



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



**Composición Química y Actividad Antibacteriana de *Solanum*
hirtum Vahl (Solanaceae)**

Trabajo de Grado Presentado como Requisito para Optar al Título de Licenciada
en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autora:

Milexy Garrido R.

Tutor:

Prof. Alida Pérez

Mérida, Noviembre 2022

DEDICATORIA

- A mis padres, por el apoyo, esfuerzo y amor incondicional, esto se los debo a ustedes, gracias por todo los Amo.
- A mi hijo, Andrés Santiago por ser mi motivo de lucha y esfuerzo te Amo
- A mis hermanas y amiga incondicional, por el apoyo necesario cuando lo he requerido.

¡A Todos ustedes Gracias!

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

- A Dios por guiarme y cuidar mis pasos.
- A nuestra alma mater, Universidad de Los Andes, por abrirme sus puertas y permitirme adquirir conocimientos invaluable y experiencias inolvidables.
- A la Facultad de Farmacia y Bioanálisis y profesores miembros, por los conocimientos impartidos.
- A la profesora Alida Pérez Colmenares tutora de esta investigación, quien con su asesoría y dedicación se logró la culminación de este Trabajo de Grado, a usted mi agradecimiento y gratitud
- Al instituto de investigaciones por los espacios prestados, e igualmente a los profesores asesores encargados de la elaboración y corrección de este trabajo.

¡A Todos ustedes Gracias!

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA.....	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación e Importancia de la Investigación	4
Objetivos de la Investigación.....	5
<i>Objetivo General.....</i>	<i>5</i>
<i>Objetivos Específicos</i>	<i>5</i>
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	6
<i>Alcances de la Investigación.....</i>	<i>6</i>
<i>Limitaciones de la Investigación.....</i>	<i>6</i>
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	7
Trabajos Previos.....	7
Antecedentes Historicos.....	11
Bases Teóricas.....	; Error! Marcador no definido.2
Familia Solanaceae.....	12
<i>Aspectos químicos de las Solanaceas</i>	<i>14</i>
<i>Actividades farmacológicas</i>	<i>15</i>

Género <i>Solanum</i>	16
<i>Composición química</i>	17
<i>Alcaloides del Solanum</i>	17
<i>Saponinas del Solanum</i>	19
<i>Flavonoides del Solanum</i>	21
<i>Carotenoides del Solanum</i>	23
<i>Actividad farmacológica</i>	25
<i>Solanum hirtum</i> Vahl	26
<i>Composición química</i>	27
<i>Actividad farmacologica</i>	28
Productos naturales	28
Extractos vegetales	30
Obtencion de extractos vegetales	30
<i>Extracción por Maceracion</i>	31
<i>Extracción por Soxhlet</i>	31
<i>Extracción por arrastre de vapor</i>	31
Separación y purificación de productos naturales	31
<i>Cromatografía en columna</i>	32
<i>Cromatografía en papel</i>	33
<i>Cromatografía en capa fina</i>	33
Análisis fitoquímico preliminar	34
Bacterias	37

Antibióticos	37
<i>Mecanismo de acción de los antibióticos</i>	38
Resistencia bacteriana	39
Actividad antibacteriana	40
<i>Metodo de difusión en disco</i>	41
<i>Metodo Etest</i>	41
<i>Metodos de dilución</i>	41
Definición Operacional de Términos	42
Operacionalización de las Variables	42
Hipótesis	45
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	46
Tipo de Investigación	46
Diseño de la Investigación	46
Población y Muestra	47
<i>Unidad de Investigación</i>	47
<i>Selección del tamaño de la muestra</i>	47
<i>Sistema de Variables</i>	47
Instrumento de Recolección de Datos	48
Procedimientos de la Investigación	48
Diseño de Análisis	55
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	56
Resultados	56

Discusiones	63
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	66
Conclusiones	66
Recomendaciones	67
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Actividades farmacológicas del género <i>Solanum</i>	25
Tabla 2. Operacionalización de la variable Dependiente.....	43
Tabla 3. Operacionalización de la variable Independiente	44
Tabla 4. Cantidad obtenida en gramos de las fracciones del extracto metanólico de la especie <i>S. hirtum</i>	49
Tabla 5. Antibióticos de referencia según la bacteria	53
Tabla 6. Caracterización fitoquímica de las fracciones de <i>S. hirtum</i>	57
Tabla 7. Actividad antibacteriana obtenida de las fracciones de <i>Solanum hirtum</i> en cepas grampositivas y gramnegativas según diámetro de la zona de inhibición	61

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura química de los núcleos de alcaloides obtenidos del género <i>Solanum</i>	18
Figura 2. Estructura química de algunas saponinas del género <i>Solanum</i>	20
Figura 3. Estructura química de algunos flavonoides del género <i>Solanum</i>	22
Figura 4. Estructura química de algunos carotenoides del género <i>Solanum</i>	24
Figura 5. <i>Solanun hirtum</i> V, tallos, flores y frutos.....	27
Figura 6. Estructura química de la sapogenina obtenida de <i>Solanum hirtum</i>	28
Figura 7. Procedimiento empleado para la investigación.....	54
Figura 8. Caracterización fitoquímica de las fracciones de <i>S. hirtum</i>	58
Figura 9. Actividad antibacteriana obtenida de las fracciones de <i>Solanum hirtum</i> en cepas grampositivas y gramnegativas.....	62



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 FRUTOS DE *Solanum hirtum*
(Solanaceae)

Trabajo de Grado.

Autora:

Garrido R. Milexy

Tutor:

Prof. Alida Pérez

www.bdigital.ula.ve

RESUMEN

Solanum hirtum ha sido utilizada por presentar diversos usos farmacológicos, varios autores han referido que esta especie presenta efecto terapéutico. El objetivo de esta investigación fue determinar la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de los frutos *Solanum hirtum* Vahl. Los frutos secos y molidos fueron sometidos a un proceso de extracción a través de maceración usando metanol, posteriormente el extracto obtenido se fraccionó mediante cromatografía al vacío utilizando hexano, diclorometano y metanol. Las fracciones fueron evaluadas mediante pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación para identificar los metabolitos secundarios, estos análisis revelaron la presencia de esteroides, compuestos fenólicos, alcaloides y flavonoides en la fracción diclorometano y metanol. La actividad antibacteriana de las fracciones se realizó mediante el método de Kirby-Bauer, los resultados mostraron que las fracciones de diclorometano y metanol fueron activas frente a *K. pneumoniae*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* a una concentración de 1000 ppm, los halos de inhibición del crecimiento bacteriano variaron entre 7 y 9 mm. Este es el primer reporte de actividad antibacteriana de los frutos de *Solanum hirtum*.

Palabras Claves: Solanaceae, *Solanum*, *Solanum hirtum*, fitoquímica, actividad antibacteriana.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido usadas desde tiempos ancestrales para el tratamiento y alivio de diversas dolencias del ser humano. En la antigüedad solía relacionarse la curación de las enfermedades con ritos religiosos y mágicos, hasta que se dio inicio al estudio de la química de las plantas. Estos estudios realizados por varios investigadores, entre ellos Paracelso, sirvieron de base para el nacimiento de los productos farmacéuticos que se conocen en la actualidad. Las plantas elaboran una gran diversidad de productos químicos, los cuales usan principalmente como mecanismo de defensa, sin embargo, el hombre puede aprovechar estas propiedades para su beneficio, encontrando en los recursos naturales la solución a diferentes problemáticas, permitiendo el descubrimiento de diferentes productos, entre ellos los antibacterianos (Rojas, 2018).

En este contexto, la familia Solanaceae se destaca por agrupar varias especies con amplias propiedades biológicas comprobadas y, por tanto, involucradas con frecuencia en estudios farmacológicos de toda índole. La solanácea también llamada familia de la patata es cosmopolita, su género más grande, *Solanum*, es el de mayor amplitud geográfica. Presentan gran variedad de compuestos, y han demostrado tener metabolitos secundarios con actividades antimicrobiana, tóxicas, e inclusive venenosas (Domínguez, Puente, Pérez y Salas, 2012).

Es por esto que, el estudio de la química de las plantas enfocado hacia la búsqueda de sustancias naturales con potencial uso para el ser humano sigue siendo un tema de gran interés por parte de los investigadores (Rojas, 2018).

Tomando en consideración los antecedentes que existen sobre la actividad antibacteriana del género *Solanum* el objetivo de la presente investigación fue analizar la composición química y actividad antibacteriana de los frutos de *Solanum hirtum* Vahl (Solanaceae).

Este trabajo ha sido estructurado en V capítulos. El primero intitulado “El Problema”, está constituido por el Planteamiento del Problema, Justificación, Objetivos, Alcances y las Limitaciones de la Investigación. El segundo capítulo aborda el “Marco Teórico”, constituido por los Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Definición Operacional de Términos, Operacionalización de las Variables y la Hipótesis. El tercer capítulo, titulado “Marco Metodológico”, está constituido por el Tipo y Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Procedimientos de la Investigación y el Diseño de Análisis. El cuarto capítulo, titulado “Resultados y Discusión” y el quinto capítulo, denominado Conclusiones y Recomendaciones.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Las plantas se han utilizado como materia prima en la elaboración de infusiones o jugos, para controlar la prevalencia de ciertas enfermedades infecciosas, resolver problemas de resistencia de los microorganismos y los efectos colaterales de algunos antimicrobianos sintéticos. Las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo. Por ello, se ha estimado que más del 80 % de la población mundial utiliza la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades de atención primaria de salud y que gran parte de los tratamientos se basa en el uso de extractos de plantas o sus principios activos (Hidalgo, Moreno, Mosquera, Jiménez y Martínez, 2013)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la resistencia bacteriana como el fenómeno por el cual un microorganismo deja de ser afectado por un antimicrobiano al que anteriormente era sensible (Organización Mundial de la Salud, 2017). Es un problema de salud global que ocurre tanto en países de bajos, medianos y altos ingresos, tanto en el ámbito hospitalario como en el comunitario, con fuertes impactos en términos de morbilidad, mortalidad y costos (Chamba, Calero, Torres y Moscol, 2018). En este sentido, el mal uso y la dosificación inadecuada de estos fármacos han transformado a la población bacteriana, debido a eso, muchos antimicrobianos han perdido parcial o totalmente su efecto (Organización Mundial de la Salud, 2017).

En las últimas décadas, se han realizado innumerables estudios sobre sustancias con actividad antimicrobiana provenientes de plantas superiores con la finalidad de

encontrar alternativas terapéuticas efectivas contra las infecciones producidas por microorganismos resistentes a los antibióticos (Hidalgo y cols., 2013).

Las investigaciones se centran en terapias alternas mediante la utilización de extractos de plantas, aceites esenciales, metabolitos secundarios y nuevas moléculas sintetizadas como agentes antibacterianos potenciales (Recalde, Vayas, Esquivel, Pazmiño y Gutiérrez, 2018).

La presente investigación es respaldada por la aproximación teórica sobre la actividad antibacteriana y los extractos vegetales. La primera hace referencia a la actividad antibacteriana que surge del proceso evolutivo conducido por la selección de adquirir una defensa mejorada frente a los ataques de microorganismos patógenos (Domingo y López-Brea, 2003). La segunda aproximación teórica hace referencia a las propiedades que tienen los extractos vegetales mediante sus principios activos presentes en las diferentes partes de la planta: hojas flores, tallos, frutos, raíces. Los (Cecchini, 1978).

Considerando los antecedentes referidos se formuló el problema con el siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál es la composición química y actividad antibacteriana de los frutos de *Solanum hirtum* Vahl (Solanaceae)?

Justificación e Importancia de la Investigación

Los por qué o razones de una investigación son los que justifican el desarrollo de las fases operativas del proceso indagatorio. En tal sentido, las razones han sido categorizadas de manera variada: necesidades, inquietudes, potencialidades, intereses, entre otras (Hurtado, 2010). En lo que respecta a las necesidades, esta investigación se realizó porque las sustancias que exhiben actividad antibacteriana podrían ser utilizadas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, específicamente, por su eficacia (Ncube, Afolayan y Okoh, 2008; Gutiérrez y Estévez, 2009). En respuesta

a la necesidad de conseguir alternativas eficaces, se ha recurrido a la fitoquímica y fitofarmacología. La gran cantidad de metabolitos secundarios en las plantas ofrece una gigantesca posibilidad de hallar moléculas bioactivas. Así, se acepta que, sin menospreciar el avance alcanzado por la síntesis química, las plantas son consideradas la fuente principal de sustancias activas con propiedades antibacterianas, apoyado en que ellas producen cientos de miles de metabolitos secundarios (Chang, García, Rosalbal, Espinosa y Ramos, 2013).

Respecto a los intereses que estimularon a la autora de esta investigación está la actividad antibacteriana, en la cual destacan los productos naturales tales como los extractos de plantas y sus compuestos puros los cuales proveen oportunidades ilimitadas para el desarrollo de nuevas sustancias que consigan ser utilizadas para el control bacteriano (Ncube y cols., 2008).

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Determinar la actividad antibacteriana y la composición química del extracto y fracciones obtenidas de los frutos *Solanum hirtum* Vahl.

Objetivos Específicos

1. Obtener el extracto metanólico de los frutos *Solanum hirtum* Vahl mediante maceración.
2. Separar el extracto obtenido previamente a través de cromatografía al vacío utilizando solventes de polaridad creciente (hexano, diclorometano, metanol).

3. Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico y fracciones de los frutos de *S. hirtum*.

4. Comprobar la actividad antibacteriana de las muestras anteriormente mencionadas mediante el método de difusión en agar en disco.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

El alcance de esta investigación, fue determinar la actividad antibacteriana y composición química de los extractos de los frutos *Solanum hirtum* mediante el método de difusión en agar con disco (Kirby-Bauer) y pruebas químicas cualitativas, respectivamente.

Limitaciones de la Investigación

En cuanto al proceso de realización de este trabajo de investigación se presentaron diferentes limitaciones, que hicieron que la ejecución del mismo fuese complicada y asimismo cumplir con los objetivos planteados; las limitaciones fueron: Alto costo de los reactivos, desde el punto de vista teórico se encontraron pocos trabajos previos e información sobre la especie en estudio, adicionando a esto la situación actual del país en cuanto a los cortes prolongados de electricidad y fallas del servicio de internet.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Sbhatu y Abraha, (2020), realizaron el perfil antimicrobiano preliminar de *Solanum incanum* L, contra dos bacterias gramnegativas (*Escherichia coli* y *Salmonella typhi*) y dos bacterias grampositivas (*Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*). Las pruebas fitoquímicas de los extractos de frutos, hojas y tallos de *S. incanum* demostraron que la planta contiene alcaloides, saponinas, flavonoides, glucósidos, terpenoides y esteroides. Según las pruebas de difusión en disco de agar, los extractos produjeron a una concentración de 100 mg/mL zonas de inhibición del crecimiento bacteriano que oscilaban entre 11,34 y 16,06 mm contra todas las especies bacterianas. Por lo tanto, los frutos, las hojas y los tallos de *S. incanum* pueden considerarse fuentes de algunos compuestos bioactivos. Los hallazgos son importantes para tomar medidas para la conservación y el uso sostenible de la planta, así como para una mayor aclaración de su eficacia fitoquímica y antimicrobiana de sus componentes.

