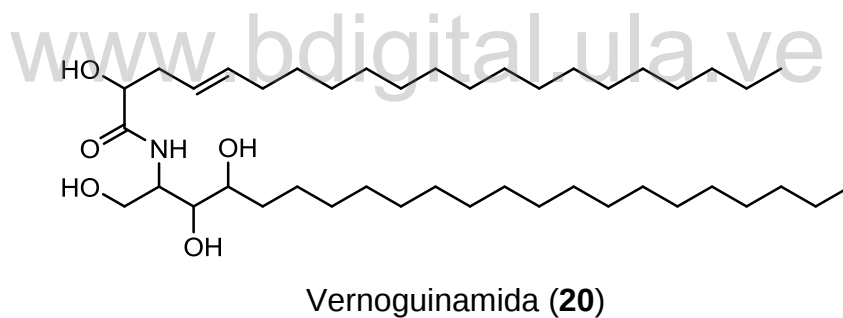
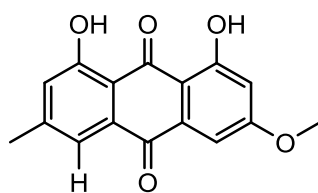
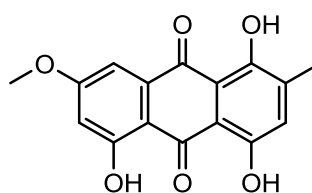


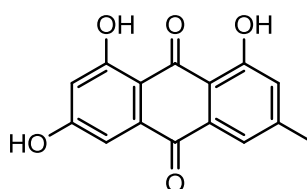
Figura 8. Ceramida aislada de la especie *Vernonia guineensis* Benth
Tomado y modificado de Wouamba y cols., 2020.



Physion (21)

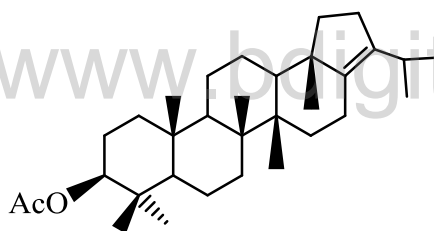


Eritroglaucina (22)

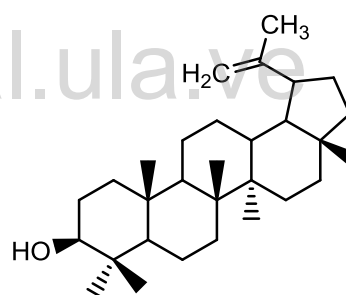


Emodina (23)

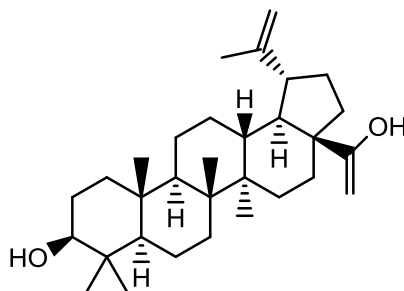
Figura 9. Antraquinonas aisladas de la especie *Vernonia guineensis* Benth
Tomado y modificado de Wouamba y cols., 2020.



Hop-17(21)-en-3β-il acetato (24)

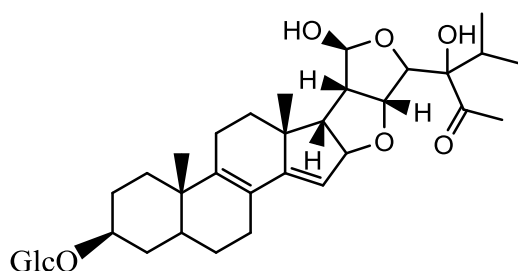


Lupeol (25)



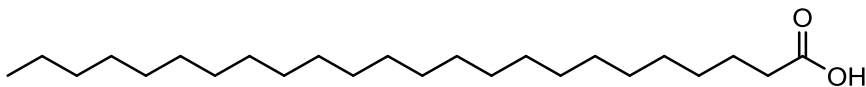
Ácido betulínico (26)

Figura 10. Triterpenos aislados de la especie *Vernonia guineensis* Benth
Tomado y modificado de Wouamba y cols., 2020.

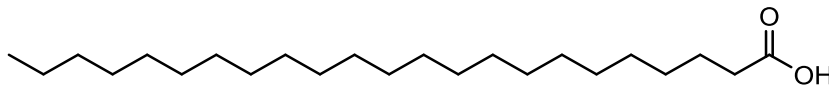


Vernoguinosido (27)

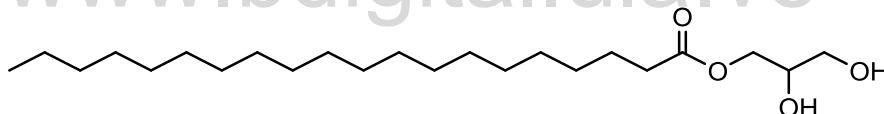
Figura 11. Esteroide aislado de la especie *Vernonia guineensis* Benth
Tomado y modificado de Wouamba y cols., 2020.



Ácido tetracosanoico (28)



Ácido tricosanico (29)



Éster de glicerol de ácido araquídico (30)

Figura 12. Ácidos grasos derivados aislados de la especie *Vernonia guineensis* Benth

Tomado y modificado de Wouamba y cols., 2020.

En lo que respecta a su actividad, algunos autores encontraron que las fracciones de solventes como n-hexano, cloroformo, y acetato de etilo de *Vernonia cinerea* poseen actividad antioxidante y antimicrobiana contra la mayoría de las bacterias patógenas humanas probadas (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* y *Aspergillus flavus*). Los organismos más susceptibles fueron *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y

Pseudomonas aeruginosa; la fracción de acetato de etilo demostró la mayor actividad, por lo que podría explorarse como un candidato para la búsqueda futura de agentes antimicrobianos para la curación y el tratamiento de diferentes dolencias según otros estudios (Mubo, Oluwafunmilola y Okorie, 2016). Taxonómicamente se divide de la siguiente manera:

- **Reino:** Plantae
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Orden:** Asterales
- **Familia:** Asteraceae
- **Subfamilia:** Cichorioideae
- **Tribu:** Vernonieae
- **Género:** *Vernonia*

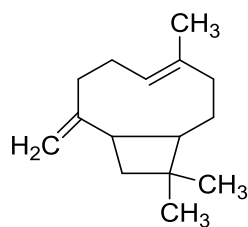
Actividad farmacológica y composición química del género *Vernonia*

El género *Vernonia* ha sido utilizado por diversas culturas en la medicina natural, existen diversos estudios que han permitido comprobar la actividad antibacteriana, antioxidante y antiinflamatoria de diferentes especies de *Vernonia*. Además, muchos extractos de las hojas de *Vernonia brasiliana* presentan actividad contra *Plasmodium falciparum* en los ensayos *in vitro*, el lupeol se identificó como el compuesto responsable de la actividad antimalárica. Muchas especies de este género contienen lactonas sesquiterpénicas, sesquiterpenos, esteroides, flavonoides, triterpenos (Tabla 2, Figura 13) (Iwu, 1993; Blair y Madrigal, 2005; Canel, 2012).

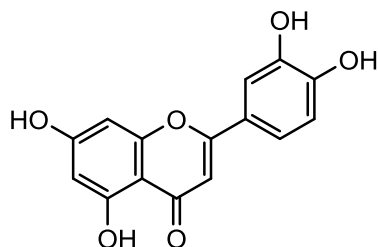
Tabla 2. Actividad farmacológica y composición química del género *Vernonia*

Actividad Farmacológica	Especies	Composición química	Referencias
Antibacteriana	<i>Vernonia colorata</i>	Vernolida (13)	(Rabe, T., Mullholland, D., y Van Staden, 2002).
	<i>Vernonia amygdalina</i>		(Habtamu y Melaku, 2018).
	<i>Vernonia brasiliiana</i>	β - cariofileno (31)	(Maia, Torres, Pessoa, De Menezes, Costa, Nogueira, Maciel, De Souza, Cavalcante y Albuquerque, 2010).
	<i>Vernonia remotiflora</i>		
	<i>Vernonia adoensis</i>	Condriasterol (11)	(Mozirandi, Tagwireyi y Mukanganyama, 2019).
Antioxidante	<i>Vernonia amygdalina</i>	Luteolina (32)	(Habtamu, y Melaku, 2018).
Antimalárica	<i>Vernonia brasiliiana</i>	Lupeol (25)	(Blair y Madrigal, 2005).

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.



β - cariofileno (31)



Luteolina (32)

Figura 13. Compuestos obtenido en el género *Vernonia*

Tomado y modificado de Maia y cols., 2010; Habtamu, y Melaku, 2018.

Espece *Vernonia gracilis* Kunth

Es una especie perteneciente a la familia Asteraceae. Es una planta herbácea, erecta hasta subdecumbente; haciéndose glabros con el tiempo. Hojas alternas, sésiles o muy brevemente pecioladas, oblongas o estrechamente oblongo-lanceoladas, agudas hasta cortamente acuminadas en el ápice, obtusas hasta redondeadas en la base, 3-7 cm de largo, 1,5-3 cm de ancho, escasamente pilosas por ambas caras, glándulas rojizas abundantes en la cara inferior, crenadas hasta enteras, membranáceas, penninervadas; pecíolos 1 mm de largo o no diferenciado de la lámina foliar (Lasser, 1964).

Cabezuelas sésiles, solitarias o en grupos de 2-4 en las axilas de las hojas superiores, formando una inflorescencia cimosa diferenciada, conteniendo 21-26 flores. Involucro anchamente acampanado, 4-5 mm de largo, 3-4 seriado; brácteas externas de base triangular y aristadas, aristas

igual o más cortas que la base, loas internas obtusas o redondeadas en el ápice, puberulentas o glabras. Corolas pilosas en los lóbulos y de unos 6 mm de largo. Aquenios débilmente pubescentes, glandulosos y de 1,5-2 mm de largo. Papus blanco, biseriado; serie externa constituida por escamas anchamente oblongas de 1-1,2 mm de largo; serie interna constituida por aristas de 4-5 mm de largo (Figura 14) (Lasser, 1964). Taxonómicamente se divide de la siguiente forma:

- **Reino:** Plantae
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Orden:** Asterales
- **Familia:** Asteraceae
- **Subfamilia:** Cichorioideae
- **Tribu:** Vernonieae
- **Género:** *Vernonia*
- **Especie:** *Vernonia gracilis* Kunth

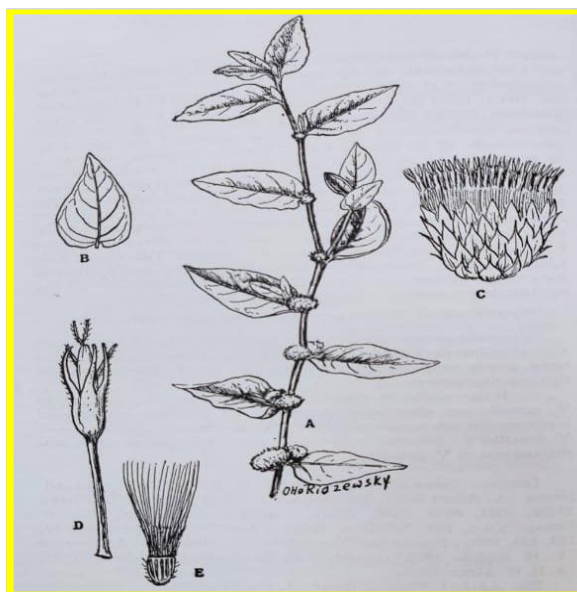


Figura 14. *Vernonia gracilis* Kunth

A. Parte superior de la planta

B. Hoja

C. Cabezuela completa

D. Flor (desprovista de papus y aquenio)

E. Fruto

Tomado y modificado de Lasser, 1964

www.bdigital.ula.ve

Productos Naturales

Los seres vivos son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos pero se define “producto natural” o “metabolito secundario”, que se usa como sinónimo, se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza, a diferencia de los metabolitos primarios o productos bioquímicos que presentan una utilidad definida y que son comunes a todos los seres vivos: carbohidratos, lípidos, proteínas, entre otros (Marcano y Hasegawa, 2002).

