



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



CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL
EXTRACTO DE LAS FLORES DE *Sambucus mexicanum*

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

Tutor(a):

Dra. Rosa L. Aparicio Z.

Bachiller:

Margaret G. Rodríguez B.

C.I: 20.047.038

Mérida, junio de 2023

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación va dedicado a Dios por su grandeza y amor infinito, a mis padres, hermanos y sobrinos, por su consejo, comprensión apoyo incondicional, durante todos estos años, pues han sido el motor que me impulsado alcanzar la meta.

www.bdigital.ula.ve

Margaret G. Rodríguez B.

AGRADECIMIENTO

El cumplimiento y alcance de un sueño lleva su tiempo, lo importante es tener la paciencia, fuerza y ganas de triunfar para lograrlo. Pues todo tiene un inicio y por lo tanto un final y la tesis no podía ser la excepción, si bien durante todos estos años habido momentos buenos y malos, obstáculos que no han sido fáciles de atravesar, en lo que no veía claro el final, el cual ahora ha llegado, es por ello que me emociona tanto poder dar gracias de la manera más sinceras y honesta a todos aquellos que de una manera u otra han compartido conmigo este largo camino, brindándome su apoyo, consejo, ánimo y mano amiga desde el día que comenzó esta historia.

A mi familia: padres, hermanos, sobrinos y cuñado por no perder su fe en mí y tener la paciencia y fortaleza que en momentos a mí me faltó.

Por supuesto a mi alma mater la ilustre Universidad de los Andes, quien ha sido mi casa durante todo este tiempo, porque a pesar de los tiempos difíciles sigue recibiendo corazones como el mío.

A mi tutora Dra. Rosa Aparicio por haberme aceptado como tesista, por su paciencia, comprensión, apoyo y consejos durante todo este proceso.

Al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”, por permitirme realizar este trabajo especial de Grado en sus instalaciones.

Por último aquellos que de alguna u otra manera colocaron con su granito de arena para la finalización y alcance de este logro.

Margaret G. Rodríguez B.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	
Planteamiento del problema	3
Justificación de la investigación	5
Objetivos de la Investigación	6
Objetivo general	6
Objetivo específico	6
Alcances y limitaciones de la investigación	7
Alcances de la Investigación	7
Limitaciones de la Investigación	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
Trabajos previos	8
Antecedentes históricos	11
Bases teóricas	13
Familia Adoxaceae	13
Género <i>Sambucus</i>	15
Metabolitos secundarios del Género <i>Sambucus</i>	16

ÍNDICE DE CONTENIDO (Continuación)

Especie <i>Sambucus mexicanum</i>	17
Composición química o metabolitos secundarios del <i>Sambucus mexicanum</i>	17
Usos etnobotánicos y actividad farmacológica y/o biológica <i>Sambucus mexicanum</i>	19
Usos tradicionales.....	19
Usos medicinales.....	20
Toxicidad del <i>Sambucus mexicanum</i>	20
Productos naturales.....	21
Metabolito secundario de los productos naturales.....	22
Biosíntesis de productos naturales.....	25
Extractos vegetales.....	26
Clasificación de los extractos vegetales.....	26
Métodos de obtención de extractos vegetales.....	27
Análisis fitoquímico.....	29
Alcaloides.....	29
Flavonoides.....	29
Taninos y Compuestos fenólicos.....	30
Quinonas.....	30
Glucósidos cardiotónicos.....	30
Saponinas.....	31
Cumarinas.....	31
Bacterias.....	31
Bacterias Gram negativas.....	32
Bacterias Gram positivas.....	32
Características generales de las bacterias.....	33
Resistencia bacteriana.....	34

ÍNDICE DE CONTENIDO (Continuación)