Akanmu, Bulama, Balogun, y Musa (2019), publicaron un trabajo de investigación en el cual evaluaron la actividad antibacteriana de extractos acuosos y metanólicos de las hojas de *Solanum incanum* Linn. (Solanáceae) contra aislados bacterianos resistentes a múltiples fármacos (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*). El examen fitoquímico reveló la presencia de glucósidos cardíacos, carbohidratos y azúcares reductores en

ambos extractos. Además, se encontraron resinas, flavonoides, terpenoides y esteroides en el extracto de metanol, mientras que en el extracto acuoso se evidenció la presencia de saponinas y alcaloides. La evaluación de la actividad antibacteriana de *S. incanum* utilizando el método de difusión en agar en pozos mostró que los extractos acuosos y de metanol tienen actividades significativas contra *S. pyogenes*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*. La mayor actividad antibacteriana se presentó para extractos acuosos con una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 2,62 mg/mL y una concentración bactericida mínima (CBM) de 60,0 mg/mL y en el de metanol CIM = 7,50 mg/mL y CBM= 80,0 mg/mL contra *P. aeruginosa*, respectivamente. Se mostró la menor actividad antibacteriana tanto para extractos acuosos (CIM = 0,5 mg/mL CBM = 20 mg/mL) como metanol (CIM = 5,00 mg/mL, CBM = 80 mg/mL) contra *K. pneumoniae*. Así, *S. incanum* (Solanaceae) puede decirse que tiene actividades antibacterianas contra aislados bacterianos.

Cañón y Menco (2018), realizaron un trabajo de investigación titulada Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Solanum crinitipes* Dunal (Solanaceae) y evaluación de su uso como agente antimicrobiano. Los extractos etanólicos obtenidos de los frutos, hojas y tallos fueron sometidos al análisis fitoquímico preliminar y además fueron ensayados frente a bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y en hongos como *Aspergillus* spp, *Botrytis* sp., *Cándida* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., y *Trichoderma* sp. Del análisis fitoquímico preliminar se estableció la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, triterpenoides, esteroides, fenóles, taninos, cumarinas, compuestos lactónicos y quinonas. Los extractos mostraron una toxicidad moderada frente a *Artemia salina*. En los ensayos de actividad antimicrobiana, empleando la técnica de difusión en agar por pozos, se evidenció que el extracto de hojas tiene una actividad media frente a *S. aureus*. El extracto de hojas por ser el de mayor actividad, fue fraccionado usando cloroformo, acetona y etanol como disolventes. Las fracciones obtenidas se evaluaron de nuevo contra *S. aureus* y los resultados mostraron que la fracción en acetona presenta una

actividad alta mientras que la fracción en cloroformo mostró una actividad media. La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la fracción en acetona fue de 30,0 mg/mL a la cual se observó una disminución del crecimiento de *S. aureus*. La fracción en acetona contiene entre sus metabolitos alcaloides, taninos y compuestos cardiotónicos que pueden estar asociados a la actividad antimicrobiana.

Kalita, Dash, Borah, Deka y Dash (2017). Publicaron un trabajo de investigación titulado "Análisis fitoquímico preliminar y actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de los frutos secos de *Solanum torvum* (Familia-Solanaceae)". El objetivo fue estudiar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de los frutos secos de *Solanum torvum* junto con análisis fitoquímicos preliminares utilizando métodos estándar. Se examinó la actividad antimicrobiana del extracto de la planta contra 2 cepas bacterianas, una de ellas grampositiva (*Staphylococcus aureus*) y otra gramnegativa (*Escherichia coli*) y 2 hongos (*Candida albicans* y *Trichophyton rubrum*) utilizando el método de difusión de agar en pozo. Resultados: varios análisis fitoquímicos revelaron la presencia de alcaloides, saponinas, flavonoides, carbohidratos, glucósidos, esteroides, proteínas, aminoácidos y taninos. El extracto de la planta mostró actividad antimicrobiana contra la mayoría de los organismos de ensayo (*S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*). Dichos resultados concluyen que el extracto etanólico de *Solanum torvum* posee una actividad antimicrobiana prometedora en comparación con los estándares.

Ramírez, Isaza, Pérez y Martínez (2017), publicaron un trabajo titulado Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antibacteriana del *Solanum dolichosepalum* Bitter (Frutillo). El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de extractos obtenidos del fruto de *S. dolichosepalum* y realizar un estudio fitoquímico preliminar. La actividad antibacteriana fue evaluada a partir de cuatro fracciones (F) obtenidas del extracto etanólico de los frutos secos de

S. dolichosepalum frente a cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* por el método de Kirby-Bauer. La primera fracción se sometió a cromatografía en columna y a sus fracciones se les evaluó la concentración inhibitoria mínima (CIM) Los metabolitos responsables de la actividad antibacteriana se identificaron por cromatografía de capa delgada en placas de sílica gel (MERCK) y lámpara ultravioleta (365 nm). Las pruebas fitoquímicas del extracto etanólico revelaron la presencia de alcaloides, esteroides y/o triterpenoides libres, taninos, saponinas, flavonoides y glucósidos cardiotónicos. De las cuatro fracciones obtenidas a partir de este extracto, las fracciones F1 y F2 tuvieron CIM de 31,25 y 15,62 mg/mL, respectivamente frente a *E. coli* y de 500 y 31,25 mg/mL frente a *S. aureus*. F3 y F4 no presentaron inhibición y ninguna fracción tuvo actividad frente a *P. aeruginosa*. Las fracciones obtenidas por cromatografía en columna a partir de F1 se denominaron F_{1A}, F_{1B}, F_{1C} y F_{1D}; la fracción F_{1B} mostró la mayor actividad antimicrobiana, con CIM de 35 y 17,5 mg/mL frente a *S. aureus* y *E. coli* respectivamente. Los resultados obtenidos confirman el uso tradicional del *S. dolichosepalum* como antibacteriana, con actividad frente a *E. coli* y *S. aureus*.

Mazher, Malik, Riaz, Hussain, Ali y Noshad (2016), realizaron un trabajo titulado: Ensayo fitoquímico y antibacteriano de extractos de frutas, hojas y tallos de *Solanum nigrum* L, en diferentes solventes. En este estudio se determinó el análisis fitoquímico y la actividad antibacteriana de los extractos de frutos, hojas y tallos de *Solanum nigrum* L. preparados en cuatro solventes, es decir, etanol, cloroformo, éter de petróleo y agua destilada. El análisis fitoquímico mostró la presencia de componentes significativos como saponinas, taninos, esteroides, terpenoides, alcaloides y flavonoides. La actividad antibacteriana se estableció por el halo de inhibición utilizando el método de difusión en agar en pozo con cinco cepas bacterianas a saber. *Bacillus subtilis*, *Salmonella paratyphi*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* y *Vibrio cholera*. La zona de inhibición varió entre 8,5 mm a 33,0 mm, donde el extracto clorofórmico de los tallos no exhibió una zona de inhibición contra

B. subtilis y *S. paratyphi*. El valor de la concentración inhibitoria mínima (CIM) medido usando el método de dilución en serie contra cepas bacterianas varió de 250 µg/mL a 1000 µg/mL. Los extractos de frutos en etanol y cloroformo mostraron una mayor zona de inhibición contra *V. cholera* en comparación con la tetraciclina. Esta investigación demostró que los extractos de etanol y cloroformo de los frutos de *Solanum nigrum* L. poseen una posible acción antibacteriana.

Antecedentes Históricos

Se puede decir que el estudio de las plantas comenzó cuando el hombre tuvo que asumir sus dolencias, y trató de combatirlos mediante remedios sintomáticos según su instinto, creencias y conocimientos adquiridos por la experiencia, al no disponer de tratamientos efectivos y encontrarse ante situaciones terribles al enfrentarse a enfermedades graves. La primera respuesta del hombre fue espontáneamente instintiva, pero aun en estas primitivas actuaciones ya puede encontrarse un principio de “terapéutica antimicrobiana”. De esta manera comenzó a realizar prácticas curativas que habían dado buenos resultados ante situaciones semejantes. Este hecho le llevó a identificar y cultivar diferentes plantas que más tarde utilizaría como remedios terapéuticos (González y Calvo, 2005).

Con el pasar de los años se ha intensificado el interés en los productos naturales para determinar su actividad antimicrobiana, esto surge debido a la resistencia que se ha venido dando por parte de los microorganismos, obteniéndose así bases científicas en cuanto al uso de estos en procesos infecciosos, ya que las sustancias con carácter de antibióticos forman parte esencial, a lo que se le llama metabolitos secundarios (Bentham, 1836).

En la actualidad la exploración de la medicina natural a partir de plantas ha surgido mucho para tratamientos de diversas patologías. Es conveniente destacar que la química de los productos naturales es desde hace años uno de los temas de investigación dedicados a metabolitos secundarios y algunos tópicos relacionados a

su estructura, bioformación, reacciones, síntesis y perspectivas farmacológicas (Marcano y Hasegawa, 2002)

Bases Teóricas

Familia Solanaceae

La familia Solanaceae comprende aproximadamente 98 géneros y unas 2700 especies, distribuidas en diferentes hábitats y con morfología muy variada, se distribuye por casi todo el planeta, con la excepción de la Antártica. La mayor diversidad de especie se ha registrado en América del Sur y América Central (Magaña y Burelo, 2010).

Las Solanáceas incluyen especies de gran importancia económica, alimenticia como la papa, *Solanum tuberosum* L.; tomate, *Solanum esculentum* L.; berenjena, *Solanum melongena* L.; y tomate de hoja, *Physalis spp.*; otras de uso industrial como el tabaco, *Nicotiana tabacum* L.; ornamentales como, *Petunia spp.*; floripondio, *Brugmansia spp.*; copa de oro, *Cyphomandra spp.*; y huele de noche, *Cestrum nocturnum* L. Algunas especies de la familia se les atribuye uso medicinal: *Cestrum spp.*, *Datura stramonium* L., *Nicandra physalodes* Gaertn., *Physalis spp* y *Atropa belladonna* L (Vargas, Martínez y Dávila, 2003).

Cabe destacar, que constituye un grupo taxonómico muy diverso e importante. Se ubica en el reino Plantae, división Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, subclase Asteridae, orden Solanales, familia Solanaceae, subfamilia Cestroideae, Solanoideae, Nicotianoidea, Petunoideae, Schizanthoideae (Solanaceae Sourse, 2012)

En general las especies de la familia Solanaceae se caracterizan por ser hierbas, arbustos, lianas o pequeños árboles, a menudo ramificados simpódicamente, con diversos tipos de pelos estrellados, ramificados o espinosos, pueden ser anuales,

bienales o perennes, erguidas o decumbentes (Niño, Correa, Cardona y Mosquera, 2011).

A continuación, se describen algunas características botánicas de esta familia Solanaceae:

- **Tallo:** Los tallos pueden estar provistos de tubérculos subterráneos. No presentan laticíferos, ni látex, ni jugos coloreados. Pueden presentar una agregación basal o terminal de hojas o pueden no tener ninguno de ambos tipos.
- **Flores:** son en general hermafroditas, en la gran mayoría de los casos presentan un perianto diferenciado en cáliz y corola (con 5 sépalos y 5 pétalos, respectivamente).
- **Cáliz:** El cáliz es gamosépalo (ya que los sépalos están unidos entre sí formando un tubo), con los 5 (a veces 4 o 6) segmentos iguales entre sí, es pentalobulado, con los lóbulos más cortos que el tubo, es persistente y puede muy a menudo ser acrescente.
- **Corola:** La corola usualmente presenta 5 pétalos que también se hallan unidos entre sí formando un tubo.
- **Androceo:** El androceo presenta 5 estambres (raramente 2, 4 o 6), libres entre sí, opositisépalos (es decir, alternan con los pétalos), son usualmente fértiles.
- **Gineceo:** El gineceo es bi-carpelar (raramente 3- o 5-locular), de ovario súpero y presenta dos lóculos. Los lóculos pueden estar secundariamente

divididos por falsos septos. Cada lóculo lleva de 1 a 50 óvulos anátropos o hemianátropos de placentación axilar.

- **Fruto:** El fruto en las Solanáceas puede ser una baya (como en el caso de Solanum), una drupa, o una cápsula. Las cápsulas son normalmente septicidas o, raramente, loculicidas o valvares.
- **Semillas:** Las semillas son usualmente endospermas, oleosas (raramente almidonosas), sin pelos conspicuos. El embrión, que puede ser recto a curvo, presenta dos cotiledones (Niño y cols., 2011).

- **Aspectos químicos de las Solanáceas**

Químicamente, las solanáceas han sido ampliamente estudiadas, principalmente durante la década de los 60. Durante este tiempo se descubrieron varias moléculas novedosas como esteroides, saponinas, glucósidos y alcaloides en raíces, tallos y hojas. De todas las moléculas antes mencionadas, son los alcaloides a quienes se ha dado una importancia especial ya que éstos han mostrado la mayor actividad en todos los casos (Zhañay, 2012).

Se destacan la solanidina, la solasodina, solasodieno, solaverinas, solasonina, solaverol, solafloridina, tomatidina, solaverbascina y β - solamarina, sólo por mencionar los alcaloides más importantes. Los flavonoides son otro grupo de moléculas que han sido aisladas del género Solanum, aquí podemos hablar de los glicósidos de flavonol, de dihidroflavonoles y antocianinas, las cuales aportan la coloración púrpura a flores y frutos (Zhañay, 2012).

- **Actividades farmacológicas**

Las actividades farmacológicas de la familia Solanaceae son extensas, debido a que la mayoría poseen compuestos de naturaleza alcaloidea utilizados por la industria farmacéutica, de especies de *Datura*, *Hyoscyamus*, y *Duboisia* (Seijo, 2017).