Clasificación de los productos naturales

Esta clasificación puede hacerse de acuerdo a sus estructuras, a su bioformación, a la fuente de producción o a su acción biológica (Marcano y Hasegawa, 2002):

Poliacetilenos

Son compuestos que presentan triples enlaces y enlaces alénicos acompañados o no por dobles enlaces, contienen uno o más grupos acetilenos (Figura 15). Son frecuentes en vegetales superiores Oleáceas, Umbelíferas y Compuestas. Algunos aparecen en las raíces de las plantas (Castillo y Martínez, 2007).

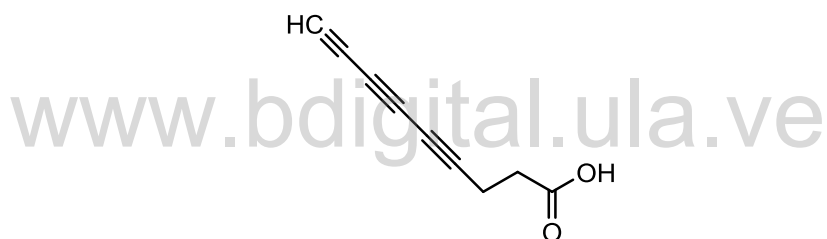


Figura 15. Estructura química de los poliacetilenos
Tomado y modificado de Castillo y Martínez, 2007.

Fenoles

Los fenoles o compuestos fenólicos son compuestos orgánicos en cuyas estructuras presentan grupos funcionales oxigenados, contienen al menos un grupo fenol, se caracterizan por presentar en su estructura un anillo de benceno con, al menos, un grupo hidroxilo (fenólico) (Figura 16) (Marcano y Hasegawa, 2002).

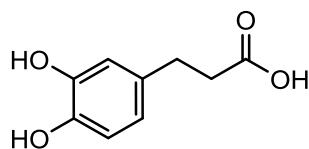


Figura 16. Estructura química de los fenoles

Tomado y modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

Taninos

Las plantas presentan una mezcla compleja de compuestos fenólicos y entre ellos los flavonoides poliméricos de alto peso molecular y estructuras mal definidas que por hidrólisis producen antocianidinas y flavanoles. Este grupo de sustancias se conoce como proantocianidinas y forma parte de los llamados taninos condensados (Figura 17) (Marcano y Hasegawa, 2002).

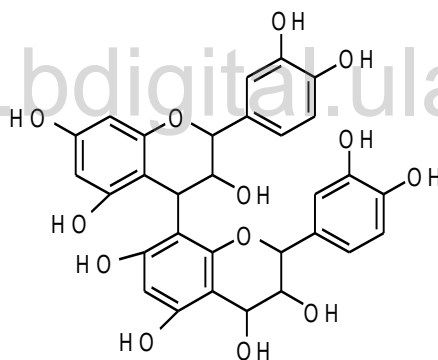


Figura 17. Estructura química de los taninos

Tomado y modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

Flavonoides

Tienen como estructura base, un esqueleto de C6-C3-C6 que puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, siendo una familia muy diversa, pero se caracterizan por ser polifenólicos (Figura 18) y solubles en agua. Suponen aproximadamente la mitad de los compuestos fenólicos presentes en las plantas (Marcano y Hasegawa, 2002).

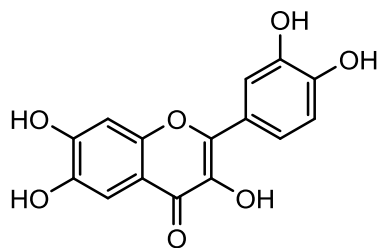


Figura 18. Estructura química de los flavonoides
Tomado y modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

Quinonas

Están ampliamente representadas, bien sea como núcleo principal de una estructura o formando parte de moléculas complejas aromáticas o aromáticas-alifáticas (Figura 19) y a veces diméricas, constituyen un grupo de pigmentos vegetales y animales. Son compuestos coloreados, desde el amarillo al casi negro, aunque la mayoría son amarillas, naranjas o rojas (Marcano y Hasegawa, 2002; Castillo y Martínez, 2007).

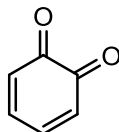


Figura 19. Estructura química de los quinonas
Tomado y modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

Cumarinas

Es un compuesto químico orgánico perteneciente a la familia de las benzopironas. Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, son derivadas del ácido cinámico por ciclización de la cadena lateral del ácido o-cumárico (Figura 20). Son lactonas aromáticas, pueden clasificarse en 3 grupos: hidroxycumarinas, furanocumarinas y piranocumarinas (Castillo y Martínez, 2007).

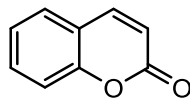


Figura 20. Estructura química de las cumarinas
Tomado y modificado de Castillo y Martínez, 2007.

Monoterpenos

Son los terpenoides que constan de 2 unidades de isopreno (10 carbonos), fueron considerados la unidad base, a partir de la cual se hizo el resto de la nomenclatura (Figura 21). Son sustancias lipofílicas, volátiles, responsables del olor característico de la planta, la gran mayoría son compuestos cíclicos constituidos por uno o dos ciclos y hay acíclicos como el linalol, pero son pocos numerosos (Romo, 2006).

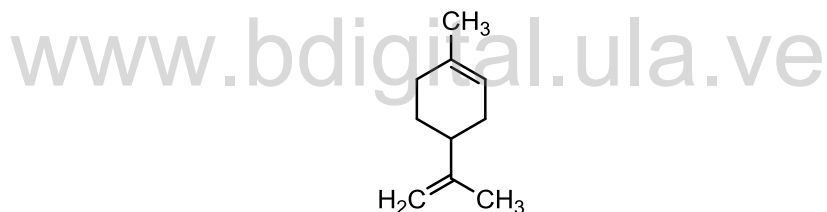


Figura 21. Estructura química de los monoterpenos
Tomado y modificado de Romo, 2006.

Lactonas sesquiterpénicas

Son metabolitos que se encuentran con bastante frecuencia en plantas pertenecientes a la familia de las compuestas. Su estructura de sesquiterpeno, es derivada del germacranólido (Figura 22). Además, le dan el sabor característico amargo a la planta, son incoloras o ligeramente coloreadas, y presentan una solubilidad variable (Romo, 2006).

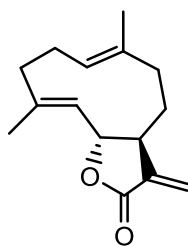


Figura 22. Estructura química de las lactonas sesquiterpénicas
Tomado y modificado de Romo, 2006.

Saponinas

Son un grupo de glucósidos amorfos coloidales, muchos de estos glucósidos tienen la fórmula general $C_nH_{2n}O_{10}$ (Figura 23), son muy hidrosolubles y producen espuma cuando se agita la solución acuosa. Se conocen 2 tipos generales de éstas, los esteroides, como la digitonina, y los triterpenoides, como la esculina (Gennaro, 2003).

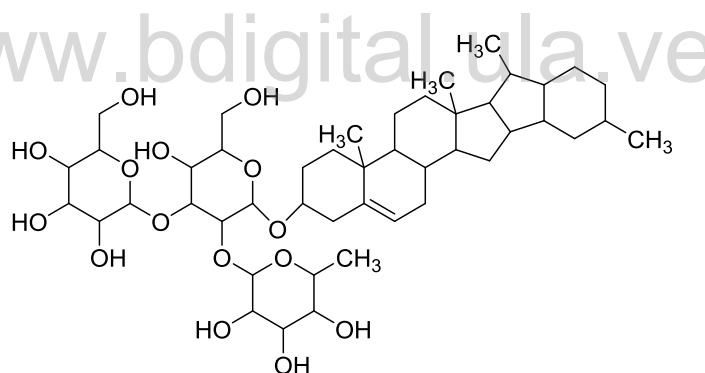


Figura 23. Estructura química de las saponinas
Tomado y modificado de Gennaro, 2003.

Alcaloides

Comprenden una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que contienen nitrógeno y se encuentran en un 20 % en las especies de plantas vasculares. En estas sustancias, el átomo de nitrógeno está formando parte de un anillo heterocíclico, un anillo que contiene átomos

nitrógeno y de carbono (Figura 24), muchos de ellos son alcalinos (Taiz y Zeiger, 2006).

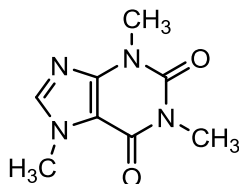


Figura 24. Estructura química de los alcaloides

Tomado y modificado de Taiz y Zeiger, 2006.

Extractos Vegetales

Los extractos vegetales se han definido como un concentrado obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol o éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca (Ruiz y Susunaga, 2000).

Procesos de extracción

Los procesos de extracción varían en función de la escala de producción, de la naturaleza y calidad de la materia prima y de la naturaleza del solvente. Los procesos de extracción pueden ser divididos en dos grupos, procesos que dan como resultado un equilibrio de la concentración entre el soluto, el residuo y los procesos que agotan completamente la droga. Los procesos de que dan como resultado el equilibrio de la concentración son la maceración y los procesos que agotan completamente la droga es la percolación (Sharapin, 2000).

Extracción por maceración

Es un procedimiento para extraer los principios activos de la planta en frío, a temperatura ambiente (15 a 25 °C); puede utilizarse agua, alcohol, vino o aceite. La planta se debe limpiar muy bien, desmenuzar, triturar, picar, trocear o machacar antes de ponerla en remojo. Se coloca la cantidad de planta indicada en un envase y se le agregar el solvente (agua hervida, vinagre, vino, alcohol etílico u otros) en la proporción requerida. Se deja bien tapado durante períodos que pueden ir de 24 h a 2 semanas, según sea necesario; se agita periódicamente la maceración para favorecer la extracción de los principios activos (Fonnegra y Jiménez, 2007).

Transcurrido el tiempo necesario se pasa por un colador, paño o lienzo, se exprime el residuo, se filtra con papel filtro y se guarda herméticamente tapado. La maceración en agua debe ser por tiempo corto, para evitar fermentación o formación de moho (Fonnegra y Jiménez, 2007).

Extracción por percolación

La percolación consiste en hacer pasar el solvente a través de la droga, hasta si extracción exhaustiva completa. La percolación simple, comprende la extracción exhaustiva de la droga con el solvente siempre renovado. En pequeña escala, la percolación se realiza en aparatos, denominados percoladores (un recipiente estrecho en forma cilíndrica o cónica con ambos extremos abiertos), provistos de un grifo en la parte inferior, para regular el flujo del solvente (Sharapin, 2000).

Tamizaje fitoquímico o “screening” fitoquímico

Es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes

químicos presentes en una planta, consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración. Debe permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse en conjunto con los resultados del “screening” farmacológico (Sharapin, 2000).

Se fundamenta en pruebas preliminares sencillas y rápidas que permiten detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos. Se ayudan de la micro química para evidenciar estos grupos de constituyentes mediante la formación de precipitados, coloraciones, entre otros (Bucay, 2009).

Ensayo de Dragendorff

En el análisis fitoquímico preliminar las técnicas de reconocimiento son basadas en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos), de combinarse con el yodo y metales pesados formando precipitados con reactivos como el mercuriyoduro de potasio (Mayer) y yoduro de bismuto (Dragendorff), estas reacciones se basan en los siguientes comportamientos (Coy, Parra y Cuca, 2014):

El yoduro de potásico cuando reacciona con cloruro mercúrico, forma un precipitado rojo de yoduro mercúrico: $[HgCl_2 + 2I^- \longrightarrow 2Cl^- + HgI_2]$ soluble en exceso de iones de yoduro con formación de un anión complejo incoloro: $[HgI_2 + I^- \longrightarrow HgI_2^{-4}]$. La solución alcalina de este complejo sirve para descubrir indicios de amoníaco. En esta reacción se forma el compuesto de color pardo oxiyoduro mercurio amoníaco, que es soluble en exceso de complejo $[HgI_2^{-4}]$, generando intenso color amarillo.

Ensayo de Mayer

Esta reacción ocurre entre los electrones del átomo de nitrógeno que reacciona con el ión K^+ del tetrayoduro de dipotasio para formar un complejo

alcaloide de potasio que se caracteriza por un precipitado color crema que indica la presencia de alcaloides (Ardoino, Boeris y Toso, 2013).

Ensayo de Baljet

Es una reacción indirecta, que identifica el núcleo esteroideal (ciclo lactónico) presente de la genina de estos compuestos, el cual reacciona con el ácido pícrico y produce una coloración roja. Permite reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico (cumarinas), aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo en el ensayo (Rodríguez, Guevara y Soto, 2012).