	Pág.
Antibióticos.....	34
Actividad antibacteriana.....	35
Técnicas para determinar la actividad antibacteriana.....	35
Definición operacional de términos.....	37
Operacionalización de las variables.....	39
Hipótesis.....	41
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	
Tipo de investigación.....	42
Diseño de la investigación.....	42
Población y Muestra.....	43
Unidad de investigación.....	43
Selección del tamaño de la muestra.....	43
Sistema de variables.....	43
Instrumento de recolección de datos.....	44
Metodología de la investigación.....	44
Recolección del material vegetal de las flores de <i>Sambucus mexicanum</i>	44
Preparación de extractos de las flores de <i>Sambucus mexicanum</i>	44
Tamizaje fitoquímico del extracto de las flores del <i>Sambucus mexicanum</i>	45
Ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner (Alcaloides).....	45
Ensayo de Liebermann-Burchard (Triterpeno y/o Esteroides).....	45
Ensayo de Shinoda (Flavonoides).....	45

ÍNDICE DE CONTENIDO (Continuación)

Ensayo con FeCl ₃ (Compuesto fenólicos).....	44
Ensayo de gelatina al 1 % (Taninos).....	46
Ensayo con hidróxido de amonio (Cumarinas).....	46
Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5 % (Quinonas).....	46
Prueba de altura y estabilidad de espuma (Saponina).....	46
Prueba de glucósidos cardiotónicos.....	46
Determinación de la actividad antibacteriana del extracto de etanol de las flores de <i>Sambucus mexicanum</i>	47
Diseño de análisis.....	49
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
Resultados.....	50
Tamizaje fitoquímico.....	50
Actividad antibacteriana.....	54
Discusión.....	56
CAPÍTULO V. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES	
Conclusión.....	59
Recomendaciones.....	60
REFERENCIA BIBLIOHEMEROGRÁFICAS.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Operacionalización de la Variable Dependiente. Actividad antibacteriana del extracto de las flores <i>Sambucus mexicanum</i>	39
Tabla 2. Operacionalización de la Variable Independiente. Composición química del extracto de las flores <i>Sambucus mexicanum</i>	40
Tabla 3. Características físicas de los extractos de hexano y etanol de las flores de <i>Sambucus mexicanum</i>	50
Tabla 4. Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de las flores de hexano y etanol de las flores <i>Sambucus mexicanum</i>	51
Tabla 5. Resultados de la actividad antibacteriana del extracto de etanol de las flores de <i>Sambucus mexicanum</i>	54

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Especie <i>Sambucus mexicanum</i>	13
Figura 2. Algunas estructuras químicas de la familia Adoxaceae.	14
Figura 3. Algunas estructuras químicas del género <i>Sambucus</i> ...	16
Figura 4. Algunas estructuras químicas de la especie <i>Sambucus mexicanum</i>	19
Figura 5. Algunas estructuras químicas de alcaloides.....	22
Figura 6. Algunas estructuras químicas de triterpenos.....	22
Figura 7. Algunas estructuras químicas saponinas.....	23
Figura 8. Algunas estructuras químicas de compuestos fenólicos.....	24
Figura 9. Algunas estructuras químicas de compuestos flavonoides.....	24
Figura 10. Algunas estructuras químicas de cumarinas.....	25
Figura 11. Bacterias Gram negativas.....	32
Figura 12. Bacterias Gram positivas.....	33
Figura 13. Tamizaje fitoquímico de los extractos de las flores de hexano y etanol del <i>Sambucus mexicanum</i>	52
Figura 14. Actividad antibacteriana del extracto de etanol de las flores de <i>Sambucus mexicanum</i>	55



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



Caracterización Química y Actividad Antibacteriana del Extracto de las Flores de *Sambucus mexicanum*

Realizado por:
Br. Margaret G. Rodríguez
C.I:20.047.038
Tutora: Dra. Rosa L. Aparicio Z.