- **Alcaloides:** (solanidina, solasodieno, solaverinas, solafloiridina, tomatidina, espirosolano, solanocapsina) tienen actividad hipnóticas, sedantes, alucinógenas y muscarínicas (anticolinérgicas) o antiespasmódicas (Seijo, 2017).
- **Flavonoides:** (rutina, quercetina y kaempferol) en particular, exhiben una amplia gama de efectos biológicos, incluyendo actividad antibacteriana, antiviral, antiinflamatoria, antialérgica, antioxidante, antitrombótica y vasodilatadora (Zhañay, 2012).
- **Polifenoles:** poseen acciones molusquicidas, antihelmínticas, antihepatotóxicas, antidiarreicas, antiulcerosos, antivirales, antialérgicas y vasodilatadoras (Zhañay, 2012).
- **Saponinas:** han sido trabajados para desafiarlos a nivel experimental e identificar sus posibles actividades frente a bacterias, hongos, insectos o células. Tienen actividad en la síntesis de hormonas, drogas para el tratamiento contra el cáncer y el alzhéimer, control del colesterol e investigación de vacunas humanas (herpes y VIH, entre otros (Flechas, Sánchez y Silva, 2008).

Género *Solanum*

Solanum es uno de los géneros más grandes de Angiospermas, con cerca de 1500 especies, distribuidas en los trópicos, subtrópicos y en las regiones templadas de ambos hemisferios. Entre sus especies se encuentran muchas de importancia económica por su uso y explotación como alimento y aplicaciones en farmacología, además de las relaciones ecológicas y evolutivas que establecen con numerosas especies de insectos para los cuales son plantas nutricias (Cadavid, 2013). La más alta concentración de especies se encuentra en los Andes y en el Sur Este de Brasil, las especies crecen preferiblemente en bosques húmedos tropicales (Orozco, Beltrán, Porras y Nee, 2008).

Aunque la taxonomía del género *Solanum* es compleja por su tamaño y diversidad morfológica, las aproximaciones moleculares han sido útiles para elucidar su estructura filogenética. Con el uso de datos moleculares del gen *ndhF* de cloroplasto y las regiones nucleares ITS y *waxy*, al menos doce especies se han encontrado bien soportados dentro del género (*Leptostemonum*, *Dulcamaroides*, *Morelloides*, *Normania*, *Archaesolanum*, *Africanas sin espinas*, *Papa*, *Regmandra*, *Thelopodium*, *Brevantherum*, *Geminata* y *Cyphomandra*). Por ello, *Solanum* está ubicado dentro de la familia Solanaceae, subfamilia Solanoideae, subgéneros *Solanum*, *Bassovia* y *Leptostemonum* (Weese y Bohs, 2007).

Este género se caracteriza, por ser plantas arbustivas generalmente trepadoras, hierbas anuales o perennes, principalmente tropicales (Lastres y Benítez, 2014). Entre sus características morfológicas, tanto vegetativas como reproductivas presentan: tallos herbáceos con ramificaciones, hojas alternas sin estipulas, inflorescencias cimosas, flores hermafroditas generalmente violáceas blancas y amarillas, cáliz acampanado o extendido, corola rotácea y tubo muy corto, estambres insertos en la garganta del tubo corolino, fruto en baya bilocular y semillas numerosas (Ancco, 2003).

- **Composición química del género *Solanum***

Estudios fitoquímicos han afirmado la presencia de numerosos metabolitos secundarios entre los cuales destacan: alcaloides, saponinas y sapogeninas esteroidales, flavonas y flavonoides, antocianidinas, taninos, cumarinas, Triterpenos, Carotenoides, Ácidos grasos, Ácido ascórbico entre otros (Alarcón, Usubillaga, Peña, Pérez, Aparicio y Rojas, 2013).

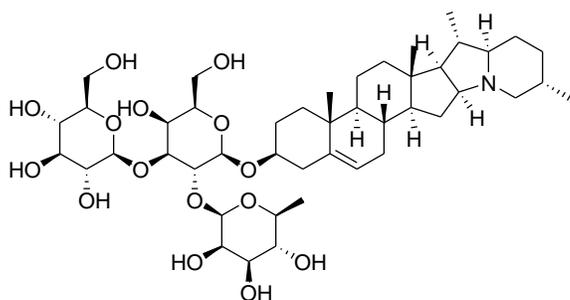
Alcaloides del Solanum

Los alcaloides son un tipo de metabolitos secundarios, es decir, compuestos químicos sintetizados por las plantas y que no son esenciales para su metabolismo. En general, la planta los sintetiza a partir de aminoácidos y los utiliza en su relación con el medio que la rodea. Aunque las Solanáceas no son las únicas plantas que los sintetizan, muchas especies de esta familia los contienen en grandes cantidades. Algunos de esos alcaloides son en realidad glicoalcaloides, es decir, alcaloides con un grupo de azúcar. Normalmente tienen una finalidad defensiva (para evitar que los animales o las plagas se coman las plantas), y algunos incluso impiden el crecimiento de determinados microorganismos (Seijo, 2017).

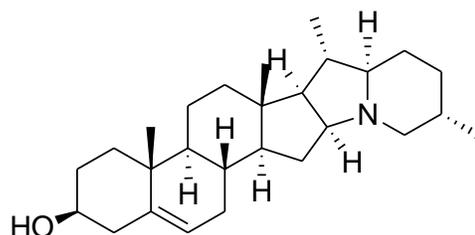
En su mayoría poseen un esqueleto de 27 carbonos y pueden dividirse en 4 núcleos: solanina (1) solanidina (2), solanocapsina (3) y solacongestidina (4) (Figura 1) (Prelog, 1960).

El género *Solanum* es conocido como una fuente de compuestos esteroidales, destacándose, el *Solanum tuberosum*, *Solanum lycopersicum* y *Solanum melongena*, como productores de solanina (1). Otros alcaloides como la solanidina (2), se han obtenido del *Solanum hirtum* Vahl, *Solanum nigrum* L y *Solanum tuberosum* (Navarrete, 2017). Así, como también se han aislado del *Solanum seaforthianum* y *Solanum pseudocapsicum* L, el alcaloide solanocapsina (3) (Hernández, Martínez, Fiallo, Souza y Oglio, 2016).

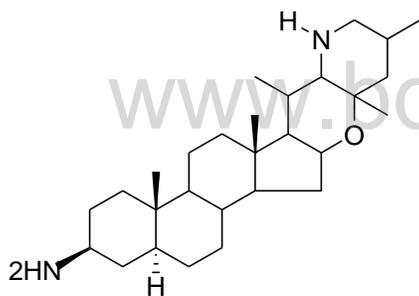
Figura 1. Estructura química de los núcleos de alcaloides obtenidos del género *Solanum*



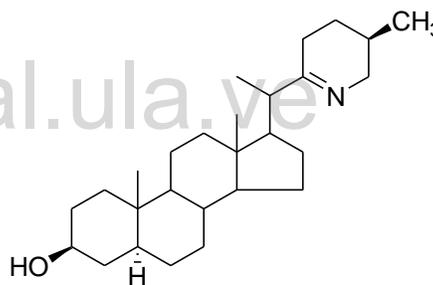
1. Solanina



2. Solanidina



3. Solanocapsina



4. Solacongestidina

Tomado y modificado de Hernández, Martínez, Fiallo, Souza y Oglio, 2016.

Saponinas del Solanum

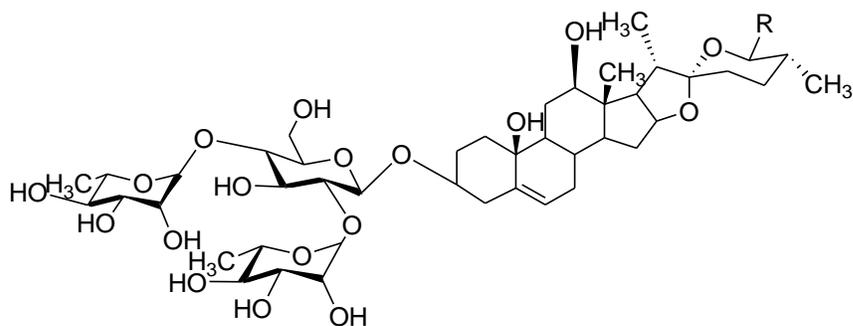
Las saponinas son compuestos secundarios de origen vegetal, se caracterizan por sus propiedades tenso-activas; se disuelven en agua formando disoluciones espumosas y se encuentran por lo general en familias de la clase monocotiledónea, como son; Liliacea (Agavaceae), Dioscoreaceae y Amarilidácea. En las dicotiledóneas, se les ha encontrado en las familias Solanaceae y Scrofulariaceae (Méndez, 2016).

Las saponinas están formadas por hidratos de carbono (azúcares) y una sapogenina (aglicona) mediante el enlace glicosídico que siempre se forma con el oxígeno del carbono tres de la sapogenina. Se encuentran dentro del grupo de los glicósidos heterósidos; ya que por hidrólisis ácida queda libre la sapogenina. Su actividad glicosidasa se presencia en los azúcares de la serie D (glucosa, galactosa, xilosa) en la forma β , y en los azúcares de la serie L (arabinosa y ramnosa) en la forma α (Méndez, 2016).

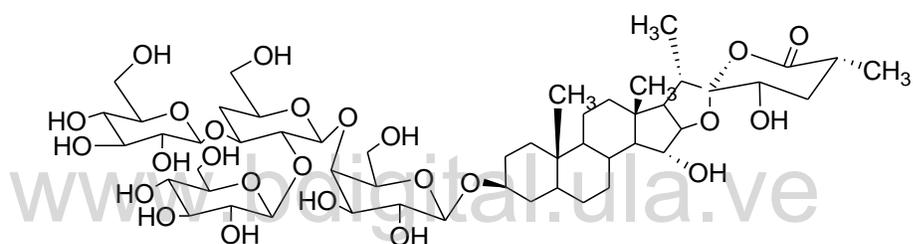
De acuerdo a la naturaleza del aglicón, las saponinas pueden tener un esqueleto esteroidal o triterpenoide. Los de tipo esteroidal se caracterizan por presentar un anillo de 1,2-ciclopentanofenantreno, con una aglicona que corresponde a un grupo esteroidal de 27 átomos de Carbono y los de tipo triterpenoide; cuyo aglicón es un grupo terpenoide pentacíclico de 30 átomos de Carbono (Hernández y Hermosilla, 2014)

Diversos estudios han reportado saponinas esteroidales aislados de diferentes especies del genero *Solanum*, entre ellos se encuentran: los liconósidos (5) de *Solanum lycocarpum*, solanigrósido (6) de *Solanum nigrum* y solanolactósido (7) aislado de *Solanum torvum* (Cardona, 2011).

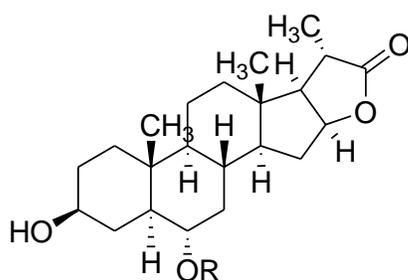
Figura 2. Estructura química de algunas saponinas del género *Solanum*



5. Liconósido



6. Solanigrósido



$R = \alpha\text{-L-Rha (1} \rightarrow 3\text{)-O-}\beta\text{-D-Qui-}$

7. Solanolactósido

Tomado y modificado de Cardona, 2011.

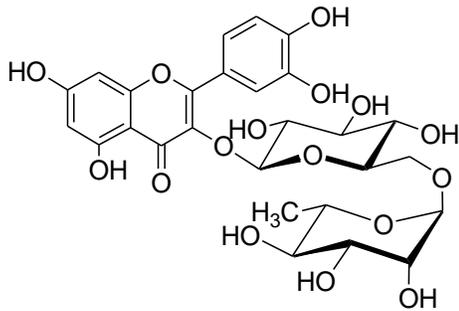
Flavonoides del Solanum

Los flavonoides son productos del metabolismo secundario de las plantas, su estructura corresponde a un compuesto polifenólico hidroxilado; la palabra flavonoide engloba gran cantidad de productos de origen natural, con un esqueleto de C6-C3-C6. Estos compuestos biológicamente activos desempeñan múltiples funciones; en la planta se transportan por sus tejidos y se hallan dentro de la célula fotosintetizadora, involucrándose directamente en procesos de protección y señalización (Tipanquiza, 2018).

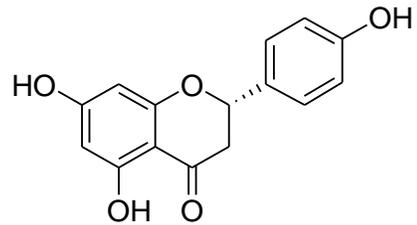
La presencia de grupos hidroxilo confiere a la molécula efectos antioxidantes, por quelación de iones metálicos o por neutralización de radicales libres. En el tejido vegetal constituye un mecanismo de defensa anti oxidativo contra diferentes tipos de estrés, tanto abiótico como biótico; dan coloración a las flores y frutos de las plantas, su papel es determinante en la polinización, son sintetizados para proteger a la planta contra agentes infecciosos, para la protección contra la radiación UV y el calor, regulan el crecimiento (Tipanquiza, 2018).

El origen de los flavonoides al igual que los demás compuestos fenólicos, consta de dos rutas, la del ácido malónico y la del ácido shikímico, siendo la segunda la responsable de la biosíntesis de estos compuestos en plantas. Junto con los procesos Oxidativo, se originan diferentes clases de flavonoides, entre ellos la rutina (8), obtenida de las hojas del *Solanum nigrum* L (Perdomo, 2017) y la narigenina (9), uno de los principales compuestos del fruto de *Solanum lycopersicum* L (Montoya, 2017). Así como también, los flavonoides tilirosídeo (10) y astragalina (11) aislados de los frutos verdes de *Solanum crinitum* Lam (Cornelius y cols., 2010).

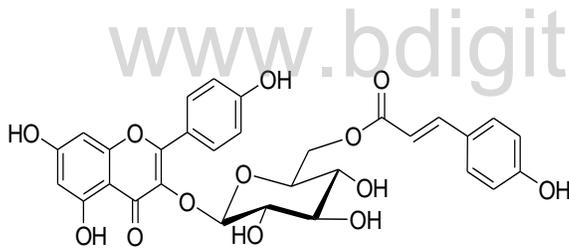
Figura 3. Estructura química de algunos flavonoides del genero *Solanum*



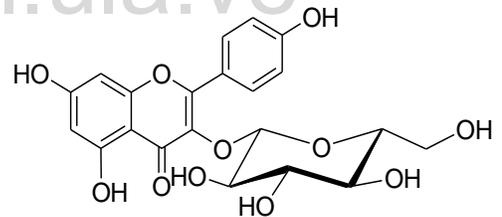
8. Rutina



9. Naringenina



10. Tilirosídeo



11. Astragalina

Tomado y modificado de Perdomo y Montoya, 2017.