Ensayo de espuma

Permite determinar la presencia de saponinas, al observar espuma abundante. Las saponinas son un grupo de glicósidos solubles en agua, que tienen la propiedad de disminuir la tensión superficial del agua (Vega, Viera y Herrera, 2009).

Ensayo de Borntrager

Esta reacción es utilizada para la detección directa de quinonas en los extractos vegetales. Las naftoquinonas y antraquinonas libres al ser tratadas con soluciones alcalinas de hidróxido amónico forman complejos de color rojo cereza (Figura 25) (Vega Viera y Herrera, 2009).

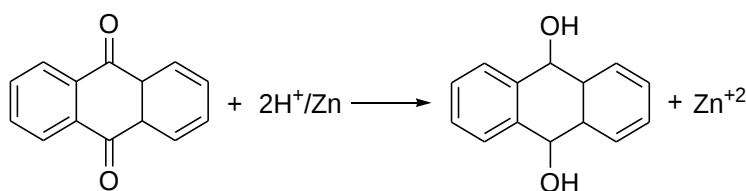


Figura 25. Fundamento químico de la reacción de Borntrager.

Tomado y modificado de Tamayo, Verdecia y Mojera, 2011.

Ensayo de Lieberman-Buchard

Permite reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides, en ambos tipos debe poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo β y en la posición 5-6. Esta prueba colorimétrica utiliza una mezcla compuesta ácido sulfúrico y anhídrido acético que producen sustancias cromóforas con el ciclopentano perhidrofenantreno, por el incremento de los dos dobles enlaces conjugados formados por la deshidratación e isomerizaciones en los terpenos y esteroides (Figura 26) (Domínguez, 1979).

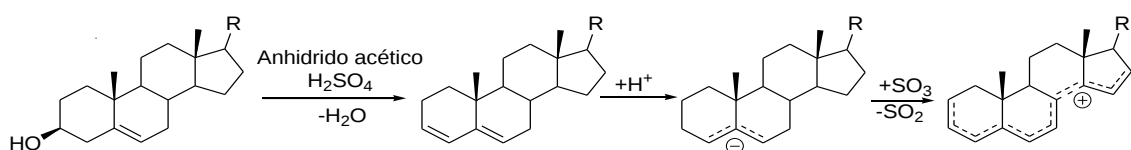


Figura 26. Fundamento químico de la reacción de Lieberman-Bourchard

Tomado y modificado de Domínguez, 1979.

www.bdigital.ula.ve

Ensayo del cloruro férrico

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos. Al reaccionar los compuestos con el cloruro férrico acuoso forman productos de oxidación y complejos de color que indican su presencia, la coloración se debe a la formación de enlaces cristalinos entre el ion hierro (III) y los pares electrónicos libres en los compuestos fenólicos y taninos (Figura 27) (Ardoino, Boeris y Toso, 2013).

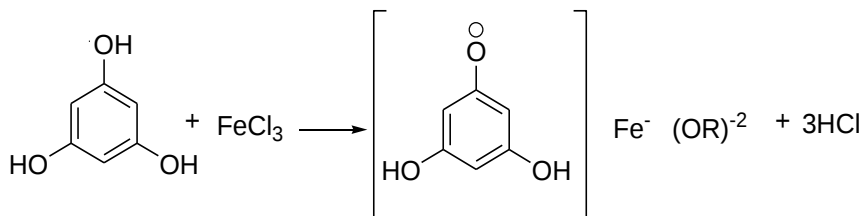


Figura 27. Fundamento químico de la Reacción con $FeCl_3$.

Tomado y modificado de Domínguez, 1979; Coy, Parra y Cuca, 2014.

Bacterias

Son microorganismos que poseen una estructura relativamente simple, son procariotas, es decir, unicelulares sencillos, sin membrana nuclear, ni retículo endoplásmico que se reproducen por división asexual. Además, tienen una capacidad extraordinaria de adaptación a diferentes condiciones ambientales. Afortunadamente, solo algunas especies se asocian con enfermedades humanas, sin embargo, algunas de ellos son agentes etiológicos de enfermedades infecciosas fatales (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009; Serrano y Gutiérrez, 2018).

Clasificación de las bacterias

Las bacterias se clasifican en dos grupos diferentes en función de la estructura de su pared celular (Gama, 2017; Serrano y Gutiérrez, 2018).

Bacterias grampositivas

Son bacterias que en cuya pared celular está principalmente formada por peptidoglicano (Figura 28) y que carece de la membrana externa que tienen las bacterias gramnegativas. Se tiñen por la coloración de Gram, adquiriendo el color violeta oscuro (Gama, 2017; Serrano y Gutiérrez, 2018). A continuación se mencionarán las bacterias que se utilizaron en esta investigación.

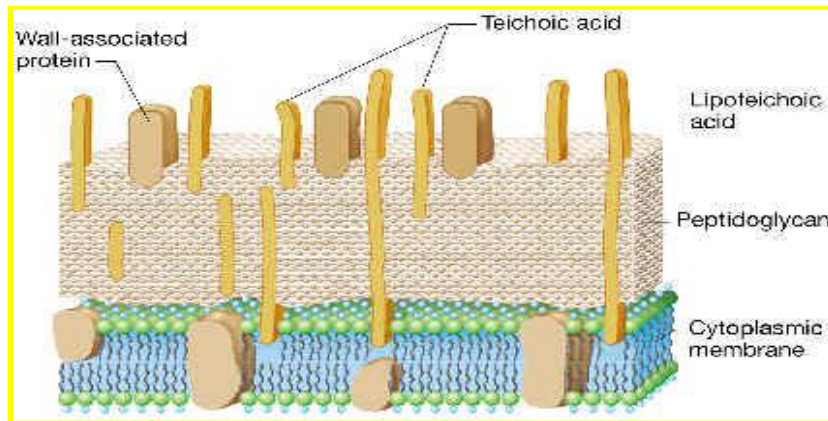


Figura 28. Pared celular de las bacterias grampositivas
Tomado y modificado de Tortora, Funke y Case, 2007.

Staphylococcus aureus

Son cocos grampositivos en racimos, inmóviles no formadores de esporas, catalasa y coagulasa positiva y aerobios facultativos, fermentan el manitol, las colonias son redondas, elevadas y resplandecientes de color amarillo dorado intenso (Figura 29). Además, causa infecciones piógenas en lactantes y niños, en la piel, celulitis e infecciones post-operatorios. Pueden pasar las barreras locales de la lesión llegando a los ganglios linfáticos y al torrente sanguíneo en donde se multiplica causando necrosis (Canel, 2012).

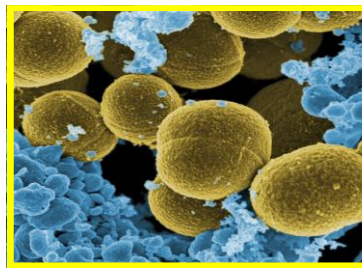


Figura 29. *Staphylococcus aureus*
Tomado y modificado de Tortora, Funke y Case, 2007.

Enterococcus faecalis

Son cocos grampositivos, forman parte de la microbiota de la cavidad oral y del tracto gastrointestinal, anaerobios facultativos, catalasa negativo, inmóvil y no esporulado que se dispone en pares o cadenas (Figura 30). Tienen un rango óptimo de crecimiento de 30 a 35 °C, crecen en caldos con 6,5 % de NaCl e hidrolizan la esculina. Se atribuye ser el agente causal de endocarditis bacteriana (Armijo y Silva, 2011).



Figura 30. *Enterococcus faecalis*

Tomado y modificado de Tortora, Funke y Case, 2007.

Bacterias gramnegativas

Son bacterias que contienen en su pared celular relativamente poco peptidoglicano, pero que tiene una membrana externa compuesta por lipopolisacáridos y otras macromoléculas (Figura 31). La membrana externa cumple diversas funciones especializadas, su intensa carga negativa dificulta considerablemente la fagocitosis y la actividad del complemento. Son teñidas a través de la coloración de Gram, adquiriendo un color rosa claro (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009; Gama, 2017). Seguidamente, se describen las bacterias que serán utilizadas en la presente investigación.

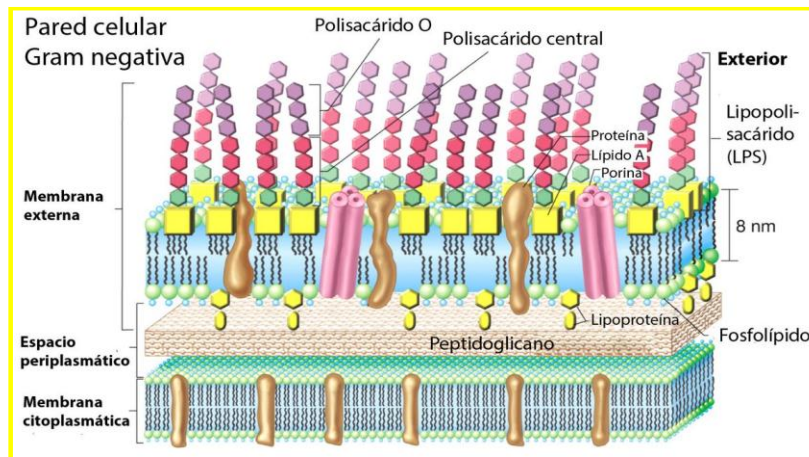


Figura 31. Pared celular de las bacterias gramnegativas.

Tomado y modificado de Tortora, Funke y Case, 2007.

Klebsiella pneumoniae

Son bacilos cortos gramnegativos, aerobios o anaerobios facultativos, inmóviles, fermentan la lactosa y la sacarosa, producen ácido y gas a partir de glucosa, es positivo para el citrato y urea (Figura 32). Se desarrolla en todos los medios de cultivo usuales, tienen aspecto mucoso y semilíquido debido a que posee una cápsula. Está asociado a enfermedades pulmonares, aparato genitourinario y es común en infecciones nosocomiales (Tortora, Funke y Case, 2007.)



Figura 32. *Klebsiella pneumoniae*

Tomado y modificado de Tortora, Funke y Case, 2007.

Escherichia coli

Es un bacilo gramnegativo, aerobios o anaerobios, fermenta la lactosa y la glucosa, sin cápsula y móviles (Figura 33). Las cepas lisas forman colonias incoloras, convexas y brillantes, pero al ser sub-cultivadas se convierten en cepas rugosas que forman colonias granuladas y opacas. Se encuentra en el intestino grueso, causan enfermedad intestinal primaria e infección extra-intestinal, puede desplazarse del conducto intestinal al tracto urinario y a los riñones por vía hematógica o linfática presentando con mayor frecuencia procesos patológicos en el tracto urinario (Canel, 2012).



Figura 33. *Escherichia coli*

Tomado y modificado de Tortora, Funke y Case, 2007.

Pseudomonas aeruginosa

Es un bacilo gramnegativo, móvil, aerobio, no forma esporas, fermenta la glucosa, es negativo al indol y generalmente no tiene cápsula (Figura 34). En un medio de agar sangre, las colonias son grandes, irregulares con pigmento verde. Tienen proteasas que pueden ser responsables de las lesiones cutáneas hemorrágicas observadas en algunas infecciones. Además produce una enterotoxina responsable de la diarrea asociada en infecciones intestinales, también da lugar a infecciones del tracto urinario, infecciones de quemaduras y heridas, meningitis, bronconeumonía y endocarditis bacteriana (Canel, 2012).



Figura 34. *Pseudomonas aeruginosa*

Tomado y modificado de Tortora, Funke y Case, 2007.

Resistencia bacteriana

La resistencia de las bacterias a los antibióticos es una consecuencia previsible de la variación genética, al administrar un antibiótico se ejerce una presión selectiva sobre las bacterias de tal manera que se ven forzadas a defenderse. Se define como las estrategias que utilizan las bacterias para disminuir o inactivar la acción de los agentes antimicrobianos, atacándolos y así persistiendo en el hospedero (Quintero, Nieto y Lerma, 2001).

Las modificaciones genéticas que se presentan en las bacterias son capaces de impedir que los antibióticos las destruyan al generar por lo menos ocho sistemas de defensa (Quintero, Nieto y Lerma, 2001). En tal sentido, se presentan diversos mecanismos de resistencia:

Destrucción o inactivación enzimática

La forma más común de este tipo de resistencia es la perduración de β -lactamasas, que son enzimas que actúan rompiendo la unión amiga. Estas enzimas están presentes tanto en bacterias Gram negativas como en grampositivas. Inicialmente la bacteria se ve expuesta al antibiótico y esto la induce a producir la beta β -lactamasas. La resistencia de las bacterias por el mecanismo de inhibición enzimática no está limitada al medio hospitalario, sino que también toca a las bacterias adquiridas en las comunidades (Quintero, Nieto y Lerma, 2001; Plasencia, 2003).

Alteración de la membrana bacteriana

La diferencia a la susceptibilidad a las penicilinas se debe a la existencia de una membrana externa que impide que el antibiótico la atraviese en los Gram negativos y a unos orificios llamados porinas, los cuales están constituidos por proteínas que forman un canal de paso restringido hacia el interior de la bacteria, esta membrana externa está ausente en los Gram positivos. La resistencia a algunos antibióticos se debe a las mutaciones que permiten que las bacterias pierdan porinas específicas y se vuelvan resistentes a los antibióticos β -lactámicos (Quintero, Nieto y Lerma, 2001).

Cambios en la permeabilidad de la membrana interna

Otra forma de resistencia de la bacteria es la alteración de la producción energética que no permite el paso del antibiótico de la capa externa a la interna de la membrana: este tránsito consume energía y se efectúa mediante un transportador aniónico; al alterar la bacteria este mecanismo se defiende del ataque del antibiótico (Plasencia, 2003).

Alteración del blanco ribosomal

Por medio de este mecanismo la bacteria adquiere habilidad para inhibir la síntesis proteínica y el crecimiento celular. También se puede modificar el ribosoma mediante la mutación de algunas de sus proteínas como la 12S de la subunidad 30S. La resistencia a Rifampicina®, por modificación de la ARN-polimerasa, y la mutación de las subunidades de la ADN-girasa (que otorga resistencia a las quinolonas) son ejemplo de ellos. La alteración del blanco ribosomal lo realiza la bacteria por genes medianos por plásmidos (Plasencia, 2003).

Modificación enzimática

Es debida al cambio enzimático codificado por el gen del plásmido o el cromosoma. La alteración de la molécula por acetilación, fosforilación y

adenilación, puede inactivar los antibióticos durante su paso por el citoplasma bacteriano. Las enzimas responsables son altamente heterogéneas y su síntesis esta codificada por varios genes, por lo cual la mutación no es frecuente (Quintero, Nieto y Lerma, 2001).

Extracción activa del antibiótico

Por medio de este mecanismo, se altera la producción de energía, se disminuye la entrada y concentración del antibiótico y se promueve la extracción activa del mismo y su efecto se reduce. Para garantizar que el antibiótico sea expulsado hasta el ambiente externo las bombas de energía altamente eficientes se acoplan con algunas porinas. Una de las características más interesante de este tipo de resistencia es que suele conferir protección contra diferentes antimicrobianos a la vez (Quintero, Nieto y Lerma, 2001).

Alteración de los precursores de la pared

Por medio de este mecanismo de resistencia mediado por un gen cromosomal, el peptidoglicano precursor es cambiado al modificar la terminación D-alamina por D-alanina-D-lactato y de esta manera se logra que el antibiótico no se pueda unir al precursor de membrana. Este mecanismo se ha estudiado con Vancomicina® y antibióticos glicopeptídicos (Quintero, Nieto y Lerma, 2001).

Modificación de las enzimas blanco

Este mecanismo de resistencia a la penicilina y otros antibióticos β -lactámicos comprende las alteraciones en una o más de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP) que son fundamentales en la síntesis de peptidoglicanos que forman la membrana bacteriana y al alterarlos, hace que la bacteria se torne resistente al antibiótico (Tabla 3) (Quintero, Nieto y Lerma, 2001).

Tabla 3. Problemas comunes de resistencia bacteriana

Tipos de antibióticos	Mecanismos de resistencia
Cefalosporinas	β -lactamasas de amplio espectro, cefalosporinasas cromosomales
Inhibidores de β -lactamasas	Hiperproductores de β -lactamasas, nuevas β -lactamasas resistentes a los inhibidores, cefalosporinasas cromosomales
Carbapenemos	Metaloenzimas zinc y otras β -lactamasas
Vancomicina®, Teicoplanina®	Precusores de pared celular modificados por afinidad disminuida por la Vancomicina®
Quinolonas	Alteraciones en la ADN topoisomerasas, cambios en la permeabilidad.
Trimetoprim-Sulfametoxazol®	Enzimas resistentes a la síntesis de folatos
Eritromicina®, macrólidos nuevos	Metilación del ribosoma bacteriano produciendo resistencia a los macrólidos y Clindamicina®
Aminoglucósidos	Enzimas modificadoras de los aminoglucósidos

Fuente: Quintero y cols., 2001.

Antibióticos

Son agentes terapéuticos de acción bactericida o bacteriostática sobre un espectro más o menos amplio de gérmenes patógenos. El 80 % de las prescripciones de antibióticos son penicilinas por su bajo costo y eficacia frente a un amplio espectro de bacterias grampositivas y gramnegativas (Plasencia, 2003).

Mecanismo de acción de los antibióticos

Hay varios sitios de acción posibles para los antimicrobianos dentro de la célula bacteriana pero las vías o las estructuras atacadas con mayor frecuencia son las síntesis de la pared celular, la membrana celular, la síntesis de proteínas y de ADN y ARN (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

Inhiben la síntesis de la pared celular

La pared de la célula bacteriana, conocida como peptidoglicano cumple una función esencial en la vida de esa célula. El anillo β -talactámico es la

clave del mecanismo de acción de estos fármacos, que están dirigidos contra la síntesis de la pared celular y la inhiben por unión a las enzimas que participan en ella. Las enzimas esenciales para esta función se encuentran fijadas en la membrana celular y como grupo se denominan proteínas de unión a la Penicilina® (PBP), con frecuencia son las más importantes para la supervivencia (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

Inhibidores de la función de la membrana celular

Las polimixinas son los agentes que alteran la membrana de la célula bacteriana más antiguos. Esta alteración produce pérdida de macromoléculas y de iones esenciales para la supervivencia celular, son más activas contra las bacterias gramnegativas. Además, las células huésped humanas también tienen membranas, de modo que hay riesgos de toxicidad por polimixinas, por ello, suelen utilizarse como último recurso cuando se aíslan bacilos gramnegativos multirresistentes (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

Inhibidores de la síntesis de ADN y ARN

Los agentes antimicrobianos primarios dirigidos contra el metabolismo del ADN son las fluoroquinolonas y el Metronidazol®. Las fluoroquinolonas como el Ciprofloxacino® y el Ofloxacino® se unen con las ADN girasas involucradas en la regulación del superenrollamiento del ADN bacteriano, un proceso esencial para la replicación y la transcripción del ADN. Del Metronidazol® se desconoce el mecanismo exacto, pero se cree que provocan rupturas de las cadenas de ADN. La Rifampicina® se une a la enzima ARN polimerasa dependiente del ADN e inhibe la síntesis del ARN (Plasencia, 2003; Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

Inhibidores de procesos metabólicos

Las bacterias usan la vía del ácido fólico para producir precursores importantes para la síntesis de ADN. Las diana de las sulfonamidas es una de estas enzimas, la dihidropteroato sintetasa, a la que se unen para destruir la vía del ácido fólico. El Trimetoprim® también actúa en la vía del ácido fólico, sin embargo, inhiben otra enzima la dihidropteroato reductasa. El mecanismo de acción de la Nitrofurantoína® no se conoce por completo, puede tener varias dianas entre las proteínas bacterianas y en la síntesis de enzimas, también puede dañar el ADN (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

Inhibidores de la síntesis de proteínas

Varias clases de antibióticos están dirigidas contra la síntesis de proteínas bacterianas y provocan alteraciones graves del metabolismo celular. Los aminoglucósidos, tetraciclinas y glicilciclinas inhiben la síntesis de proteínas bacterianas y se unen a los receptores de proteína presentes en la subunidad ribosómica 30S del microorganismo. Los fenicoles, macrólidos, lincosaminas, estreptograminas y oxazolidonas inhiben la síntesis de proteínas al unirse a los receptores presentes en la subunidad 50S del ribosoma (Tabla 4) (Plasencia, 2003).

Tabla 4. Mecanismo de acción de los antibióticos

Tipos de antibióticos	Mecanismo de acción
β -lactámicos, glucopéptidos, bacitracina	Inhiben la síntesis de la pared celular
Polimixinas	Inhiben la síntesis de la membrana externa de la pared celular
Rifamicinas, quinolonas	Inhiben la síntesis del ADN y el ARN
Sulfonamidas, diaminopiridinas	Inhiben la síntesis de cofactores metabólicos
Aminoglucósidos, tetraciclinas, glicilciclinas (Subunidad 30S)	Inhiben la síntesis de las proteínas
Fenicoles, macrólidos, lincosaminas, estreptograminas, oxazolidonas (Subunidad 50S)	

Fuente: Plasencia, 2003.

Actividad antibacteriana

Es la capacidad que tiene una sustancia de inhibir o destruir un microorganismo patógeno. Se puede evaluar mediante el método de difusión en agar con disco o pozo, permite determinar en forma cualitativa el efecto antimicrobiano y los métodos de dilución para determinar en forma cuantitativa el efecto antimicrobiano (Sánchez, Castillo y García, 2016).

Método de difusión

Es un método cualitativo, que se caracteriza por ser de fácil estandarización y está indicado para microorganismos no exigentes y crecimiento rápido. Este método se puede realizar ya sea en pozo o disco ya que actualmente ambos se encuentran estandarizados (Sánchez, Castillo y García, 2016).

Técnica de difusión en disco (Kirby- Bauer)

Se realiza la inoculación y sobre la superficie de los agares Müeller Hinton (bacterias) y Saboreaud-Dextrosa (levadura). Se impregna de 10 a 25 μ L de los extractos, estándares y blancos en cada uno de los discos de papel filtro Whatman N° 42 por triplicado y se colocan sobre la superficie de la placa de agar inoculada. Estas se incuban invertidas a 35 °C por 24 h para bacterias y a 29 °C por 48 h en caso de levaduras, posteriormente se miden los halos de inhibición incluyendo el diámetro del disco (Sánchez, Castillo y García, 2016).

Técnica de difusión en pozos

Se deposita el inóculo y se siembra sobre agar selectivo estipulado; seguido de ello se hacen los pozos sobre la superficie del agar con el apoyo de un sacabocados de 6 mm de diámetro y en cada uno de ellos se deposita de 10 a 25 μ L de los extractos a evaluar, estándares (control positivo y

negativo) y blanco por triplicado, se deja reposar por espacio de 30 min (para evaporar el líquido), se incuba con la caja invertida a 35°C por 24 h para bacterias y a 29 °C por 48 h en caso de levaduras y posteriormente se miden los halos de inhibición (Sánchez, Castillo y García, 2016).

Método de dilución

El método de dilución en agar o en caldo, es usado para determinar la concentración mínima bactericida y la concentración mínima inhibitoria. En la técnica de dilución en caldo, son usadas microplacas (microdilución) que contienen concentraciones crecientes del extracto vegetal. La cepa es inoculada en los diferentes tubos o pozos de la microplacas y la concentración mínima inhibitoria (CMI) es determinada después de la incubación. En la técnica de dilución en agar, las cajas se siembran por profundidad con una determinada concentración de extracto vegetal, luego se inoculan con la cepa de estudio y se incuban por 24 horas (Ramírez y Castaño, 2009).

Definición Operacional de Términos

Bactericidas

Son sustancias que provocan la destrucción del germen por lo que su acción sobre el mismo es irreversible (Domínguez, Galiana y Pérez, 2002).

Bacteriostáticos

Son antisépticos que consiguen frenar el crecimiento de los microorganismos. Este procedimiento es reversible por lo que cuando deja de estar presente la sustancia bacteriostática, los gérmenes pueden volver a reproducirse (Domínguez, Galiana y Pérez, 2002).

Medios de cultivo

Es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes, que proveen condiciones bioquímicas y biofísicas apropiadas para el aislamiento, desarrollo y mantenimiento de los microorganismos (Ramírez y cols., 2010).