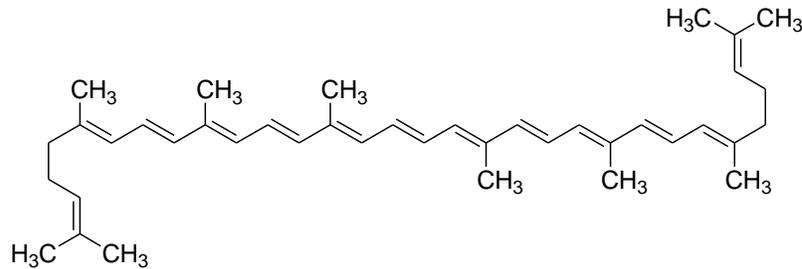
Carotenoides del Solanum

Los carotenoides son una de las muchas familias de metabolitos vegetales derivados de la biosíntesis de los isoprenoides. Son un grupo de pigmentos ampliamente distribuidos en el reino vegetal, responsables de colores amarillos, rojos y naranjas de alimentos tales como frutas, verduras, yemas de huevo, proporcionan el color característico del salmón y la trucha, tienen capacidad antioxidante (Valdés, 2016).

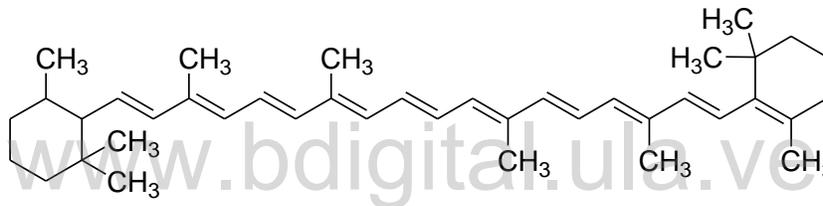
También se les conoce como tetraterpenoides (C_{40}), siendo pigmentos con 40 átomos de carbono formados por 8 unidades de isopreno donde la secuencia se encuentra invertida en el centro derivado de 2 unidades de geranil – geranil-pirofosfato (Valdés, 2016).

Entre los carotenoides que se encuentran dentro del género *Solanum* se mencionan el licopeno (12) que es el principal carotenoide acumulado en el tomate (*Solanum lycopersicum*) constituyendo más del 80 % de estos compuestos en el estado de maduración (rojo), y es el responsable de su color característico. Es a su vez un punto de partida en la ruta biosintética de otros carotenoides, como la formación de B-caroteno (13), precursor de la vitamina A, que también se han aislado de otras especies (*Solanum tuberosum* y *Solanum melongena*) (López y cols., 2014).

Figura 4. Estructura química de algunos carotenoides del genero *Solanum*



12. Licopeno



13. β -caroteno

Tomado y modificado de López y cols., 2014.

Actividades farmacológicas

Algunas especies del genero *Solanum* son utilizadas para el tratamiento de una gran variedad de aplicaciones medicinales: antimaláricas, anticonceptivas, antimicrobianas, enfermedades cardiacas y enfermedades sexuales (Tabla 1) (Coy, Cuca y Orozco, 2006).

Tabla 1. Actividades Farmacológicas de Algunas Especies del Género <i>Solanum</i>		
Nombre Científico	Actividad Farmacológica	Referencias
<i>Solanum nigrum</i>	Antiséptico, expectorante, cardiotónico, digestivo diaforético y sedativo.	(Chang, García, Rosalbal, Espinosa y Ramos, 2013).
<i>Solanum tuberosum</i>	Actividad antioxidante	(Saikhan, Howard y Miller, 1995).
<i>Solanum lycopersicum</i>	Antihelmíntico, antiinflamatorio y anticancerígeno	(Guano, 2015).
<i>Solanum mammosum</i>	Tratamiento de pie de atleta y sinusitis	(Romaní y Humire, 2009).
<i>Solanum torvum</i>	Demulcente, antiácido, antiinflamatorio, antipruriginoso	(Jackson y cols., 2010).
<i>Solanum incanum L</i>	Infecciones micóticas cutáneas patológicas	(Beaman y Muhammed. 1976).
<i>Solanum surattense</i>	Actividad antibacteriana contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , cicatrizante y antioxidante	(Thirumalai, Therasa y Elumalai, 2012).

<i>Solanum lycocarpum</i>	Tratamiento de la diabetes, esteroides anabolizantes, anticonceptivos y antiinflamatorios	(Aguar, 2005).
<i>Solanum dolichosepalum</i>	Actividad antimicrobiana	(Ramírez, Isaza y Pérez, 2013).
<i>Solanum quitoense</i>	Propiedades antioxidantes	(Moreno, Andrade, Concellón y Díaz, 2013).

www.bdigital.ula.ve

Especie *Solanum hirtum* Vahl

Es una maleza ampliamente conocida en México, en el norte de Colombia y en Venezuela, es un arbusto pequeño de más o menos 1 metro de alto, muy espinoso, que crece en los potreros a libre exposición solar, es resistente a nematodos del género *Meloidogyne* spp. Es de amplia distribución a nivel mundial, presenta aguijones fuertes en tallo y hojas, sus frutos son bayas de pulpa seca (amarillos o anaranjados) cubiertos de pelos largos y blandos, aunque son venenosos tienen diferentes usos medicinales (Ordoñez, Gómez, Ordoñez y Lagos, 2012) (Figura 5).



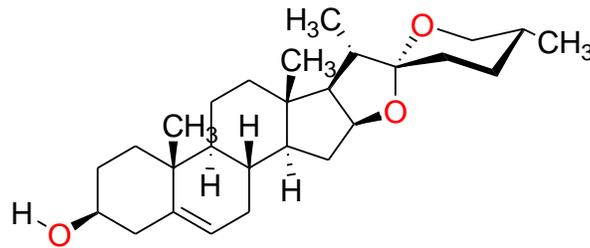
Figura 5. *Solanum hirtum* Vahl, Tallo, flores y frutos (Salinas, 2012).

Dentro de las angiospermas, el tomatillo (*Solanum hirtum*) se encuentra en los siguientes taxones: Reino Plantae, Phylum Magnoliophyta, Clase Magnoliosida, Orden Solanales, Familia Solanaceae, Genero *Solanum*, Especie *hirtum*, Autor: Vahl (Salinas, 2012).

- **Composición química**

Entre los principios activos que se han obtenido de *Solanum hirtum* se encuentran los glicoalcaloides solanina (1) y solanidina (2) que son compuestos tóxicos de sabor amargo dependiendo del grado de madurez del fruto (Salinas, 2012). Se aisló del extracto metanólico de las hojas de *S. hirtum* una sapogenina que fue identificada como diosgenina (14) (Vélez y Escobar, 2006). Adicionalmente otros autores reportan mediante el análisis fitoquímico cualitativo de los extractos de frutos, tallos, raíces y hojas de *S. hirtum* la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos (Ancona, Valencia, García, Chin y Luna, 2015).

Figura 6. Estructura química de la sapogenina obtenida de *Solanum hirtum*



14. Diosgenina

Tomado y modificado de Vélez y Escobar, 2006.

- **Actividad farmacológica**

La presencia de compuestos, entre ellos la solanina y solanidina permiten que la especie (*Solanum hirtum*) posea propiedades antiinflamatorias y anticonvulsivantes (Salinas, 2012). Principios activos como la diosgenina tienen una gran importancia en la industria farmacéutica de la actualidad. Entre sus principales usos se encuentran la producción de hormonas sexuales (anticonceptivos) y corticosteroides para el tratamiento de inflamaciones de la piel y artritis (Vélez y Escobar, 2006).

Productos naturales

Son todas aquellas sustancias que biosintetizan las plantas a partir de otras muy sencillas, como lo son CO₂, H₂O y O₂. El uso de productos naturales se originó por los intentos de aislar e identificar los compuestos fisiológicamente activos de origen animal o vegetal, tal es el caso del descubrimiento de la morfina, las penicilinas y las prostaglandinas (Ringuelet y Viña, 2013).

Los compuestos químicos celulares (metabolitos) pueden ser clasificados en primarios y secundarios. Los compuestos primarios serían todos aquellos que son esenciales para el funcionamiento de toda materia viva, responsables de su estructura y de todas las reacciones necesarias para mantener el estado vital y posibilitar el crecimiento, el desarrollo y la reproducción. Comprenden los Glúcidos o Hidratos de Carbono, los Lípidos, las Proteínas y los Ácidos Nucleicos (Ringuelet y Viña, 2013).

Los compuestos secundarios cumplen funciones que no resultan estrictamente vitales en los tejidos y representan en ocasiones compuestos de desecho del metabolismo. No están, en general, directamente involucrados con el crecimiento y desarrollo, ni participan en procesos tales como la obtención de energía (Ringuelet y Viña, 2013).

Su importancia radica en la propia función biológica en la que son biosintetizados. Pueden ser útiles por sus posibilidades directas como agentes terapéuticos, pueden servir como modelos para la preparación de sustancias bioactivas, como materia prima para la síntesis de sustancias de interés farmacológico y/o interés industrial (Gutiérrez y Estévez, 2009).

A fin de establecer un ordenamiento, estos compuestos se clasificarán teniendo en cuenta: su origen biosintético, las características estructurales comunes y las propiedades de solubilidad (Ringuelet y Viña, 2013).

Los grandes grupos de metabolitos secundarios a tratar son:

Compuestos nitrogenados y azufrados: caracterizados por poseer nitrógeno y/o azufre en su estructura, de solubilidad y origen biosintético diverso, pero mayoritariamente derivados de aminoácidos (Ringuelet y Viña, 2013).

Compuestos fenólicos: con al menos un grupo hidroxilo unido a uno o más anillos aromáticos en su estructura química, la mayoría hidrosolubles y derivados biosintéticamente del ácido shikímico (Ringuelet y Viña, 2013).

Terpenoides: con la molécula de isopreno como unidad estructural, liposolubles, y biosintéticamente asociados a la vía del ácido mevalónico o a la vía gliceraldehído fosfato (Ringuelet y Viña, 2013).

Ácido pirúvico: dependiendo de la clase de terpenoides en cuestión. Varios compuestos no esenciales considerados metabolitos secundarios distribuidos en plantas y microorganismos, pueden no estar incluidos en estos grupos por no compartir algunas propiedades o características (Ringuelet y Viña, 2013).

- **Extractos vegetales**

Los extractos vegetales son productos extraídos directamente de los frutos, hojas, semillas o raíces de una planta, los cuales contienen componentes que pueden realizar una función beneficiosa en el organismo cuando se ingieren a través de un alimento, un complemento alimenticio, o cuando los aplicamos en la piel mediante un cosmético. También actúan como conservantes y antioxidantes de dichos alimentos y cosméticos (Bonatti, 1991).

Un extracto contiene los componentes activos más importantes del vegetal, de manera muy concentrada. De hecho, en un extracto, la cantidad del compuesto puede ser miles de veces superior a la que se encuentra originariamente en el vegetal (Bonatti, 1991).

- **Obtención de extractos vegetales**

Los métodos extractivos más empleados son: Maceración: frío o en calor, Soxhlet (extracción continua) y Arrastre por vapor de agua (destilación) (Bonatti, 1991).

Extracción por Maceración: la planta seca y molida se pone en contacto con el disolvente a temperatura ambiente, dejando la mezcla en reposo (aproximadamente de 3 a 10 días). Transcurrido el tiempo de maceración, se decanta el extracto y se elimina el residuo vegetal (Bonatti, 1991).

Extracción por Soxhlet: el material vegetal seco es sometido a una extracción continua. El aparato soxhlet asegura en todo momento la provisión de disolvente puro, que pasa por el material arrastrando los principios activos. El extracto suele concentrarse eliminando total o parcialmente el disolvente (Luque y Priego, 2010).

Extracción por Arrastre de Vapor: es el proceso de extracción mediante el cual se obtienen aceites esenciales, los cuales son productos grasos de un número muy grande de compuestos químicos aromáticos muy volátiles de estructura y composición muy compleja. La mayoría son terpenos de bajo peso molecular (Harborne, 1998).

- **Separación y purificación de extractos vegetales**

Muchas de las técnicas disponibles para la separación y purificación de los metabolitos secundarios están relacionadas con la cromatografía, que es un método físico de separación para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes (Corzo, 2019). Puede cumplir dos funciones básicas que no se excluyen mutuamente:

- Separar los componentes de la mezcla, para obtenerlos más puros y que puedan ser usados posteriormente (etapa final de muchas síntesis).
- Medir la proporción de los componentes de la mezcla (finalidad analítica). En este caso, las cantidades de material empleadas son pequeñas (Corzo, 2019).

La separación se debe a la influencia de dos efectos contrapuestos:

a) Retención: Efecto producido sobre los componentes de la mezcla por una fase estacionaria, que puede ser un sólido o un líquido anclado a un soporte sólido.

b) Desplazamiento: efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase móvil, que puede ser un líquido, un gas o un fluido supercrítico (Corzo, 2019).

Son diversos los criterios usados para la clasificación, siendo uno de ellos, el tipo de soporte físico sobre el cual se desarrolla el análisis cromatográfico. Esto define a la técnica en general, la fase estacionaria puede estar dispuesta sobre una superficie plana, o ser colocada en el interior de un tubo cilíndrico de vidrio o de acero inoxidable (Corzo, 2019). Basándose en esto la cromatografía se puede clasificar de la siguiente manera:

Cromatografía en columna: es una de las técnicas más útiles para purificar compuestos. Esta técnica utiliza una fase estacionaria, que se embala en una columna, y una fase móvil que pasa a través de la columna. Esta técnica aprovecha las diferencias de polaridad entre compuestos, lo que permite separar fácilmente las moléculas. Las dos fases estacionarias más comunes para cromatografía en columna son gel de sílice (SiO_2) y alúmina (Al_2O_3), siendo las fases móviles más utilizadas los disolventes orgánicos. El o los disolventes elegidos para la fase móvil dependen de la polaridad de las moléculas que se purifican. Más compuestos polares requieren típicamente más disolventes polares con el fin de facilitar el paso de las moléculas a través de la fase estacionaria. Una vez finalizado el proceso de purificación del

solvente puede eliminarse de las fracciones recogidas utilizando un evaporador rotatorio para producir el material aislado (Corzo, 2019).