Antibiograma

Es el procedimiento que se utiliza en el laboratorio para la determinación de la sensibilidad de un microorganismo ante diferentes antibióticos. Es la principal ayuda que ofrece el laboratorio clínico para la elección de un tratamiento apropiado (Porres y Ruíz, 2018).

Concentración mínima inhibitoria

Es definida como la concentración más baja de sustancias que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de incubar por 24 horas (Ramírez y Castaño, 2009).

Operacionalización de las variables

Para operacionalizar el sistema de variables o el evento de estudio con el respectivo criterio de análisis, es necesario la definición conceptual y la operacional de las mismas (Hurtado 2010). En tal sentido, las variables se operacionalizan con la finalidad de identificar los elementos y datos empíricos que expresan su presencia. El proceso de la operacionalización de las variables garantizó que los objetivos propuestos fuesen alcanzados (Tabla 5 y 6).

Tabla 5. Operacionalización de la variable dependiente Actividad antibacteriana de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth

1.Variable	2.Tipo de variable	3.Definición conceptual ¿Qué es?
Actividad antibacteriana de los tallos de <i>Vernonia gracilis</i> Kunth	Dependiente Cuantitativa	La actividad antibacteriana es la capacidad que tiene una sustancia para inhibir o destruir un microorganismo patógeno (Sánchez, Castillo y García, 2016).
4.Definición operacional ¿Cómo se mide?	5. Dimensiones	6. Indicador
Métodos de difusión (Técnica de difusión en agar y técnica de difusión en pozo)	Cepas grampositivas: - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 - <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29219 Cepas gramnegativas: - <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 - <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Presencia o ausencia del halo de inhibición.

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

Tabla 6. Operacionalización de la variable independiente Composición química de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth

1. Variable	2. Tipo de variable	3. Definición conceptual ¿Qué es?
Composición química de los tallos de <i>Vernonia gracilis</i> Kunth	Independiente Cualitativa	Los metabolitos secundarios son un grupo de compuestos que defienden a las plantas de los herbívoros y microbios patógenos, están implicados además en la interacción planta-animal, ayudando a atraer a animales por medio de señales visuales y olfativas (Taiz y Zeiger, 2006).
4. Definición operacional ¿Cómo se mide?	5. Dimensiones	6. Indicador
Pruebas de coloración como Tamizaje fitoquímico	Ensayo de Dragendorff	Alcaloides: precipitado anaranjado
	Ensayo de Mayer	Alcaloides: precipitado color crema
	Ensayo de Baljet	Compuestos lactónicos: color rojo
	Ensayo de Borntrager	Quinonas y Antraquinonas: color rojo
	Ensayo de Lieberman-Buchard	Triterpenos: coloración roja Esteroles: coloración verde-azulado
	Ensayo de espuma	Saponinas: formación de espuma
	Ensayo de cloruro férrico	Compuestos fenólicos y/o taninos: color rojo, azul o verde)
	Prueba de Hidróxido de Amonio NH_4OH []	Cumarinas: Fluorescencia azul-violeta
	Ensayo de Shinoda	Flavonoides: rojo escarlata

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

Hipótesis

Estudios previos reportan que el género *Vernonia* constituye una fuente de compuestos con actividad biológica de interés científico, por lo cual es de esperar que los extractos de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth presenten metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo Investigación

El tipo de investigación se refiere a la clase de estudio que se va a llevar a cabo. Orienta sobre la finalidad general del estudio y sobre la manera de recoger los datos necesarios. En tal sentido, los tipos de investigación pueden ser: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa (Hurtado, 2010). Por lo que esta investigación es de tipo confirmatoria, la cual tiene como propósito confirmar relación entre la actividad antibacteriana y la composición química de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth.

Diseño de Investigación

Los datos fueron recolectados teniendo en cuenta el dónde, el cuándo y la amplitud de la información (Hurtado, 2010). El dónde, es mixto por contener un diseño de campo (al recolectar los datos de la realidad) y de laboratorio (en el caso del procesamiento de una muestra). Para el cuándo, reúne un diseño contemporáneo, ya que se recolectó la información durante el desarrollo de la investigación y a su vez es transversal, en el caso de tomar los datos una sola vez. Y por último, según la amplitud de la información fue bivariable, debido a que hay una variable dependiente y otra independiente.

Población y muestra

Unidad de investigación

El grupo de estudio estuvo representado por la planta *Vernonia gracilis* Kunth que fue estudiada en el Laboratorio de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Muestra

La “n” muestral es no probabilística y estuvo representada por los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth que fueron analizados en el Laboratorio de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Sistema de Variables

Las variables relacionadas con el estudio de esta investigación son las siguientes: Variable dependiente (VD): Actividad antibacteriana de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth (Tabla 5) y variable independiente (VI): Composición química de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth (Tabla 6). Estas variables permitieron la verificación del fenómeno de estudio en la unidad de investigación.

Instrumento de Recolección de Datos

Un instrumento de recolección de datos es cualquier recurso, dispositivo o formato (en papel o digital), que se utiliza para obtener, registrar o almacenar

información, mediante formularios, hojas de datos, fotografías, tablas, gráficos (Arias, 2006).

Procedimiento de la Investigación

Recolección y preparación del material vegetal

Las muestras vegetales se recolectaron en el Jardín Botánico “Ing. Carlos Liscano” de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes, en San Juan de Lagunillas del Estado Mérida. La planta fue recolectada por el Ing. Juan Carmona, la Prof. Alida Pérez y Loris Graterol (Figura 35). Fue procesada e identificada taxonómicamente por el Dr. Pablo Meléndez Director-Curador Herbario MERF. Igualmente, se depositó una muestra para el váucher colección # 01 en el herbario MERF “Dr. Luis Enrique Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes (Figura 36). Se seleccionaron los tallos en buen estado de la planta. Se procedió al secado en la estufa a temperatura de 40 °C. Seguidamente se realizó el triturado de los tallos con la ayuda de un molino.



Figura 35. Especie *Vernonia gracilis*

Fuente: Carmona, Graterol y Pérez, 2022.



Figura 36. Váucher de la muestra de *Vernonia gracilis* Kunth, depositada en el Herbario MERF
Elaborado por: Meléndez, 2022.

Obtención de los extractos

Con el material vegetal seco y molido (100,0 g) se realizó la maceración utilizando diferentes solventes: hexano, diclorometano y etanol por 3 días c/u, respectivamente. El solvente fue retirado utilizando el rotaevaporador a una temperatura de 40 °C. El producto seco se pesó y se colocó en un envase de color ámbar (extracto de hexano: 24,24 g; extracto de diclorometano: 23,73 g y el extracto de etanol: 23,09 g).

Screening fitoquímico

Ensayo de Dragendorff

Utilizado para detectar la presencia de alcaloides. Se debe tomar en cuenta que si el extracto está disuelto en solvente orgánico, este debe

evaporarse en baño de maría y el residuo redissolver en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 %. Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. Para el ensayo, a la solución acuosa ácida se le añadió 3 gotas de reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado amarillo (+++). En este ensayo se usó el extracto de etanol (Bucay, 2009).

Ensayo de Mayer

Utilizado para detectar la presencia de alcaloides. Al filtrado (extracto de etanol) se le adicionó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer. Se considera positivo si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitado color crema (+++) (Bucay, 2009).

Ensayo de Baljet

Es útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico. Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de maría y redisolverse en 1 mL de alcohol. A las mismas (extractos de hexano, diclorometano y etanol) se les añadió 1 mL del reactivo. La prueba es positiva, cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++ y +++) respectivamente (Bucay, 2009).

Ensayo de Borntrager

Es útil para detectar la presencia de quinonas. Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de maría y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. A los extractos de hexano, diclorometano y etanol, se les adicionó 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5 %. Se agitó mezclando las fases y se dejó en reposo hasta su ulterior separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) o rojo, para lo cual se reporta (+++) (Bucay, 2009; Guerrero, 2014).

Ensayo de Lieberman-Buchard

Permite reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides, en ambos tipos debe poseer un núcleo del androstano. Para ello, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de maría y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. A los extractos de hexano, diclorometano y etanol, se les adicionó 1 mL de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo de ensayo se tiene por un cambio rápido de coloración, rosado-azul muy rápido, verde intenso visible aunque rápido, verde oscuro-negro final de la reacción (Bucay, 2009; Guerrero, 2014).

Ensayo de espuma

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénica. La alícuota del extracto (etanol) se diluyó con 5 veces su volumen en agua y se agitó la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos (Bucay, 2009; Guerrero, 2014).

Ensayo del cloruro férrico

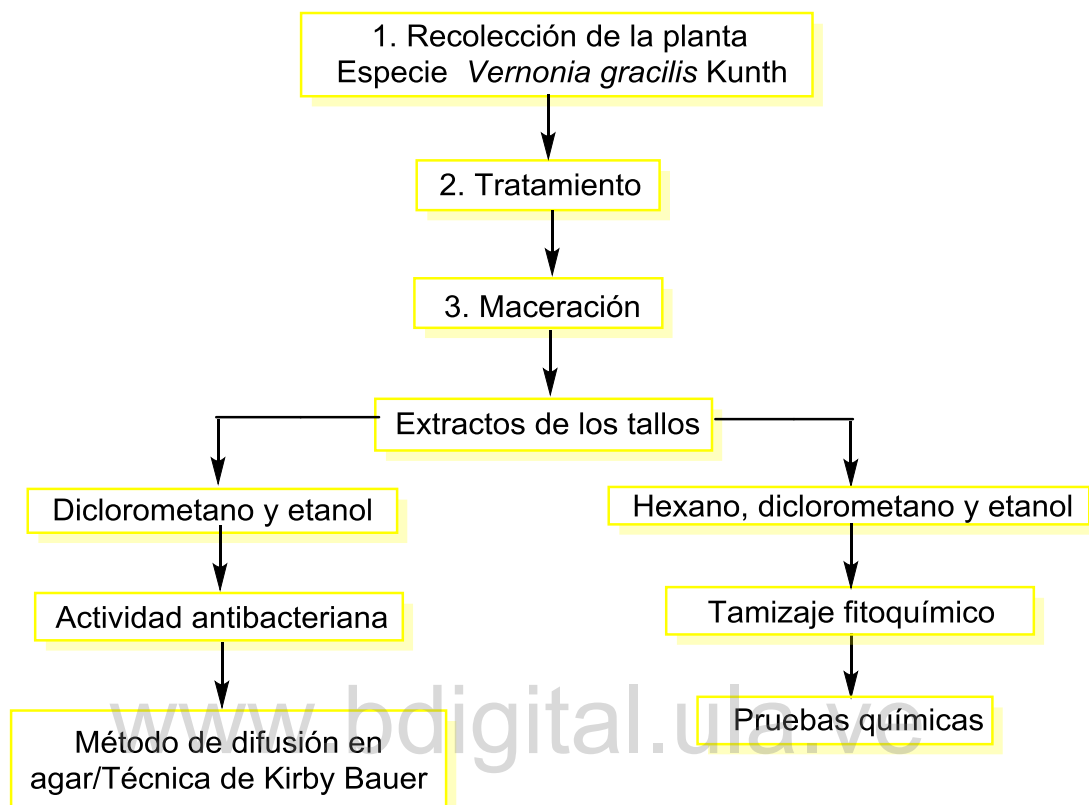
Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto (etanol) se le adicionó 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica. Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 4 % en solución salina fisiológica. Si el ensayo es positivo se observará, un color rojo-vino indicando presencia de compuestos fenólicos en general, si es un color verde intenso indica presencia de taninos del tipo pirocatecólicos, si es un color azul indica presencia de taninos tipo pirogalotánicos (Bucay, 2009).