Cromatografía en papel: es una técnica simple que tiene buena capacidad de resolución y se aplica en la separación e identificación de compuestos muy polares o polifuncionales como ácidos orgánicos, antibióticos hidrosolubles, hidratos de carbono, aminoácidos y pigmentos vegetales, entre otros. Se clasifica como cromatografía líquido – líquido por partición (Corzo, 2019).

La separación de los componentes de una muestra, en la cromatografía líquido -líquido en papel, se relaciona con las diferentes solubilidades relativas de estos (partición), entre las fases móvil y estacionaria. Los componentes menos solubles en la fase estacionaria tienen una migración más rápida a lo largo del papel, mientras que los más solubles en la fase estacionaria serán selectivamente retenidos, teniendo una migración más lenta (Corzo, 2019).

Cromatografía en capa fina: la cromatografía en capa fina, o delgada (CCD), es una técnica analítica rápida y sencilla, muy utilizada en un laboratorio de Química Orgánica. Consiste en la separación de los componentes de una muestra, debido a la migración diferencial de los mismos a través de una capa delgada de adsorbente, sostenido por una superficie plana inerte. Entre otras cosas permite:

- ✓ Determinar el grado de pureza de un compuesto. Si la sustancia en cuestión proviene de una mezcla que se separó por medio de una columna cromatográfica, se puede determinar la pureza de cada fracción por CCD. Se puede determinar así, por ejemplo, la efectividad de una etapa de purificación. Si, luego de un proceso cromatográfico previo de separación el compuesto presenta varias manchas, en una CCD, entonces dicho compuesto no está puro y no se logró separarlo de sus impurezas.

- ✓ Comparar muestras. Si dos muestras corren igual en la placa podrían ser idénticas. Si, por el contrario, corren distinto entonces no son la misma sustancia.
- ✓ Realizar el seguimiento de una reacción. Es posible estudiar cómo desaparecen los reactivos y cómo aparecen los productos finales o, lo que es lo mismo, saber cuándo la reacción ha acabado.

Al igual que otras técnicas cromatográficas, consiste de una fase estacionaria y una fase móvil y el principio de la separación es el mismo: la sustancia de interés será retenida por la fase estacionaria, o se moverá con la fase móvil, recorriendo una distancia que es inversamente proporcional a su afinidad por la fase estacionaria (Corzo, 2019).

Análisis fitoquímico preliminar

Para determinar la presencia de los principales grupos de metabolitos en una especie vegetal, se efectúan una serie de pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación, que dependiendo de las características estructurales y solubilidad puede realizarse la identificación de los mismos (Rojas, Uribe, Martínez, y Niño, 2009).

Entre las pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación se encuentran:

Ensayo de Liebermann-Burchard (Terpenos y/o Esteroides)

Esta prueba es típica de los ciclos fusionados que contienen dos dobles enlaces conjugados, en un mismo anillo, en dos anillos adyacentes o un doble enlace en un anillo adyacente con un grupo hidroxilo, empleando una mezcla ácida compuesta de ácido acético, ácido sulfúrico y anhídrido acético lo que da un color verde intenso. Lo cual se debe a que el grupo hidroxilo (OH) reacciona con los reactivos y existe un aumento en la conjugación de la saturación del anillo fusionado, precursor de la

formación del color. La reacción debe realizarse en medio absolutamente anhidro, ya que, al existir moléculas de agua, estas reaccionan con el anhidro acético, anulando de esta manera la formación de un agente oxidante, muy necesario para la efectividad del ensayo en mención (Carranza y Huayanay, 2009).

Ensayo de Shinoda (Flavonoides)

La reacción Shinoda (magnesio en ácido clorhídrico) permite distinguir algunos tipos de flavonoides: coloración naranja con las flavonas, rojo cereza con los flavonoles, violeta con las flavanonas. En esta reacción el magnesio metálico es oxidado por el ácido clorhídrico concentrado, dando como productos al hidrogeno molecular, que es eliminado en forma de gas y el cloruro de magnesio, que es el que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características. El magnesio divalente, actúa sobre el grupo carbonilo de dos flavonas, produciendo una coloración roja, este aumento de densidad es debido a que el magnesio divalente intensifica la coloración por estar doblemente coordinado (Carranza y Huayanay, 2009).

Ensayo Dragendorff y Mayer (alcaloides)

La identificación de alcaloides con reactivos generales, se encuentran dentro del grupo de las reacciones de precipitación. Estos principios activos, poseen un grupo amino, que les confiere propiedades alcalinas y, al ser llevados a un medio ácido, se protonan e interaccionan electrostáticamente con los aniones voluminosos (Carranza y Huayanay, 2009).

- *Dragendorff*: produce sales de los alcaloides precipitados coloreados; el bismuto presenta una geometría octaédrica y una carga formal de -2, en su esfera de coordinación (anión voluminoso) para interactuar electrostáticamente con dos moléculas de alcaloide protonadas (Carranza y Huayanay, 2009).
- *Mayer*: presenta como metal de coordinación al mercurio (Hg^{2+}), el cual forma una coordinación tetraédrica, con una carga formal, en su

esfera de -2; interactuando de manera semejante al reactivo dragendorff (Carranza y Huayanay, 2009).

Ensayo de FeCl₃ (taninos y fenoles)

La reacción señala el carácter fenólico, siendo soluble en agua, álcalis diluidos, alcohol, acetona y glicerina, es un tipo de reacción ácido-base de Lewis, teniendo como donador de electrones a los hidroxilos del catecol del tanino, existiendo la formación de cargas parciales para la posterior eliminación de átomos de hidrogeno y cloruro hasta llegar a la formación de un complejo de color verde oscuro, es decir se debe al ataque producido por el Ion cloruro al hidrógeno del grupo hidroxilo provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenóxido al hierro (Carranza y Huayanay, 2009).

Ensayo de Gelatina 1 % (taninos)

Los taninos, son productos fenólicos que pueden precipitar las proteínas a partir de sus disoluciones acuosas dada su capacidad de combinarse con las macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa, gelatina). La formación de un precipitado blanco al reaccionar con la gelatina, se debe a la desnaturalización de la misma por formación de puentes de hidrogeno entre el nitrógeno del enlace peptídico de sus aminoácidos y el hidrogeno de los oxhidrilos fenólicos de los taninos (Carranza y Huayanay, 2009).

Prueba de altura y estabilidad de espuma (saponinas)

Esta reacción se basa en la formación de una espuma persistente, transcurridos 15 min, la cual tendrá una altura superior a 1cm si la prueba es positiva. Esto se debe a que las saponinas disminuyen la tensión superficial del agua, son por lo tanto tenso-activos naturales (Carranza y Huayanay, 2009).

Bacterias

Las bacterias son algo complejas y poseen tanto ARN como ADN, una maquinaria metabólica para la autorreplicación y una pared celular de estructura más compleja. Son microorganismos procariontes, es decir, microorganismos unicelulares simples sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi o retículo endoplasmático, y se reproducen mediante división asexual (Murray, 2018).

La característica clave para clasificar la mayoría de las bacterias es sus propiedades tincionales, siendo las más importantes la tinción de Gram y las tinciones ácido-alcohol resistentes. La mayoría de las bacterias son grampositivas con una capa gruesa de peptidoglucanos (se tiñen de azul) o gramnegativas con una capa delgada de peptidoglucanos y una membrana externa de recubrimiento (se tiñen de rosado) estas bacterias se subdividen en función de:

- Tamaño (1 a 20 μm o mayor)
- Su forma (esférica, cocos, bacilos o espiral)
- Disposición espacial de las células (unicelulares, pares, cadenas o agrupadas)
- Propiedades de crecimiento específicas: aerobias (precisan oxígeno), anaerobias (no pueden crecer en presencia de oxígeno), anaerobias facultativas (crecen en ambas atmósferas)
- Si forman o no esporas resistentes (únicamente los bacilos grampositivos son formadores de esporas) (Murray, 2018).

Antibióticos

Los antibióticos son moléculas derivadas del metabolismo de bacterias y hongos principalmente, pero también pueden ser compuestos obtenidos por síntesis química, para inhibir el crecimiento o destruir a microorganismos causantes de infecciones.

Actúan a bajas concentraciones y no son tóxicos para el hospedero (Salcido, Prieto, León y Pérez, 2015).

Los antibióticos se pueden clasificar, en dependencia de los efectos sobre las bacterias, en bacteriostáticos si inhiben el crecimiento bacteriano (efecto reversible) o bactericidas los que producen muerte o lisis bacteriana (Quiñonez, 2017).

Es importante resaltar que muchos antimicrobianos se encuentran relacionados desde el punto de vista de su estructura química, por esta razón se agrupan en clases. Sin embargo, a pesar de que los compuestos pertenecientes a cada clase comparten diversas características estructurales y funcionales, a menudo poseen unas propiedades farmacológicas y un espectro de actividades diferentes. En consecuencia, algunos son de amplio espectro y otros de espectro reducido (Beers, Porter y Jones, 2007).

- **Mecanismo de acción de los antibióticos**

Los antibióticos se encuentran formados por distintos compuestos, inhiben varios procesos metabólicos o actúan sobre partes específicas de la célula bacteriana. Entre los principales mecanismos de acción de antibióticos tenemos:

- a. Inhiben la síntesis de la pared bacteriana.
- b. Afectan la permeabilidad de la membrana celular y permiten la fuga de compuestos intracelulares.
- c. Afectan la función de las subunidades ribosomales 30 S o 50 S causando inhibición reversible de la síntesis proteínica.
- d. Perjudican el metabolismo del ácido nucleico al bloquear las enzimas bacterianas que son esenciales para la síntesis de ADN y así impiden la replicación del ADN bacteriano (Silva, 2018).

Resistencia bacteriana

Es la capacidad de las bacterias para contrarrestar el efecto de algún antibiótico; esta resistencia sobreviene cuando la bacteria sufre algún cambio que reduce o elimina la efectividad de antibiótico, compuestos químicos o cualquier otro agente destinado para curar o prevenir alguna infección. La resistencia puede ser una consecuencia evolutiva vía la selección natural, pero también es causada por el uso indiscriminado de los agentes antimicrobianos (Salcido y cols., 2015).

Es un problema continuo y en aumento. Se hace aún mayor cuando un microorganismo presenta más de un mecanismo de resistencia y cuando tiene la facultad de transmitirlo, no sólo a su descendencia, sino también a otras bacterias de su misma o diferente especie (Moreno, Gonzales y Beltrán, 2009).

Los fenómenos de resistencia son variados, destacando entre ellos cuatro mecanismos principales:

Enzimas hidrolíticas: las bacterias sintetizan enzimas que hidrolizan al antimicrobiano, destruyendo su acción antibacteriana, sin tener posibilidad de actuar sobre el microorganismo (Moreno y cols., 2009).

Modificación del sitio blanco: la modificación de un aminoácido genera un blanco diferente y así disminuye la afinidad de unión por el antimicrobiano (Moreno y cols., 2009).

Disminución de la permeabilidad de la pared celular al ingreso del antimicrobiano: cambios en el diámetro y/o número de porinas pueden bloquear el ingreso del antimicrobiano a la bacteria (Moreno y cols., 2009).

Bombas de eflujo: transporta al antimicrobiano hacia el exterior de la célula sin modificaciones, pero sin acción antibacteriana (Moreno y cols., 2009).

- **Actividad antibacteriana**

La actividad antibacteriana se refiere a una serie de acciones que una determinada sustancia o antibiótico puede ejercer en contra de los microorganismos. Estas acciones pueden eliminar o inhibir el desarrollo de los microorganismos patógenos. Las sustancias que presentan dicha actividad pueden ser utilizadas en terapéutica por vía general para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, por su eficacia y su ausencia de toxicidad (Pedraza y Castellanos, 2009).

Existen hoy en día métodos para determinar la susceptibilidad de la actividad antibacteriana. Entre los cuales podemos mencionar: el método de difusión en disco de agar (prueba de Kirby-Bauer), método de tiras Epsilon (Etest) y el método de dilución en caldo o en agar (Concentración Inhibitoria Mínima) (García, Cantón, García, Gómez, Martínez, Rodríguez y Vila, 2000).

Método de difusión en disco: es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. (García y cols., 2000)

Método de tiras Epsilon: consiste en una tira de plástico no poroso que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. El protocolo para preparar el inóculo es el mismo que para la difusión en disco siguiendo el método de difusión, una vez inoculado la placa de agar con el microorganismo, se

coloca la tira de E-test sobre su superficie, produciéndose de forma inmediata una difusión del antibiótico desde el soporte hasta el agar, creándose de este modo a lo largo de la tira un gradiente exponencial de las concentraciones del antimicrobiano. Tras la incubación de las placas, se puede observar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica. Después de la incubación la CIM será el valor obtenido en el punto en el que el extremo de inhibición intersecciona con la tira (García y cols., 2000).

Métodos de dilución: estos métodos se basan en la determinación del crecimiento del microorganismo en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano, que se encuentra diluido en el medio de cultivo (caldo o agar) (García y cols., 2000).

- **Dilución en agar:** es un método bien establecido para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos. El agente antimicrobiano se incorpora dentro del medio con agar, de manera que cada placa contenga una concentración de antibiótico diferente. Los inóculos de los distintos microorganismos se pueden aplicar rápida y simultáneamente sobre la superficie del agar utilizando replicadores. La mayoría de los replicadores existentes transfieren de 36 a 32 inóculos por placa (García y cols., 2000).

- **Dilución en caldo:** en función del volumen de medio utilizado tenemos dos tipos:

Macrodilución: la prueba se realiza en tubos de hemólisis, estériles (El volumen final requerido en cada tubo es de 1 mL) (García y cols., 2000).

Microdilución: esta prueba se realiza en una placa de poliestireno que contiene aproximadamente 96 celdillas (se suelen emplear volúmenes de 0,1 mL en cada celdilla) (García y cols., 2000).

Definición operacional de términos

Concentración de extractos: consiste en la evaporación del solvente empleado en la extracción de principios activos de la planta, mediante el equipo rotavapor que concentra con parámetros como: temperatura, movimiento y presión (Marcano y Hasegawa, 2002).

Metabolitos bioactivos: son aquellos compuestos que abarcan los metabolitos primarios los cuales están involucrados de forma directa en el crecimiento, desarrollo y reproducción de la planta (aminoácidos, carbohidratos, lípidos y 60 ácidos nucleicos) y metabolitos secundarios que son compuestos químicos sintetizados a partir del metabolismo primario (fenoles, terpenos y alcaloides) (Arratea y Mamani, 2017).

Antibacteriano: sustancias que reducen el incremento gradual del número, tamaño, complejidad y reproducción de las bacterias (Arratea y Mamani, 2017).

Halo de inhibición: zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen, se mide la potencia del antibiótico frente al germen (Arratea y Mamani, 2017).

Operacionalización de las variables

Las variables se operacionalizarán con el fin de medirlas. En tal sentido, Palella y Martins, (2006) han referido que las variables son conceptos abstractos y de esta manera no se pueden medir. Al respecto, es necesario, para medirlas, transformarlas en empíricas. Por eso, se definen y categorizan para identificar el indicador específico.

Se operacionalizó la variable dependiente como: *actividad antibacteriana de los extractos de Solanum hirtum*, (Tabla 2) y la variable independiente: *composición química de los frutos de Solanum hirtum*. (Tabla 3).

Tabla 1. Operacionalización de la variable dependiente actividad antibacteriana de los extractos de *Solanum hirtum*

1. Variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual
Actividad antibacteriana de los extractos de <i>Solanum hirtum</i>	Dependiente discreta	Se refiere a una serie de acciones que una determinada sustancia o medicamento puede ejercer en contra de las bacterias. (Pedraza y Castellanos, 2009).
4. Definición Operacional	5. Dimensiones	6. Indicadores
La actividad antibacteriana se puede medir a través del método de difusión en agar (Kirby-Bauer).	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sensible ▪ Resistente 	Halo de inhibición en milímetros (mm)

Fuente: Garrido y Pérez, 2022.

Tabla 2. Operacionalización de la variable Independiente composición química de los frutos de *Solanum hirtum*

1. Variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual
Composición química de los frutos de <i>Solanum hirtum</i>	Independiente cualitativa	Metabolitos secundarios presentes en un extracto (Marcano y Hasewaga, 2000)
4. Definición Operacional	5. Dimensiones	6. Indicadores
Las fracciones de metabolitos secundarios presentes en el extracto se pueden medir a través de pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación.	*Alcaloides *Fenoles *Flavonoides *Triterpenos y/o esteroides *Cumarinas *Saponinas *Quinonas *Taninos	*Aparición de turbidez y un precipitado *Coloración que varía de verde azul. *Coloración naranja o violeta. *Coloración roja o verde. *Fluorescencia azul-violeta *Espuma persistente *Coloración Rojo cereza *Precipitado

Fuente: Garrido y Pérez, 2022.

Hipótesis

Estudios previos indican que las especies del género *Solanum* poseen actividad farmacológica atribuida a diversos productos naturales que biosintetizan (alcaloides, flavonoides, saponinas), en tal sentido, se espera que los extractos de los frutos de *Solanum hirtum* posean metabolitos secundarios similares con actividad antibacteriana.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Según Hurtado (2010), los tipos de investigación pueden ser: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. Particularmente, la investigación de tipo confirmatoria se lleva a cabo cuando ya existen investigaciones previas de carácter exploratorio, descriptivo y explicativo, y a la vez, se puede predecir el efecto a partir de la causa o inferir la causa a partir del efecto. Por lo tanto, esta investigación es de tipo confirmatorio, ya que se estableció la relación de causa-efecto entre los componentes químicos de los extractos de *Solanum hirtum* y su actividad antibacteriana.

Diseño de la Investigación

Según Hurtado (2010), el diseño de la investigación se refiere a las estrategias que se implementarán para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber. En ese sentido, el diseño de la presente investigación es de tipo experimental, porque la especie vegetal fue sometida a determinadas condiciones, estímulos o tratamientos, para observar los efectos o reacciones que se producían en la variable dependiente. El diseño de investigación experimental es netamente explicativo, por cuanto su propósito es demostrar que los cambios en la variable dependiente fueron causados por la variable independiente. Es decir, se pretende establecer con precisión una relación causa-efecto; este estudio se realizó en un lapso de tiempo determinado, por

lo tanto, es un tipo de diseño de investigación transversal, porque los datos se recolectan en un solo momento y en un tiempo único (Hernández, Fernández y Baptista, 2010).

Población y muestra

Unidad de Investigación

La población definida por Hernández, Fernández y Baptista (2010), como el conjunto de todos los casos que concuerdan con determinadas especificaciones. Y la muestra, como un subgrupo de la población que debe ser representativo de ésta, del cual se recolectan los datos. La unidad de investigación estará representada por la especie *Solanum hirtum*, perteneciente a la familia Solanaceae.

Selección del tamaño de la muestra

La “n” muestral estará representada por 300 g de los frutos de *Solanum hirtum* proveniente del Estado Trujillo. El tipo de muestra utilizada será no probabilística, respecto a que las elecciones de los elementos no dependen de la probabilidad, sino de causas relacionadas con las características de la investigación o de quien hace la muestra (Hernández, Fernández y Baptista, 2010).

Sistema de variables

Mediante el proceso de Operacionalización de las Variables, se visualizan las propiedades del objeto que no son cuantificables directamente, son llevadas a expresiones más concretas y directamente medibles (Hurtado, 2010). Según su función las variables estudiadas en la presente investigación se clasifican en:

Variable Dependiente: Actividad antibacteriana de los extractos de *S. hirtum* (Tabla 2.)

Variable Independiente: Composición Química de los frutos de *S. hirtum* (Tabla 3.)

Instrumento de recolección de datos

Referente a los instrumentos de recolección de datos, Ramírez (2007) lo define como, “un dispositivo de sustrato material que sirve para registrar los datos obtenidos por medio de diferentes fuentes”. En virtud del estudio, como instrumento de recolección de datos se utilizaron esquemas, fotografías y tablas donde se registraron los resultados de la composición química y actividad antibacteriana de los extractos estudiados.

Procedimientos de la Investigación

A continuación, se presenta detalladamente el procedimiento general que se llevó a cabo en la presente investigación (Figura 6):

- **Recolección del material vegetal**

Los frutos de la especie *Solanum hirtum* fueron recolectados en el sector Quebrada de Cuevas, Municipio Urdaneta del Estado Trujillo. Un voucher de esta planta fue llevado al Herbario de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes para su identificación.

- **Extracción y preparación del extracto vegetal**

Para la extracción del material vegetal, los frutos fueron separados de la planta tomando aproximadamente 300 g, la cual fue secada a temperatura ambiente durante varios días. Posteriormente, se procedió a triturar los frutos en un mortero para luego preparar el extracto metanólico por maceración, durante 48 horas a temperatura

ambiente y separarlo mediante la técnica cromatografía al vacío, utilizando 10 gramos del extracto metanólico en la columna, con tres solventes orgánicos de polaridad creciente: hexano (apolar), diclorometano (polaridad intermedia), metanol (polar). Se obtuvieron soluciones provenientes de cada separación, las cuales se filtraron y se concentraron en un rotavapor a presión reducida a una temperatura no mayor a 45 °C (Tabla 4).

Tabla 3. Cantidad obtenida en gramos de las fracciones del extracto metanólico de la especie *S. hirtum*

Fracciones	Peso (g)
Hexano	0,27
Diclorometano	0,24
Metanol	5,0

- **Tamizaje fitoquímico**

Para determinar la presencia de metabolitos secundarios en los extractos de *Solanum hirtum*, se efectuaron una serie de pruebas químicas cualitativas:

Ensayo de Liebermann-Burchard (Terpenos y/o Esteroides)

Se disolvieron 2 fracciones en 0,5 mL de solución diclorometano anhidro. Se añadieron 0,5 mL de anhídrido acético. Luego se añadió cuidadosamente por la pared del tubo una gota de ácido sulfúrico concentrado. Se consideró positiva la prueba

cuando aparecieron coloraciones rojas, verdes o azuladas (Marcano y Hasegawa, 2002).

Ensayo de Shinoda (Flavonoides)

En esta prueba se tomó 1 mL de solución en un tubo de ensayo, se le agregaron algunas virutas de magnesio (Mg), y se sujetó el tubo con una pinza. Se añadieron cuidadosamente por la pared del tubo unas gotas de ácido clorhídrico (HCl) concentrado. La aparición de coloraciones naranja o violeta, se consideró como prueba positiva (Marcano y Hasegawa, 2002).

Ensayo Dragendorff, Wagner y Mayer (alcaloides)

En un tubo de ensayo se colocó una mínima porción de la fracción metanólica y se le adicionaron 10 mL de HCl 10 %, se colocaron en baño de maría hasta ebullición por 15 minutos. Se filtró y el filtrado se distribuyó en 2 tubos de ensayo. Se adicionó a cada tubo gotas del reactivo correspondiente (Dragendorff y Mayer). La aparición de turbidez y un precipitado indicó la positividad de la prueba (Marcano y Hasegawa, 2002).

Ensayo de FeCl₃ (taninos y fenoles)

Los compuestos fenólicos se detectan por la coloración (verde, azul o negra) que producen en presencia de una solución de cloruro férrico al 1 %. Para ello el extracto total es evaporado a sequedad y retomado en agua y filtrado antes de la reacción con Cloruro férrico. Si los fenoles están presentes producen una coloración marrón y si al tratar el crudo con solución al 1 % de gelatina en NaCl al 1 %, se produce una precipitación, el crudo contiene taninos. La prueba dio positivo para fenoles y negativo para taninos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Hidróxido de amonio concentrado (cumarinas)

Se concentró una porción de los extractos y se le adicionó 0,5 mL de etanol y 2 gotas de hidróxido de amonio concentrado, observar bajo la luz ultravioleta a 365 nm. Se consideró negativa la prueba al no presentar una fluorescencia azul-violeta (Marcano y Hasegawa, 2002).

Hidróxido de amonio concentrado (Quinonas)

Se toman 5 mL del filtrado y se le adiciona 3 mL de H₂SO₄ al (10 %) La aparición de un color rojo cereza en la capa acuosa indica presencia de quinonas en la muestra. Resultado negativo para quinonas (Marcano y Hasegawa, 2002).

Prueba de altura y estabilidad de espuma (saponinas)

Se colocó en un tubo una pequeña cantidad de las fracciones de metanol y se le adicionó 1 mL de agua. Se agitó vigorosamente durante un minuto. La prueba será positiva si hay prevalencia de espuma durante más de 5 minutos. El resultado fue negativo (Marcano y Hasegawa, 2002).

Determinación de la actividad antibacteriana por el método de Difusión de Agar en Disco (Kirby – Bauer).

Prueba de Susceptibilidad Antibacteriana.

Para evaluar la actividad antibacteriana se empleó la técnica de difusión en agar con disco llamada también método de Kirby- Bauer, prueba que permite medir la susceptibilidad *in vitro* de microorganismos patógenos y fitopatógenos frente a una sustancia o a la mezcla de varias sustancias desconocidas de origen vegetal con potencial antimicrobiano. Se emplearon bacterias de referencia internacional: *Staphylococcus aureus* (ATCC 27922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357) y

Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853). Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Actinomicetos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo la asesoría de la Profesora Yndra Cordero de Rojas.

Método de Difusión en Agar con Discos.

Preparación de las Placas: Se depositaron aproximadamente 20 mL de agar Müeller-Hinton (HIMEDIA®) en placas de Petri (CLSI, 2014), suplementado con 2 % p/v de glucosa y azul de metileno (0,05 µg/mL) (NCLS, 2004). Luego las placas se dejaron solidificar a temperatura ambiente y se conservaron a 4 °C hasta su uso.

Preparación de los Discos: Se emplearon discos de papel de filtro de 2 mm de grosor por 6 mm diámetro, los cuales se organizaron en una placa de Petri y se esterilizaron con luz ultravioleta (LUV), durante toda la noche previa al ensayo. Posteriormente fueron impregnados con 10 µL de cada extracto en una concentración de 1000 µg/mL por separado y de igual modo se impregnaron discos con el solvente utilizado dimetil-sulfóxido (DMSO), como control negativo y disco de antibióticos comercial como control positivo.

Preparación del Inóculo Microbiano: Cada inóculo bacteriano se preparó en solución salina fisiológica (SSF) estéril (0,85 % p/v NaCl), a partir de un cultivo fresco de cada cepa bacteriana repicada en caldo Müeller-Hinton, hasta que se logró una turbidez correspondiente al patrón de McFarland N° 0,5 (1×10^6 - 8×10^8 UFC/mL, UFC: unidades formadoras de colonias).

Inoculación: Una vez preparado el inóculo de cada microorganismo, se sembró en la superficie del agar con un hisopo estéril. Se colocaron los discos de papel de filtro, previamente impregnados con los extractos y con el control negativo utilizando (dimetil-sulfóxido) DMSO sobre la superficie del agar inoculado. También se colocó el disco estándar del antibiótico de referencia como control positivo (tabla 5).

Tabla 4. Antibióticos de referencia según la bacteria

Bacterias	Compuesto de referencia
<i>S. aureus</i> ATCC 27922	Eritromicina 15 µg
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	Ampicilina 10 µg
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Piperacilina 100 µg
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357	Piperacilina 100 µg
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Piperacilina 100 µg

www.bdigital.ula.ve

Incubación: Después de haber colocado los discos en las placas con agar Müeller-Hinton éstas se dejaron a temperatura ambiente por 30 minutos (Preincubación); luego se incubó a 37 °C por 24 horas en posición invertida, en atmósfera aeróbica. Durante dicho tiempo las cepas inoculadas bacterias adquieren los nutrientes necesarios para su crecimiento, específicamente cuando alcanzan su fase exponencial o de multiplicación en la curva de crecimiento bacteriano.

Lectura de los Ensayos: Se realizó la lectura de los halos de inhibición a las 24 horas. La medición de los diámetros de inhibición alrededor de los discos impregnados con los extractos, es producto de la acción antibacteriana y se expresaron en milímetros.

Figura 7. Procedimiento general empleado para la investigación



Diseño de análisis

Los resultados de esta línea de investigación fueron analizados a través de un modelo cualitativo y cuantitativo, es decir, un diseño flexible, que no aplica un manejo estadístico riguroso. Se consideró la recolección de datos para establecer la relación causa-efecto entre la composición química y la actividad antibacteriana de los frutos *Solanum hirtum*. Al respecto Hernández, Fernández y Baptista (2010) afirman que el diseño de análisis “es un plan o estrategia para obtener la información

que se requiere en una investigación, con el propósito de responder a las preguntas de investigación y cumplir con los objetivos del estudio.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

Estudio fitoquímico

Los datos recolectados en el análisis fitoquímico de los extractos obtenidos de los frutos de *Solanum hirtum*, fueron sistematizados en tablas e interpretados a través de los criterios relacionados con el fundamento de las pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación, que determinaron la presencia de ciertos metabolitos secundarios.