Actividad antibacteriana

Método de difusión en agar

Se preparó el agar bajo estrictas condiciones de esterilidad y se dejó solidificar en las placas a temperatura ambiente para luego ser inoculadas. Después se procedió a preparar los inóculos tomando las colonias de referencias internacional perteneciente a la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC), del Cepario de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis para ser resuspendidas en los tubos de ensayo con solución salina estéril (0,85 %), hasta que la turbidez fue igual a la del estándar de McFarland 0,5. La determinación de la actividad antibacteriana se llevó a cabo empleando la técnica de difusión de disco en agar o método de Kirby Bauer. El inóculo una vez preparado fue tomado con un hisopo estéril, rotando el mismo por las paredes del tubo de ensayo, luego se sembró la muestra en la placa de agar Mueller Hinton. Después de haber sembrado todas las placas con los diferentes microorganismos ensayados, se colocaron los discos de papel filtro impregnados con 10 µL a una concentración determinada (10 mg/mL) de los extractos puros de diclorometano y etanol de manera equidistante, también se ubicaron los discos de antibióticos de referencia (controles positivos) para cada microorganismo (Eritromicina® 15 µg-*Staphylococcus aureus* ATCC 25923; Ampicilina® 10 µg-*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y Piperacilina® 100 µg-*Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), como control negativo se usó dimetilsulfóxido (DMSO). Las lecturas se realizaron midiendo en milímetros (mm) con una regla los halos de inhibición presente en las placas.

Esquema 1. Procedimiento de la Investigación



Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

RESULTADOS

Determinación del % de rendimiento de los extractos hexano, diclorometano y etanol

Tabla 7. Resultados obtenidos del porcentaje de rendimiento

	EH	ED	EE
Peso inicial (g)	100	100	100
Peso final (g)	24,24	23,73	23,09
% R	24,24	23,73	23,09

Leyenda: EH: extracto de hexano, ED: extracto de diclorometano, EE: extracto de etanol, % R: porcentaje de rendimiento.

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

“Screening” fitoquímico

En el ensayo de “Screening” fitoquímico llevado a cabo en los extractos de hexano, diclorometano y etanol de los tallos de la especie *Vernonia gracilis* Kunth, se logró detectar la presencia de metabolitos secundarios, entre ellos alcaloides con la prueba de Dragendorff, Wagner y Mayer (positivo con el extracto de etanol), triterpenos y esteroides con la reacción de Liebermann-Burchard (positivos con los extractos de hexano, diclorometano y etanol) y compuestos fenólicos con la reacción con FeCl_3 al 1 % (positivo con el extracto de etanol).

En contra parte, no se detectaron saponinas, taninos, flavonoides, cumarinas, antraquinonas, quinonas y lactonas sesquiterpénicas; por ende tales compuestos no se encuentran en los tallos de la especie *Vernonia gracilis* Kunth o no se lograron detectar bien sea por los solventes utilizados y/o sus concentraciones son muy bajas (Tabla 8).

www.bdigital.ula.ve

Tabla N° 8. Tamizaje Fitoquímico de los extractos hexano, diclorometano y etanol de los tallos de la especie *Vernonia gracilis* Kunth.

Metabolito	Prueba	Extracto Hexano Tallos	Extracto Diclorometano Tallos	Extracto Etanol Tallos
Alcaloides	Dragendorff	NE	NE	++
	Mayer	NE	NE	++
	Wagner	NE	NE	++ (Precipitado)
Triterpenos y Esteroles	Prueba de Liebermann-Burchard	++++ (Rojo/Triterpenos)	+++ (Verde oscuro/Esteroles)	++ (Verde /Esteroles)
Compuestos fenólicos	Reacción con FeCl ₃ al 1 %	NE	NE	+++ (Verde oscuro-negro)
Saponinas	Prueba de la Espuma	NE	NE	-
Taninos	Ensayo de la Gelatina	NE	NE	-
Flavonoides	Ensayo de Shinoda	NE	-	-
Cumarinas	Prueba con NH ₄ OH []	NE	-	-
Antraquinonas	Prueba con NH ₄ OH []	NE	-	-
Quinonas	Prueba con H ₂ SO ₄ []	-	-	-
Lactonas sesquiterpenicas	Ensayo de Baljet	-	-	-

Leyenda: NE: No Ensayado; ++++: Muy abundante; +++: Abundante ++: Presente; -: Ausente

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

- **Alcaloides:** Al agregar los reactivos de Drangendorff, Wagner y Mayer a los tubos con el extracto de etanol, en el primero y en el tercero se observó una turbidez definida, en el segundo un precipitado marrón; lo cual indica positividad para las mencionadas pruebas (Figura 37).

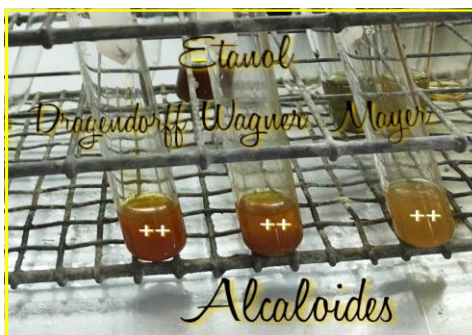


Figura 37. Determinación de Alcaloides en el extracto de etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

- **Triterpenos/esteroles:** Esta prueba fue positiva, ya que al adicionar el reactivo (H_2SO_4 + anhídrido acético) a los tubos con los extractos de hexano, diclorometano y etanol se percibió la aparición de los colores rojo, verde oscuro-negro y verde; respectivamente (Figura 38).



Figura 38. Determinación de Triterpenos y Esteroles en los extractos de hexano, diclorometano y etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

- **Compuestos fenólicos:** Al añadir las gotas del tricloruro férrico al tubo con el extracto de etanol, se logró observar un precipitado de color verde intenso, esto significa que la reacción fue positiva (Figura 39).



Figura 39. Determinación de Compuestos Fenólicos en el extracto de etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

- **Saponinas:** Al agitar el tubo con el extracto de etanol, no hubo formación de espuma, por lo tanto se consideró a la prueba como negativa (Figura 40).



Figura 40. Determinación de Saponinas en el extracto de etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

- **Taninos:** Este ensayo fue negativo, porque no se formó un precipitado en el tubo conteniendo el extracto de etanol (Figura 41).



Figura 41. Determinación de Taninos en el extracto de etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

- **Flavonoides:** El ensayo fue negativo tanto en el extracto de diclorometano como en el extracto de etanol, puesto que no se visualizó un color rojo (Figura 42).



Figura 42. Determinación de Flavonoides en los extractos de diclorometano y etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

- **Cumarinas:** Al exponer, a la luz ultravioleta los tubos con los extractos de diclorometano y etanol junto con el reactivo (NH_4OH []), no se percibió una fluorescencia; esto señala a la prueba como negativa (Figura 43).



Figura 43. Determinación de Cumarinas en los extractos de diclorometano y etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez.

- **Quinonas:** La prueba fue negativa, debido a que los extractos de hexano, diclorometano y etanol, disueltos en el H_2SO_4 [], no desarrollaron coloración alguna (Figura 44).



Figura 44. Determinación de Quinonas en los extractos de hexano, diclorometano y etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

- **Antraquinonas:** El ensayo fue negativo, debido a que en los tubos con los extractos de diclorometano y etanol, no observó el color rojo (Figura 45).

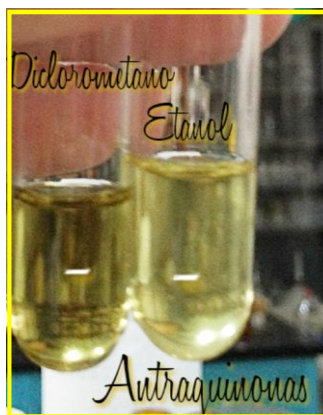


Figura 45. Determinación de Antraquinonas en los extractos de diclorometano y etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

- **Lactonas sesquiterpénicas:** AL agregar las gotas del reactivo de Baljet a los tubos de los extractos de hexano, diclorometano y etanol, no se generó un cambio de coloración (Figura 46).



Figura 46. Determinación de Lactonas en los extractos de hexano, diclorometano y etanol

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

Actividad antibacteriana de los extractos de diclorometano y etanol obtenidos de los tallos de la especie *Vernonia gracilis* Kunth

Los resultados obtenidos en el ensayo de la actividad antibacteriana de los extractos de *Vernonia gracilis* Kunth a la concentración de 10 mg/mL, realizado mediante el método de difusión: Kirby Bauer, se exponen en la Tabla 9. Los mismos, mostraron actividad frente a las bacterias grampositivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (Figura 47), con un halo de inhibición de 7 mm: extracto de diclorometano/etanol y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) (Figura 48), con un halo de inhibición de 7 mm: extracto de diclorometano, así como frente a las bacterias gramnegativas *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357) (Figura 49), un halo de inhibición de 7mm: extracto de diclorometano/etanol y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) (Figura 50), un halo de inhibición de 8 mm: extracto de diclorometano y 7 mm: extracto de etanol. En el caso de *E. coli* no hubo crecimiento, por lo cual no se pudo determinar la actividad en la misma.

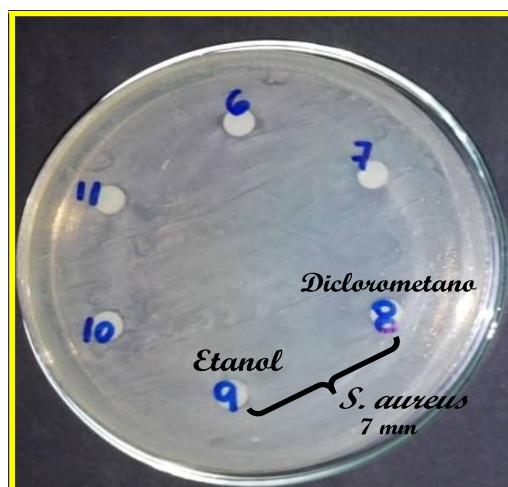


Figura 47. Ensayo de los extractos de diclorometano y etanol en *S. aureus*

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

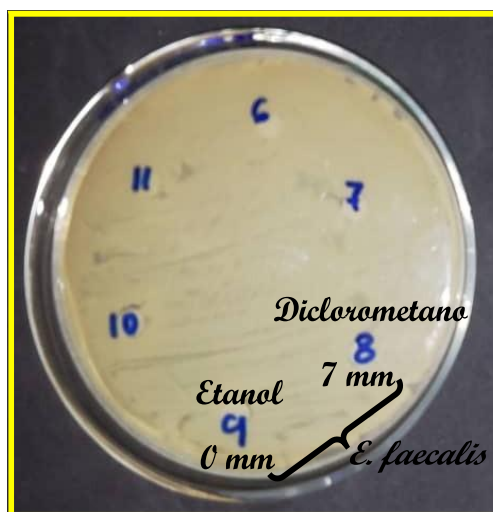


Figura 48. Ensayo de los extractos de diclorometano y etanol en *E. faecalis*

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

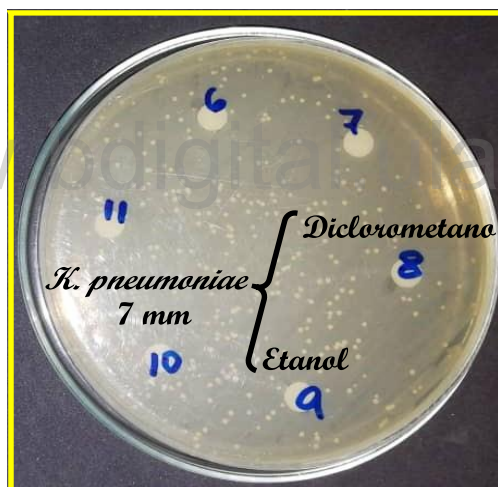


Figura 49. Ensayo de los extractos de diclorometano y etanol en *K. pneumoniae*

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

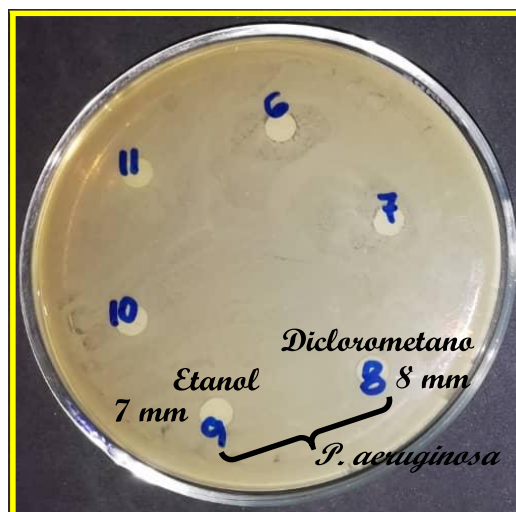


Figura 50. Ensayo de los extractos de diclorometano y etanol en *P. aeruginosa*

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 9. Resultados de la Actividad Antibacteriana de los Extractos de diclorometano y etanol de los Tallos de la Especie *Vernonia gracilis* Kunth

Microorganismos	Concentración (mg/mL)	Halos de inhibición en mm				
		ETD	ETE	Antibióticos de referencia		
				PIP	AM	ERI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10	7	7	-	-	26
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10	7	0	-	17	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	10	7	7	18	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	ND	ND	ND	ND	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10	8	7	32	-	-

Leyenda: ETD: Extracto de tallos de diclorometano, **ETE:** Extracto de tallos de etanol, **PIP:** Piperacilina® 100 µg, **AM:** Ampicilina® 10 µg, **ERI:** Eritromicina® 15 µg, **mg/mL:** Miligramos/mililitros, **mm:** Milímetros, **ND:** No determinado.