Estos análisis revelaron, en las fracciones diclorometano y metanol la presencia de esteroides y compuestos fenólicos mientras que en la fracción metanólica se determinó adicionalmente, flavonoides y alcaloides. Así mismo la ausencia de triterpenos, saponinas y taninos en ambos extractos (Tabla 6 y figura 8).

Nota: no se realizaron las pruebas con la fracción de hexano porque el rendimiento fue muy bajo.

Tabla 5. Caracterización fitoquímica de las fracciones de <i>S. hirtum</i>.					
Metabolitos secundarios	Reacción	Evidencia	FHSH	FDSH	FMSH
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann – Burchard	Verde oscuro	N/D	++	++
Compuestos fenólicos	Cloruro Férrico (FeCl ₃)	Verde oscuro o naranja	N/D	+	+
Flavonoides	Shinoda	Rojo	N/D	-	+
Cumarinas	Hidróxido de Amonio [] (NH ₄ OH)	Fluorescencia	N/D	N/D	-
Antraquinonas	(NH ₄ OH) []	Rojo	N/D	N/D	-
Quinonas	H ₂ SO ₄ []	Rojo	N/D	N/D	-
Alcaloides	Dragendorf	P. Rojo	N/D	N/D	+
	Wagner	P. Blanco	N/D	N/D	+
Saponinas	Espuma	Espuma persistente	N/D	N/D	-
Taninos	Gelatina	Precipitado	N/D	N/D	-

Leyenda: (+) Presencia (++) Abundante (-) Ausente. **N/D:** no determinado

FHSH: Fracción de hexano *Solanum hirtum*.

FDSH: Fracción de diclorometano *Solanum hirtum*.

FMSH: Fracción de metanol *Solanum hirtum*.

Figura 8. Caracterización fitoquímica de las fracciones de *S. hirtum*

• **Determinación de triterpenos y/o esteroides: Liebermann – Burchard**

Diclorometano (++)

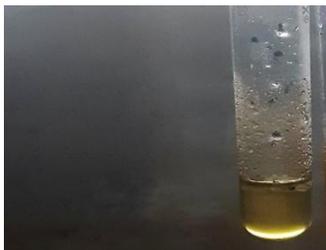


Metanol (++)



• **Compuestos fenólicos: Cloruro Férrico (FeCl₃)**

Diclorometano (+)



Metanol (+)

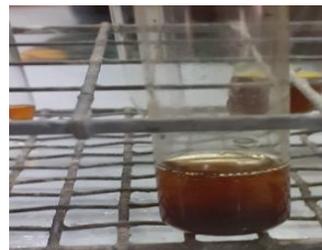
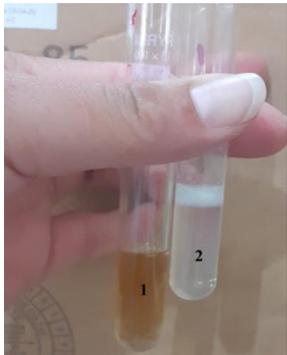


Figura 8. Caracterización fitoquímica de los diferentes extractos de <i>S. hirtum</i>	
<ul style="list-style-type: none"> Flavonoides: Ensayo de Shinoda 	<ul style="list-style-type: none"> Alcaloides: Dragendorff
<p>Metanol (+)</p> 	<p>Metanol (+)</p> 
<ul style="list-style-type: none"> Saponinas: Espuma 	<ul style="list-style-type: none"> Taninos: Gelatina 1% <p>1. Extracto / 2. Control positivo</p>
<p>Metanol (-)</p> 	<p>Metanol (-)</p> 

Actividad antibacteriana

Se determinó la actividad antibacteriana de las fracciones obtenidas de los frutos de *Solanum hirtum* frente a bacterias grampositivas (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) y gramnegativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*) mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), interpretando los resultados por medio del halo de inhibición del crecimiento bacteriano a una concentración de 1000 ppm.

Las fracciones (diclorometano y metanol) fueron activas frente a *K. pneumoniae* **(B)**, *P. aeruginosa* **(C)** y *S. aureus* **(D)** presentaron un halo de inhibición del crecimiento bacteriano entre 7 y 9 mm. Respecto a la cepa de *E. coli*, **(A)** se evidenció que ninguno de los extractos ensayados fue activo, pero se percibe que la muestra de control positivo (piperacilina) si tuvo actividad. Igualmente, en la capa de *E. faecalis* no se observó inhibición del crecimiento bacteriano debido a que la cepa no creció (Tabla 7 y figura 9).

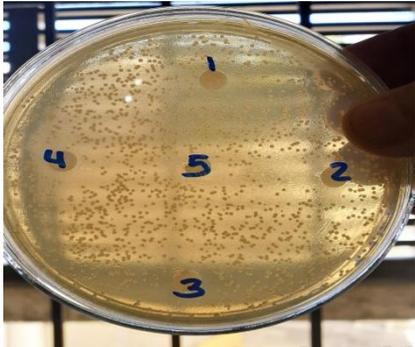
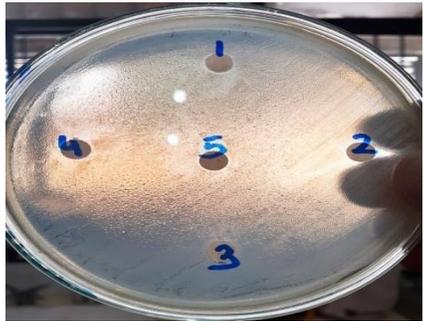
Tabla 6. Actividad antibacteriana obtenida de las fracciones de *Solanum hirtum* en cepas grampositivas y gramnegativas según diámetro de la zona de inhibición

Medición del halo en milímetros (mm)				
Bacterias	Fracción	Fracción	Control positivo/Halo de inhibición	
	Diclorometano	Metanol		
<i>E. coli</i>	0	0	Piperacilina 100 µg	21
<i>K. pneumoniae</i>	9	0	Piperacilina 100 µg	18
<i>P. aeruginosa</i>	0	7	Piperacilina 100 µg	32
<i>S. aureus</i>	7	8	Eritromicina 15 µg	26
<i>E. faecalis</i>	—	—	Ampicilina 10µg	—

Leyenda: __ no hubo crecimiento

Fuente: Garrido y Pérez, 2022.

Figura 9. Actividad antibacteriana obtenida de las fracciones de *S. hirtum* en cepas grampositivas y gramnegativas

<p style="text-align: center;"><u><i>Escherichia coli</i></u></p> <p>3. Diclorometano: 0 mm</p> <p>4. Metanol: 0 mm</p>  <p style="text-align: center;">A</p>	<p style="text-align: center;"><u><i>Klebsiella pneumoniae</i></u></p> <p>3. Diclorometano: 9 mm</p> <p>4. Metanol: 0 mm</p>  <p style="text-align: center;">B</p>
<p style="text-align: center;"><u><i>Pseudomonas aeruginosa</i></u></p> <p>3. Diclorometano: 0 mm</p> <p>4. Metanol: 7 mm</p>  <p style="text-align: center;">C</p>	<p style="text-align: center;"><u><i>Staphylococcus aureus</i></u></p> <p>3. Diclorometano: 7 mm</p> <p>4. Metanol: 8 mm</p>  <p style="text-align: center;">D</p>

Fuente: Garrido y Pérez, 2022.

Discusiones

Tras describir y analizar los diferentes resultados obtenidos con la aplicación de esta investigación, se pretendió confirmar la relación entre la composición química de los frutos de *Solanum hirtum* y su posible actividad antibacteriana. Cabe destacar, que en la literatura consultada no refieren estudios sobre acción antibacteriana de esta planta, lo que llevo a realizar comparaciones con estudios en otras especies del género *Solanum*, siendo este es el primer reporte de la composición química de *Solanum hirtum* en Venezuela. Para ello se realizó el siguiente análisis:

El presente estudio reveló la presencia de esteroides, compuestos fenólicos, alcaloides y flavonoides (tabla 6). Estos resultados se corresponden con similares obtenidos en investigaciones previas del género *Solanum*, donde muestran que los extractos de varias especies contienen dichos metabolitos, tal es el caso de Kalita y cols (2017), Cañón y Menco (2018), quienes además reportan la presencia de taninos, saponinas, glucósidos cardiotónicos, cumarinas y quinonas en *S. torvum*, y *S. crinitipes*.

La importancia de este hallazgo radica en que las diversas propiedades biológicas reportadas para *Solanum* derivan de la presencia de esteroides, alcaloides y flavonoides que le proporcionan a la especie *S. hirtum* ciertas características medicinales los cuales pueden ser candidatos a estudios y tener el potencial de ser utilizados en el tratamiento de enfermedades infecciosas contra diversas bacterias (grampositivas y gramnegativas).

Respecto a la actividad antibacteriana de las fracciones (diclorometano y metanol) de los frutos de *S. hirtum* mostraron actividad inhibitoria contra *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, comprobado por el método de difusión en agar con disco (Kirby-Bauer). Estos resultados concuerdan con lo publicado por Akanmu y cols (2019), quienes reportaron actividad en extractos acuosos y metanólicos en las hojas de *Solanum incanum* contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*, utilizando tanto el método de difusión en agar en pozos como el de

microdilución mostrando que la mayor actividad antibacteriana se presentó para extractos acuosos con una CIM= 2,62 mg/mL y en el de metanol CIM=7,50 mg/mL.

En los estudios realizados por Ramírez y cols (2017), lograron inhibir el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* mediante el método Kirby-Bauer y la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) cuyos resultados obtenidos confirman el uso tradicional del *S. dolichosepalum* como antibacteriana.

En cuanto a *E. coli*, los resultados mostraron que ninguno de los dos extractos genero inhibición en la cepa ATCC. Posiblemente se debe a que los componentes de las fracciones que son de polaridad intermedia (diclorometano) y polares (metanol) hayan quedado retenidos en el papel de filtro de los discos usados para determinar la actividad antibacteriana, debido a que estos contienen celulosa haciendo que la superficie del disco sea hidrofílica, con lo que intervienen en algunos compuestos del extracto natural e impide la difusión de estos en el agar y hacen que los halos de inhibición sean pequeños o nulos (Camere, 2015), lo cual es una desventaja de este método.

Este hallazgo difiere de lo reportado por otros autores, quienes indican que las fracciones metanólicas, en especies del *Solanum* tienen efecto contra *E. coli* (Sbhatu y Abraha (2020). A diferencia de lo señalado por Mazher y cols (2016), quienes realizaron un ensayo fitoquímico y antibacteriano de extractos de frutas, hojas y tallos de *Solanum nigrum* L, en diferentes solventes, y concluyeron que los extractos no poseen una posible acción antibacteriana.

Estos datos evidencian que los resultados obtenidos dependen de los métodos utilizados, por ello se sugiere realizar la actividad antibacteriana con el método de difusión en pozo (perforación en gel de agar) ya que el extracto tiene contacto directo con el agar por lo que es una técnica con mayor sensibilidad (Camere, 2015). En el artículo descrito por Cruz-Carrillo, Rodríguez y Rodríguez, 2010 compararon ambas técnicas con diversos extractos naturales y concluyeron que en la prueba de difusión

en pozo los extractos exhibieron un mejor desempeño con relación a la difusión en disco.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

1. Se determinó la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de los frutos de *Solanum hirtum* mediante análisis fitoquímico cualitativo y el método de difusión en disco (Kirby- Bauer).
2. Del análisis fitoquímico preliminar, se obtuvo respuesta positiva para algunos metabolitos secundarios, se comprobó la presencia de esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides en la fracción diclorometano y metanol.
3. Los resultados de la actividad antibacteriana de las fracciones diclorometano y metanol mostraron actividad frente a *K. pneumoniae*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* a una concentración de 1000 ppm, los halos de inhibición del crecimiento bacteriano variaron entre 7 y 9 mm.
4. Por los resultados alcanzados se puede afirmar que los frutos de *S. hirtum* tiene potencial antibacteriano y puede representar una alternativa para uso medicinal.

Esta investigación constituye el primer análisis fitoquímico y de actividad antibacteriana de los frutos de *S. hirtum* en Venezuela, constituyendo un aporte al conocimiento de la composición química y actividad biológica del género *Solanum*.

Recomendaciones

- Dada la poca disponibilidad de trabajos previos sobre el evento de estudio de esta investigación, la autora recomienda compartir estos resultados con grupos de investigación que desarrollan líneas relacionadas con la actividad antibacteriana.
- Se sugiere continuar evaluando las plantas medicinales en busca de aquellas con actividad antibacteriana y, posteriormente, identificar y aislar los metabolitos secundarios causantes de tal efecto.
- Se recomienda realizar estos ensayos con microdiluciones en tubo para observar si hay actividad con menores concentraciones o se mantienen los mismos resultados a los obtenidos en difusión por agar

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, L. (2005). First record on the use of *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) and fruits of *Emmotum nitens* (Icacinaceae) by *Platyrrhinus lineatus* (E. Geoffroy) (Chiroptera, Phyllostomidae) in the Brazilian Cerrado. *Revista Brasileira de Zoología* 22 (2), 509-510. doi.org/10.1590/S0101-81752005000200030.
- Akanmu A, Baima Y, Balogun S y Musa S. (2019). Antibacterial activities of aqueous and methanol leaf extracts of *Solanum incanum* Linn. (Solanaceae) against multi-drug resistant bacterial isolates. *African Journal of Microbiology Research*. 13 (4): 70-76. <https://doi.org/10.5897/AJMR2018.8969>
- Alarcón L, Usubillaga A, Peña A, Pérez A, Aparicio R y Rojas L. (2013). Tamizaje Fitoquímico Preliminar de las hojas, tallos, frutos y raíces de *Solanum capsicoides* (Solanaceae). En C. Moreno (Presidencia), Fitoquímica. Simposio llevado a cabo en el XXII Congreso Italo-Latinamericano de Etnomedicina. Costa Rica.
- Ancco, L. (2003). Distribución de las Solanáceas en la Provincia de Jorge Basadre Grohmann (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Jorge Basadre, Tacna, Perú.
- Ancona J, Valencia M, García M, Chin G y Luna M. (2015). Evaluación de los Metabolitos del Tomatillo (*Solanum hirtum*) para uso medicinal. (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma de Guadalajara, México.
- Arratea B y Mamani Y. (2017). Actividad antibacteriana del extracto acuoso *Solanum tuberosum* (papa fermentada) y aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo), Frente a cepa *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro. (Tesis de pregrado). Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Bellavista, Perú.

- Beaman V y Muhammed S. (1976). Antibiotic Action of *Solanum incanum* Linnaeus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 9 (6): 920-924.
- Bentham G. (1832-1836). *Labiatarum Genera et. Species*. Journals Ridgway & sons. 10 (1).
- Bonatti A. (1991). Formulation of plant extracts into dosage form. En R. O. B. Wijesekera (Ed.), *the Medicinal Plant Industry* (pp. 106-107). London: CRC Press.
- Cadavid I. (2013). Tipificación molecular y separación de especies de plantas del subgénero *Leptostemonum* (*Solanaceae: Solanum*), usando regiones barcode. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Camere R. (2015). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de semilla y pulpa de la *Myrciaria dubia* (*Camu Camu*) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556). (Tesis doctoral). Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Lima, Perú.
- Cañón T y Menco M. (2018). Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Solanum crinitipes Dunal* (*Solanaceae*) y evaluación de uso como agente antimicrobiano. (Tesis de pregrado). Universidad de Ciencias Aplicada y ambiental (U.D.C.A), Bogotá, Colombia.
- Cardona J. (2011). Estudio de metabolitos fijos y volátiles en tres morfotipos de COCONA (*Solanum sessiliflorum Dunal*) procedentes del departamento del Guaviare. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Carranza D y Huayanay J. (2009). Determinación de metabolitos secundarios del tallo de *Croton alnifolius* L. (*Tunga*). (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

- Chamba V, Calero J, Torres J y Moscol G. (2018). La resistencia antimicrobiana: situación actual. *Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento*. 3 (2): 307-323.
- Chang L, García A, Rosalbal Y, Espinosa A y Ramos M. (2013). Caracterización Fitoquímica y la Evaluación de la Actividad Antibacteriana *in vitro* de los Extractos de Hojas y Tallos de *Solanum nigrum* L que crece en Cuba. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéutica*. 44 (4): 31.
- Cornelius M, Carvalho M, da Silva T, Alves C, Siston A, Alves K, Neto M, Eberlin M y Filho R. (2010). Other chemical constituents isolated from *Solanum Crinitum* Lam (Solanaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 21 (12): 2211-2019. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010001200007>
- Corzo A. (2019). Técnicas de Análisis de Química Orgánica: Cromatografía. Recuperado de <https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf>.
- Coy C, Cuca C y Orozco C. (2006). Un nuevo Alcaloide Esteroidal, dos Esteroles y un Triterpeno Pentacíclico de *Solanum cornifolium*, Sección Geminata. *Revista Actualidades Biológicas*. 27 (1): 131-134.
- Cruz-Carrillo A, Rodríguez N, Rodríguez C. (2010). Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos *Biden pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. *Revista U.D.C.A*; 20 (2): 145-5.
- Domingo D y López-Brea M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*. 16 (4): 385-393.
- Domínguez A, Puente E, Pérez I y Salas H. (2012). *Solanum torvum* Toxicidad sobre microorganismos y células espermáticas. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 50 (4): 363-370.
- Flechas H, Sánchez L y Silva J. (2008). Tamizaje fitoquímico y Cálculo de rendimiento de Sapogeninas Esteroidales de tres procedencias de *Solanum*

- quitoense* Var. *Septentrionale* “naranjillo”. Revista Colombia Forestal. 11 (1):203.
- García, J, Cantón R, García J, Gómez M, Martínez L, Rodríguez C y Vila J. (2000). Procedimientos en microbiología clínica. España: Picazo.
- González, J. y Calvo, A. (2005). El despertar de la era antibiótica. Revista Española Quimioterapia. 18 (1): 1-3.
- Guano G. (2015). Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) en lesión, inducida en ratones (*Mus musculus*). (Tesis de pregrado). Escuela Politécnica Superior de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Gutiérrez A y Estévez A. (2009). Relevancia de los Productos Naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el siglo XXI. Revista Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.103 (2): 409- 420.
- Harborne A. (1998). Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. Recuperado de https://books.google.co.ve/books/about/Phytochemical_Methods_A_Guide_to_Modern.html?id=vCWHUU6iobwC&redir_esc=y
- Hernández A y Hermosilla V. (2014). Efecto de la concentración de saponinas en la actividad hemolítica de extractos de ocho plantas de uso medicinal en Guatemala. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Hernández C, Martínez C, Fiallo V, Souza P y Oglio E. (2016). O-23 Metil solanocapsina, un nuevo alcaloide esteroidal del *Solanum seaforthianum* Andr. Revista Cubana de Química. 28 (1): 890-901.
- Hernández R, Fernández C y Baptista P. (2010). Metodología de la investigación. México: McGraw-Hill.

- Hidalgo D, Moreno J, Mosquera A, Jiménez A y Martínez J. (2013). Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos hexánicos de las inflorescencias de palmas comestibles de la Sierra de Tabasco. *Revista Polibotánica*. 35: 133-142.
- Hurtado H. (2010). El proyecto de investigación, Comprensión Holística de la Metodología y la Investigación. Caracas, Venezuela: Quirón-Sypal.
- Jackson L, Castillo A, Lores O, Hernández J, Zapata E, Salas H, Díaz N y Tasse Y. (2010). Toxicidad a dosis repetida de la decocción de *Solanum torvum* Sw. (prendejera) en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 15 (2): 51-59.
- Kalita L, Dash B, Borah U, Deka J y Dash S. (2017). Preliminary phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity Ethanolic Extracts of Dried Fruits of *Solanum torvum* (Family-Solanaceae). *International Journal of Current Pharmaceutical Research* 9 (3): 123-126. doi: <http://dx.doi.org/10.22159/ijcpr.2017v9i3.19982>.
- Lastres M y Benítez C. (2014). Taxonomía de *Solanum* L. sección *Crinitum* (Whalen) Child (Solanaceae) en Venezuela. *Revista ERNSTIA*. 24 (1): 1-23.
- López V, Escalona O, Pelayo C, Salazar J, Hernández J, Rivera F, Villegas O, Tejalca I, Pérez L y Díaz F. (2014). Carotenoides, capacidad antioxidante y compuestos volátiles del aroma durante la maduración del jitomate. *Revista Internacional de Botánica Experimental* 83: 185-192.
- Luque C y Priego C. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography*. 1217 (16): 2383-2389. <http://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>
- Magaña A y Burelo C. (2010). Uso medicinal de la familia Solanaceae en tabasco. *Revista de divulgación científica Kuxulkab'*. 16 (30): 33-36
- Marcano D y Hasegawa M. (2002) *Fitoquímica Orgánica*. Caracas, Venezuela: Torino.

- Mazher M, Malik N, Riaz M, Hussain A, Ali Y y Noshad Q. (2016). Ensayo fitoquímico y antibacteriano de extractos de frutas, hojas y tallos de *Solanum nigrum* L, en diferentes solventes. Revista Internacional de Biociencias. 9 (6): 129-136. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/9.6.129-136>
- Méndez J. (2016). Obtención de saponinas de los frutos del *Solanum marginatum* y análisis de sus propiedades como surfactante. (Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito.
- Montoya C. (2017). Aspectos Bioquímicos y bioactivos de catorce accesos de tomate (*Solanum lycopersicum* L) conservados en el banco portugués de germoplasma vegetal. (Tesis de maestría). Instituto Politécnico de Braganca.
- Moreno C, Gonzales R y Beltrán C. (2009). Mecanismos de Resistencia Antimicrobiana en Patógenos Respiratorios. Revista de otorrinolaringología y cirugía de Cabeza y Cuello. 69 (2): 185-192. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-48162009000200014>
- Moreno G, Andrade C, Concellon M y Díaz A. (2013). Estudio de la Capacidad Antioxidante durante el Almacenamiento Refrigerado de Naranja (*Solanum quitoense*) tratada con Radiación UV-C. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 14 (2): 125-132.
- Murray, P. (2018). Microbiología Médica Básica. Barcelona, España: Elsevier.
- Navarrete X. (2017). Evaluación de la infestación de cinco especies de Solanáceas al parasitismo del nematodo del nudo de la nariz *meloidogyne* incógnita y el contenido de alcaloides en frutos de tomate de árbol y naranjilla injertados en estas especies. (Tesis de maestría). Universidad de las Fuerzas Armadas Innovación para la excelencia, Sangolqui, Ecuador.
- Ncube N, Afolayan A y Okoh A. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future

- trends. *Journal of Biotechnology*, 7 (12): 1797-1806. Doi: [10.5897/AJB07.613](https://doi.org/10.5897/AJB07.613).
- Niño J, Correa M, Cardona D y Mosquera M. (2011). Antioxidant and antitopoisomerase activities in plant extracts of some Colombian flora from La Marcada Natural Regional Park. *Revista de Biología Tropical*. 59 (3): 1089–1097.
- Ordoñez C, Gómez M, Ordoñez M y Lagos T. (2012). Evaluación de un Sistema de Propagación Vegetativa mediante esquejes en Lulo Silvestre *Solanum hirtum* Vahl, *S. marginatum* L, *S. sessilitorum* Dun, *S. mamosum* L y *S. umbellatum* Mill. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 29 (1): 29-41.
- Organización Mundial de la Salud. (2017). Resistencia a los Antimicrobianos. Recuperado de <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/es/>
- Orozco C, Beltrán G, Porras N y Nee M. (2008). Listado de especies espinosas de *Solanum* L (Leptostemonum, Solanaceae). *Revista Biota Colombiana*. 9 (2): 239- 249.
- Parella S y Martins F. (2006). La investigación cuantitativa, las variables. En *Metodología Cuantitativa*. Caracas, Venezuela: FEDUPEL
- Pedraza P y Castellano H. (2009). Estudio Comparativo de la Actividad Antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibiótico y administración intravenosa a través de métodos in vitro. (Tesis de pregrado) Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Perdomo L. (2017). Estudio químico de los alcaloides presentes en las hojas de YERBAMORA (*Solanum nigrum* L). Originaria de los municipios de Pasto y Chachagui. (Tesis de pregrado). Universidad de Nariño San Juan de Pasto.
- Prelog V. (1960). *Steroid alkaloids*. New York: Press
- Quiñonez, D. (2017). Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque "Una salud". *Revista Cubana de Medicina Tropical*.

Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602017000300009

Ramírez A, Isaza G y Pérez J. (2013). Vegetal species studied by their antimicrobial, immunomodulatory and hypoglycemic properties in Caldas-Colombia, South America. *Revista Biosalud*, 12 (1): 59-82.

Ramírez A, Isaza G, Pérez G y Martínez M. (2017). Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antibacteriana del *Solanum dolichosepalum* Bitter (Frutillo). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962017000100008.

Ramírez T. (2007). Como hacer un Proyecto de Investigación. Caracas, Venezuela: Editorial Panapo.

Recalde M, Vayas L, Esquivel D, Pazmiño P y Gutiérrez V. (2018). Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*. 29 (4): 1543-1547. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15185>.

Ringuelet J y Viña S. (2013). Productos Naturales Vegetales. Buenos aires, Argentina: Edulp.

Rojas J. (2018). Estudio Químico de las Plantas Medicinales. Recuperado de <http://web.ula.ve/internacional/2018/04/25/estudio-quimico-de-las-plantas-medicinales-2/>.

Rojas L, Uribe L, Martínez N y Niño D. (2009) Análisis Fitoquímico Preliminar de las Hojas, Tallos y Semillas de *Cupata (Strychnos Schultesiana Krukoff)* *Revista Colombiana Forestal*. 12: 161-170.

Romaní K y Humire S. (2009). Acción antimicrobiana del própolis de *Apis mellifera* L. y de *Solanum mammosum* L (teta de vaca) contra microorganismos de la

- cavidad oral (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*). Revista Ciencia y Desarrollo. 10 (01): 13-14. DOI: <http://dx.doi.org/10.21503/>
- Saikhan M, Howard L y Miller J (1995). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Different Genotypes of Potato (*Solanum Tuberosum*, L). Journal of Food Science. 60 (2): 341-343. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb05668.x>
- Salcido M, Prieto J, León M y Pérez A. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 46 (2).
- Salinas P. (2012). Plantas tóxicas comunes en el estado Mérida, Venezuela. Tercera parte. Saxifragaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Umbelliferae (Apiaceae). *MedULA*, Revista de la Facultad de Medicina, Universidad de los Andes. 21 (2): 5-11.
- Sbhatu D y Abraha H. (2020). Preliminary Antimicrobial Profile of *Solanum incanum* L. a Common Medicinal Plant. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. [doi:10.1155/2020/3647065](https://doi.org/10.1155/2020/3647065)
- Seijo I. (2017). Plantas asesinas: las sospechosas habituales. Especial Crimen y Castigo. Recuperado de http://www.lalinternadeltraductor.org/pdf/lalinterna_n15.pdf
- Silva J. (2018). Evaluación de la actividad antibacteriana y hemoaglutinante de los extractos de *Solanum phureja*, *Tropaeolum tuberosum*, *Oxalis tuberosa* y *Ullucus tuberosus*. (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Solanaceae Source. (2012). Recuperado de <http://www.nhm.ac.uk/researchcuration/research/projects/solanaceaesource>
- Thirumalai E, Therasa S y Elumalai E. (2012). Effect of *Solanum surattense* seed on the Oxidative Potential of Cauda Epididymal Spermatozoa. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2 (1): 21-23. Doi: [10.1016/S2221-1691\(11\)60183-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60183-4).

- Tipanquiza J. (2018). Identificación in silicio de enzimas que participan en el proceso de biosíntesis de Flavonoides y su regulación en *Helianthus annuus*. (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Valdés L. (2016). Cultivo mixotrófico de la microalga *Coenochloris* spp. Con (*Solanum phureja* L) para la obtención de pigmentos (carotenoides). (Tesis de Pregrado). Universidad Politécnica Salesiana. Quito-Ecuador.
- Vargas O, Martínez M y Dávila P. (2003). La familia Solanaceae. Jalisco, México: Smithsonian Libraries.
- Vélez A y Escobar M. (2006). Diseño conceptual para la obtención de sapogeninas esteroidales del *Solanum hirtum*. (Tesis de Pregrado). Universidad EAFIT. Medellín, Colombia.
- Weese T y Bohs L. (2007). A Three-Gene Phylogeny of the genus *Solanum* (Solanaceae). *Systematic Botany*. 32 (2): 445-463. <https://doi.org/10.1600/036364407781179671>
- Zhañay M. (2012). Relación entre la actividad antioxidante, concentración de compuestos fenólicos contenidos en el fruto de pingal (*Solanum crinitipes*). (Tesis de pregrado). Escuela Superior politécnica de Chimborazo. Riobamba-Ecuador.

www.bdigital.ula.ve