Elaborado por: Graterol y Pérez, 2022.

DISCUSIONES

En el presente estudio, se pudo confirmar la relación entre la actividad antibacteriana y la composición química de los extractos provenientes de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth a una concentración de 10 mg/mL, además mediante pruebas químicas de coloración se encontraron compuestos como alcaloides (extracto de etanol), triterpenos y esteroides (extractos de hexano, diclorometano y etanol) y compuestos fenólicos (extracto de etanol). Asimismo, se observó actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* (halo de inhibición de 7 mm: extractos de diclorometano y etanol), *Enterococcus faecalis* (halo de inhibición de 7 mm: extracto de diclorometano), *Klebsiella pneumoniae* (halo de inhibición de 7 mm: extractos de diclorometano y etanol) y *Pseudomonas aeruginosa* (halo de inhibición: el extracto de diclorometano 8 mm y extracto de etanol 7 mm).

Lo antes mencionado, guarda relación con lo referido por Jepkoech y cols (2022), quienes aislaron estigmasterol de tipo esteroide, flavonoides como apigenina y diosmetina, D-manitol de tipo polialcohol; a su vez demostraron que el extracto etanólico de *V. auriculifera* posee actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Providencia stuartii*, a una CIM < 100 µg/mL; Joshi y cols (2021), observaron que el extracto metanólico de *V. cinerea* inhibió a *Xanthomonas oryzae* a diferentes concentraciones: 25 µg/mL, 50 µg/mL y 100 µg/mL. Fairuz y cols (2020), lograron aislar compuestos de los extractos de hojas de *V. amygdalina* como escualeno, fitol, triacontano y heptacosano, con alta actividad antifúngica contra *B. cinerea*. Unuofin y cols (2020), encontraron hallazgos similares, potente actividad antimicrobiana frente a microbios patógenos (*S. aureus*, *E. coli* y *Candida albicans*).

Así también, coincide con lo expuesto por Unuofin y cols., 2020 los mismos, obtuvieron nanopartículas sintetizadas a partir de los extractos de

Vernonia mespilifolia con una gran actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* a una CIM de 32,5 µg/mL, seguido de *E. coli*: 250 µg/mL y *C. albicans*: 125 µg/mL. Mozirandi y cols (2019), encontraron un compuesto químico llamado condriasterol tipo esterol, aislado de la especie *Vernonia adoensis*; con actividad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* cuyo crecimiento fue inhibido en un 65 %, *Klebsiella pneumoniae* 38 % y *Staphylococcus aureus* 25 %; asimismo Habtamu y Melaku (2018), aislaron varios compuestos de las flores de *Vernonia amygdalina*, con el extracto de cloroformo: tricosano y vernolida de tipo lactona, con el extracto de acetona: dos flavonoides isorhamnetina y luteolina; tales metabolitos mostraron alta actividad antibacteriana en la cepa *Staphylococcus aureus*. Lo descrito por Mubo y cols (2016), también se corresponde con los resultados de este estudio, los mismos encontraron que diferentes extractos (hexano, acetato de etilo y cloroformo) de *Vernonia cinerea* mostraron una zona de inhibición de 13,5 mm; 12,8 mm y 11,0 mm contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis*, respectivamente.

Es importante destacar que si bien hay relación con los trabajos previos, también existen algunas diferencias, estas pueden estar asociadas con las diferentes especies de plantas estudiadas, distribución geográfica, diferentes extractos usados, composición química, métodos de extracción llevados a cabo, partes de la especie analizada (raíces, tallos, hojas, flores y frutos), entre otros aspectos importantes a tener en cuenta, a la hora de realizar cualquier actividad de este tipo.

Por ejemplo en este trabajo el etanol, indicó ser el solvente más adecuado para extraer los metabolitos secundarios de los tallos en la especie *Vernonia gracilis* Kunth; porque se detectaron abundantes alcaloides, triterpenos, esteroides y compuestos fenólicos, los autores Jepkoech y cols (2022), también hallaron al etanol como el mejor solvente, debido a que lograron obtener gran cantidad de metabolitos secundarios y una fuerte actividad antibacteriana contra el 100 % de las cepas bacterianas probadas. Por el

contrario Joshi y cols (2021), observaron que el extracto metanólico de *Vernonia cinerea* fue el más eficaz de los tres extractos de disolventes usados (cloroformo, cloroformo+etanol y etanol), puesto que mostró una mejor zona de inhibición; Mozirandi y cols (2019), demostraron que el solvente idóneo para separar los compuestos activos de *Vernonia adoensis* fue el cloroformo; en el caso de Mubo, Oluwafunmilola y Okorie (2016), encontraron a la fracción de acetato de etilo, para obtener los metabolitos secundarios de *Vernonia cinerea*. Es fundamental precisar, que tales discrepancias se deben a que no existe un solvente de extracción definido, pues ello dependerá de la distribución geográfica de la especie, la calidad de la muestra, la composición química de los metabolitos a extraer de la especie y la cantidad de los metabolito secundarios, del tamaño molecular; así como de factores como la concentración del solvente, temperatura, tiempo de contacto, entre otros (Aspé y Fernández, 2011; Capriotti, Cavaliere, Crescenzi, Foglia, Nescatelli, Samperi y Lagana, 2014).

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- En la presente investigación se detectaron metabolitos secundarios provenientes de los extractos de diclorometano y etanol de *Vernonia gracilis* Kunth mediante pruebas químicas de coloración, estos compuestos fueron alcaloides, triterpenos, esteroides y compuestos fenólicos.
- El extracto de etanol, indicó ser el solvente más adecuado porque se extrajeron la mayor cantidad de metabolitos secundarios como alcaloides, esteroides y compuestos fenólicos.
- La actividad antibacteriana se observó frente a las bacterias grampositivas *Staphylococcus aureus* (halo de inhibición de 7 mm, para los extractos de diclorometano y etanol) y *Enterococcus faecalis* (halo de inhibición de 7 mm: extracto de diclorometano); así como frente a las bacterias gramnegativas *Klebsiella pneumoniae* (halo de inhibición de 7 mm, extractos de diclorometano y etanol) y *Pseudomonas aeruginosa* (halo de inhibición: extracto de etanol 7 mm y el extracto de diclorometano 8 mm).
- El extracto de diclorometano de los tallos de *Vernonia gracilis* Kunth a la concentración de 10 mg/mL, resultó ser el más efectivo de los extractos evaluados, ya que inhibió tanto las bacterias grampositivas como gramnegativas ensayadas.

- Esta investigación constituye un aporte significativo a la fitoquímica del género debido a que no hay estudios químicos y de actividad biológica sobre la especie *V. gracilis* Kunth, siendo este el primer reporte de la composición química de los tallos y de la actividad antibacteriana.

www.bdigital.ula.ve

RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio sobre la composición química y actividad antibacteriana de *Vernonia gracilis* Kunth, utilizando muestras como raíces, hojas y/o flores.
- Elaborar una investigación sobre la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Vernonia gracilis* Kunth, para verificar si posee compuestos responsables de dicha actividad.
- Evaluar otras actividades biológicas a los extractos de la especie *Vernonia gracilis* Kunth.
- En vista de la actividad antibacteriana encontrada en los extractos de diclorometano y etanol de la especie *Vernonia gracilis* Kunth, se recomienda la elaboración de un producto, tipo fitofármaco con los tallos de la especie *Vernonia gracilis* Kunth para el tratamiento de infecciones causadas por las bacterias evaluadas, específicamente macerados en soluciones hidroetanólicas a concentraciones de etanol de 30 % o 70 %; ya que la literatura ha reportado que se considera como un procedimiento de extracción seguro y eficiente, además es de baja toxicidad para uso humano, específicamente a nivel tópico.
- Promover el cultivo de la especie *Vernonia gracilis* Kunth en los diferentes Jardín Botánico de la ULA, ya que existe poca cantidad de la especie en el estado Mérida, particularmente en el Jardín Botánico “Ingeniero Carlos Liscano”, San Juan de Lagunillas de la Universidad de Los Andes.

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Alaraa, O., Abdurahmana, N., Abdul, S., y Olalerea, O. (2017). Phytochemical and pharmacological properties of *Vernonia amygdalina*: A review. **Revista Journal of Chemical Engineering and Industrial Biotechnology**, 2(7), 80-96.
- Álvarez, F. (2006). **Formulario universal o guía práctica del médico, del cirujano y del farmacéutico**. Madrid-Lima: Ediciones Don Ángel Calleja.
- Angulo M., Vega A., y Dematteis, M. (2012). Nuevas combinaciones en los géneros sudamericanos *Lepidaploa* y *Lessingianthus* (Vernonieae, Asteraceae). **Revista Gayana Botánica**, 69(2), 267-274.
- Ardonio, S., Boeris, M., y Toso, R. (2013). Caracterización fitoquímica de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* (algarrobo) y *Prosopis flexuosa* var. *depressa* (alpataco), plantas con acción farmacológica. **Revista Ciencia Veterinaria**, 15(1), 115-125.
- Armijo, J., y Silva, N. (2011). *Presencia de Enterococcus faecalis en dientes con diagnóstico de periodontitis apical asintomática* (Trabajo de Investigación). Universidad de Chile, Chile.
- Arias, F. (2006). **El Proyecto de Investigación: Introducción a la Metodología Científica**. 5ª Ed. Caracas-Venezuela, Editorial Episteme.
- Ascari, J. (2007). *Estudio químico e bioactividades de Baccharis uncinella* DC (Trabajo de Investigación). Universidad Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

- Aspé, E.; Fernández, K. (2011). Comparison of phenolic extracts obtained of *Pinus radiata* bark from pulp and paper industry and sawmill industry. **Revista Maderas: Ciencia y Tecnología**, 13(3), 243-252.
- Benítez, C., y Granada, W. (2017). *Aspectos fitogeográficos y estado actual de conservación de tres especies de Lepidaploa* (Vernonieae, Asteraceae) *endémicas de Venezuela* (Trabajo de Investigación). Universidad Central de Venezuela, Maracay.
- Blair, S., y Madrigal, B. (2005). **Plantas antimaláricas de Tumaco**. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia.
- Borges, R., y Dematteis, M. (2008). A new species of *Lessingianthus* (Asteraceae: Vernonieae) from Minas Gerais, Brazil. **Revista Brittonia**, 60(4), 377-381.
- Bucay, L. (2009). *Estudio farmacognóstico y actividad antimicrobiana de la Violetilla* (*Hynbanthus parviflorus*) (Trabajo de Investigación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba.
- Canel, L. (2012). *Actividad antimicrobiana y antimicótica de los extractos de cinco especies de plantas del género Vernonia* (Trabajo de Investigación). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Capriotti, A., Cavaliere, C., Crescenzi, C., Foglia, P., Nescatelli, R., Samperi, R., y Lagana, A. (2014). Comparison of extraction methods for the identification and quantification of polyphenols in virgin olive oil by ultra-HPLC-QToF mass spectrometry. **Revista Wood Chemistry**, 158:392-400.
- Casco, S. (2009). **Introducción al estudio de las angiospermas**. Argentina: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y agrimensura.

- Castillo, E., y Martínez, I. (2007). **Manual de fitoterapia**. España: Editorial Elsevier Masson.
- Chilquillo, H., y Cervantes, R. (2017). *Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de Senecio canescens* (Trabajo de Investigación). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- Corzo, D. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Cestrum buxifolium* Kunth. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**. 43(3), 81-86.
- Coy, C., Parra, J., Cuca, L. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (Rutaceae). **Revista Elementos**. 4(4), 31-39.
- Delbón N., Cosa M., y Bernardello G. (2012). Exomorfología y anatomía de órganos vegetativos aéreos en especies de *Flourensia* DC. (Asteraceae) con importancia fitoquímica. **Revista Acta Botánica Brasilica**, 26(1), 0102-3306.
- Dematteis, M. (2006). *Vernonanthura warmingiana* (Asteraceae: Vernonieae), a new species from Brazil. **Revista Brittonia**, 58(2), 182- 188
- Dematteis, M., y Angulo, M. (2014). A new species and a new combination in the South American genus *Lessingianthus* (Vernonieae, Asteraceae). **Revista Phytotaxa**, 58 (4), 207-214.
- Domínguez, M., Galiana, J., y Pérez, F. (2002). **Manual de cirugía menor**. Madrid: Editorial Arán Ediciones.
- Domínguez, X. (1979). **Métodos de Investigación Fitoquímica**. México. Editorial Limusa.

- Dupuy, O., Murillo, R., y Bonilla, J. (2008) .Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Viguiera sylvatica* y *Decachaeta thielena* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos RAW. **Revista de Biología Tropical**, 56(3), 1063-1073.
- Evert, R. (2006). Esau's plant anatomy. **Revista American Journal of Plant Sciences**, 5(18), 447- 473.
- Fahn, A. (1979). **Secretory tissues in plants**. London: New York: Editorial Academic Press.
- Fairuz, S., Farhanah, F., Muda, M., Asib, N., Zaharah, S., Abu, F., y Izera. (2020). Antifungal activity and phytochemical screening of *Vernonia amygdalina* extract against *Botrytis cinerea* causing gray mold disease on tomato fruits. **Revista Biology**, 9(9), 1-13.
<https://doi.org/10.3390/biology9090286>
- Fonnegra, G., y Jiménez, S. (2007). **Plantas medicinales probadas en Colombia**. Colombia: Editorial Universidad de Antioquia.
- Forbes, B., Sahm, D., y Weissfeld, A. (2009). **Diagnóstico Microbiológico**. Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Gama, M. (2017). **Biología un enfoque constructivista**. México: Editorial Pearson Educación.
- García, J. (2007). **Especies delicias exóticas**. Barcelona: Editorial Intermon Oxfam.
- Gennaro, A. (2003). **Remington farmacia**. Bogotá-Caracas: Editorial Médica Panamericana.
- Grubben, G. (2004). **Vegetables**. Wageninge-Netherlands: Editorial Prota.

- Gtedhill, D. (2008). ***The names of plants***. New York: Editorial Cambridge University.
- Guerrero, N. (2014). *Caracterización fitoquímica y actividad biológica de *Oryctanthus spicatus* (Loranthaceae)* (Trabajo de Investigación). Universidad Politécnica Salesiana, Quito.
- Habtam, A., y Melaku, Y. (2018). Antibacterial and antioxidant compounds from the flower extracts of *Vernonia amygdalina*. ***Revista Advances in Bioscience and Biotechnology***, 11(10), <https://doi.org/10.1155/2018/4083736>.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2010). ***Capítulo III. Planteamiento del problema cuantitativo. En: Metodología de la investigación***. 5ta edición. México: Mc Graw Hill.
- Hoffmann, D. (1996). ***Guía familiar de Plantas Medicinales. Fitoterapia práctica para un bienestar integral***. Madrid: Ediciones Susaeta
- Hurtado J. (2010). ***Guía para la comprensión holística de la ciencia***. Caracas: Ediciones Quirón
- Iwu, M. (1993). ***Handbook of African medicinal plants***. Nsukka-Nigeria: Editorial CRC Press.
- Jepkoech, C., Kerubo, L., Nchiozem, V., Kenanda, E., Guefack, M., Mbaveng, A., Kuete, V., y Heydenreich, M. (2022). Antibacterial secondary metabolites from *Vernonia auriculifera* Hiern (Asteraceae) against MDR phenotypes. ***Revista Natural Product Research***, 36(12), 3203-3206. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1953024>
- Joshi, T., Pandey, S., Maiti, P., Tripathi, M., Paliwal, A., Nand, M., Sharma, P., Samant, M., Pande, V., y Chandra, S. (2021). Antimicrobial activity of methanolic extracts of *Vernonia cinerea* against *Xanthomonas*

oryzae and identification of their compounds using in silico techniques.

Revista Plos One, 16(6), 1-13.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252759>

Lasser, T. (1964). **Flora de Venezuela**. Venezuela: Compositae. Edición Especial del Instituto botánico

Lizcano, A., y Vergara, J. (2008). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales Valeriana pilosa, Hesperomeles ferruginea, Myrcianthes rhopaloides y Passiflora manicata frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos* (Trabajo de Investigación). Universidad Javeriana, Bogotá.

Lobato, C. (2019). Resistencia a antibióticos: cuando nuestro armamento se torna ineficiente. **Revista Digital Universitaria**, 20(5), 1-10.

Maia, A., Torres, M., Pessoa, O., De Menezes, J., Costa, S., Nogueira, V., Maciel, V., De Souza, E., Cavalcante, M., y Albuquerque, M. (2010). Óleos essenciaias das folhas de *Vernonia remotiflora* e *Vernonia brasiliiana*: composicao química e actividade biológica. **Revista Química Nova**, 33 (3), 584-586

Marcano, D., y Hasegawa, M. (2002). Productos naturales En D. Marcano y Hasegawa. M (Eds.), **Fitoquímica orgánica** (pp. 30-32). Venezuela: Torino. Editorial Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico- UCV.

Márquez, O. (2010). **El Proceso de la Investigación en las Ciencias Sociales**. Ediciones de la Universidad Ezequiel Zamora colección Docencia Universitaria. [en línea]. Recuperado de: <https://es.slideshare.net/jaldanam/metodologa-de-la-investigacion> .

- Martínez A, Valencia G, Jiménez M. (2004). **Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica**. Departamento de Farmacia. Universidad de Antioquía, Medellín. Colombia.
- Mozirandi, W., Tagwireyi, D., y Mukanganyama, S. (2019). Evaluation of antimicrobial activity of chondrillasterol isolated from *Vernonia adoensis* (Asteraceae). **Revista Complement Alternative Medicine**, 19(249), 1-9.
- Mubo, A., Oluwafunmilola, T., y Okorie, P. (2016). Antioxidant and antimicrobial activities of solvent fractions of *Vernonia cinerea*. **Revista African Health Sciences**, 16(2), 629-639.
- Murray, P., Rosenthal, K., y Pfaller, M. (2009). **Microbiología médica**. Madrid: Editorial Elsevier Mosby.
- Negrón, M. (2009). **Microbiología estomatológica**. Buenos aires: Editorial Médica Panamericana.
- Nirmal, S., Chavan, M., Tambe, R., Jadhav, R., Ghogare, P., Bhalke, R. y Girme, A. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from the leaves of *Wedelia trilobata*. **Revista Indian Journal of Natural Products**, 21(3), 33-35.
- Plasencia., M. (2003). **Manual de prácticas tuteladas en oficina farmacia**. España: Editorial Complutense.
- Porres, O., y Ruíz, E. (2018). **Microbiología clínica**. España; Ediciones Paraninfo.
- Quintero, A., Nieto, J., y Lerma, C. (2001). **Infección en cirugía**. Bogotá: Editorial Médica Panamericana.

- Rabe, T., Mullholland, D., y Van Staden, J. (2002) .Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves. **Revista Journal of Ethnopharmacology**, 80 (1), 91-94.
- Ramadan, M., Goeters, S., Watzer, B., Krause, E., Lohmann, K., Bauer, R., Hempel, B., y Imming, P. (2006). Chamazulene carboxylic acid and matricin: a natural profen and its natural prodrug, identified through similitary to synthetic drug substances. **Revista Journal of Natural Products**, 69 (7), 1041-1045.
- Ramírez, A., García, E., Longa, A., Sánchez, K., Nieves, M., Velasco, J., Araque, M., Mosqueda, N. (2010). **Manual práctico de bacteriología general**. Mérida: Publicaciones Vicerrectorado.
- Ramírez, L., y Castaño, D. (2009). *Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal* (Trabajo de Investigación). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Rodríguez, E., Gamboa, M., Hernández, F., y García, J. (2005). **Bacteriología General: principios y prácticas de laboratorio**. Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica.
- Rodríguez, N., Guevara, L., y Soto, M. (2012). *Identificación preliminar de fitoconstituyentes en las influorescencias de Bejaria aestuans L. (purum-rosa)* (Trabajo de Investigación). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo.
- Rojas, R., Bermúdez, C., y Jiménez, M. (2006). **Plantas ornamentales del trópico**. Cartago: Editorial Tecnológica de Costa Rica.
- Romo A. (2006). **Química de la flora mexicana**. Coayacán-México: Universidad Nacional Autónoma de México.

- Ruiz, M., y Susunaga, C. (2000). *Actividad antimicrobiana presente en partes aéreas de las especies Bursera simaoruba y Bursera graveolens (Burseraceas), frente a microorganismos como: Agrobacterium tumefaciens, Erwinia carotovora, Fusarium oxysporum, Trichoderma viride y Botrytis cinerea* (Trabajo de Investigación). Universidad Javeriana, Bogotá.
- San Román, D. (2014). *Desarrollo de un método espectrofotométrico para la detección de alcaloides pirrolizidínicos (PAs) en mieles y polen de plantas melíferas de la península de Yucatán* (Trabajo de investigación). Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología, Mérida.
- Sánchez, E., Castillo, S., y García, P. (2006). Actividad antimicrobiana. En C. Rivas. M, Oranda, y M, Verde (Eds.), ***Investigación en plantas de importancia clínica médica*** (pp. 77-100). España: Editorial OmniaScience.
- Sharapin, N. (2000). ***Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos***. Colombia: Editorial Convenio Andrés Bello.
- Serra, M. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. ***Revista Habanera de Ciencias Médicas***, 16(3), 402-419.
- Serrano, C., y Gutiérrez, R. (2018). ***Manual de microbiología***. Chile: Universidad Católica de Chile.
- Sosa, R. (1997). ***El poder medicinal de las plantas***. Estados Unidos: Editorial: Inter- American Division Publishing.
- Tafur, D., Torres, J., y Villegas, M. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. ***Revista de la Asociación Colombiana de Infectología***, 12(3), 218-221.

- Taiz, L., y Zeiger, E. (2006). **Fisiología vegetal**. Buenos aires: Editorial Universitat Jaume I.
- Tamayo R, Verdecia A, Mojera I. (2011). Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreo y acuosos de las hojas y tallo de la *Isocarpha cubana* B. **Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal**, 15 (3): 322-347.
- Tapia, J.L. (2010). *La familia Asteraceae* (Trabajo de investigación). Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida.
- Tortora, G., Funke, B., y Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología*. (9a ed.). Buenos Aires-Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Unuofin, J., Oladipo, A., Msagati, T.A., Lebelo, S., Taylor, S., y More, G. (2020). Novel silver-platinum bimetallic nanoalloy synthesized from *Vernonia mespilifolia* extract: antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activities. **Revista Arabian Journal of Chemistry**, 13 (8): 6639-6648.
- Vega, D.E., Viera, J.A., & Herrera, H.E. (2009). *Determinación de metabolitos secundarios del tallo de Croton alnifolius L. (tunga)* (Trabajo de investigación). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo.
- Vikas, G., Payal, M., Parveen, B., Sukhbir, K., y Dhirender, K. (2010). Pharmacological potential of *Matricaria recutita*. **Revista International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, 2 (1), 12-16.
- Wang, Y., Li, G., Liu, X., Xu, L., Wang, S., y Zhang, X. (2016). *In vivo* anti-inflammatory effects of taraxasterol against animal models. **Revista African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, 14 (1), 43-51.

- Wouamba, S., Happi, G., Lenta, B., Sewald, N., y Kouam, S. (2020). Vernoguinaimide: A new ceramide and other compounds from the root of *Vernonia guineensis* Benth and their chemophenetic significance. **Revista Biochemical Systematics and Ecology**, 88 (9), 1-4.
- Xavier, L.; Freire, M.; Vidal-Tato, I.; y González-Álvarez, J. (2015). Application of aqueous two phase systems based on polyethylene glycol and sodium citrate for the recovery of phenolic compounds from *Eucalyptus* wood. **Revista Maderas: Ciencia y Tecnología**, 17 (2), 345-354.

www.bdigital.ula.ve