RESUMEN

La especie *Sambucus mexicanum*, es un árbol que se encuentra en Centro América y Sur América en las zonas sub-tropicales y tropicales, perteneciente a la familia Adoxaceaea. La presente investigación tuvo como objetivo la caracterización química y actividad antibacteriana de los extractos de hexano y etanol obtenidos de las flores de *Sambucus mexicanum*. Los extractos se obtuvieron por el método de extracción en reflujo, así mismo en el tamizaje fitoquímico se les realizó a ambos extractos de las flores de *Sambucus mexicanum*, identificando en el extracto de hexano quinonas, mientras que en el extracto de etanol se observó alcaloides, triterpenos, compuestos fenólicos y flavonoides. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en agar con discos frente a microorganismos de referencia internacional (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*). El extracto de etanol de las flores de *S. mexicanus* fue evaluado a una concentración de 10 mg/mL (10000 ppm), siendo sensible *Escherichia coli* con un halo de inhibición de 7 mm. Este es el primer estudio de identificación y actividad antibacteriana del extracto de las flores de *S. mexicanum*.

Palabras claves: *Sambucus mexicanum*, Adoxaceae, Tamizaje fitoquímico, Actividad antibacteriana.

INTRODUCCIÓN

Los humanos desde el principio de los tiempos han interactuado con el medio ambiente generando conocimientos científicos sobre los beneficios de los recursos naturales. Tal que, estos conocimientos han permitido determinar en el caso de las plantas cuáles poseen un valor alimenticio o un poder curativo. Dado a ello se ha realizado investigaciones de diferentes partes de las plantas con el objetivo de aislar los componentes específicos del resto de la misma, por lo tanto, es importante la capacitación de los diversos aspectos que conllevan al manejo de las plantas medicinales, así como las técnicas para su procesamiento (Ugaz, 2003).

El género *Sambucus* de la familia Adoxaceae conocida como “sauco”, es una planta arbustiva con características botánicas, de composición química y sustancias activas que otorgan condiciones que son aprovechadas con fines medicinales, alimenticios, ornamentales y para la suplementación animal (Grajales, Botero y Ramírez, 2015). De ella se puede utilizar las diferentes partes como son frutos, hojas, flores, corteza, ya que proporcionan propiedades terapéuticas, antiséptica, cicatrizante y antiinflamatoria (Herrera y Shiary, 2019). En este sentido, es necesario realizar investigaciones con los métodos y requerimientos técnicos que la ciencia actual exige, así poder determinar los principios activos para luego aislarlos, obtenerlos y verificarlos (Domingo y López-Brea, 2003).

En los últimos años se han realizados investigaciones con el fin de encontrar nuevas terapias antimicrobianas como alternativa de los tratamiento con antibióticos conocidos, debido a la alta resistencia de los patógenos microbianos que se encuentran en todo el mundo (Koser, Ellongton, Cartwright, Brown y Farrington, 2012). Finalmente, el objetivo de esta investigación es determinar la caracterización química y evaluar la

actividad antibacteriana de los extractos de las flores de *Sambucus mexicanum*.

Este trabajo de investigación ha sido ordenado en diversos capítulos. El primero, titulado: El Problema, subtulado de la siguiente manera: Planteamiento del problema, Justificación e importancia de la investigación, Objetivos, Limitaciones y alcances. El segundo, titulado: Marco Teórico, tiene varios subtítulos: Trabajos previos, Antecedentes históricos, Bases teóricas, Definición de términos, Operacionalización de las variables. El tercero, mencionado como Marco Metodológico, fue ordenado en 7 subtítulos: Tipo de investigación, Diseño de la investigación, Población y muestra, Sistema de variables, Instrumento de recolección de datos, Metodología de investigación y Diseño de análisis. Para el cuarto se plasmaron los Resultados y discusión, y por último en el capítulo cinco, se encontrara la recomendaciones y conclusión, además de las referencias bibliohemerográficas.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

El uso de las plantas es una práctica que ha sido implementada por el hombre para identificar aquellas propiedades medicinales, las cuales han sido utilizadas por generaciones, dicha experiencia obtenida a través de los años ha logrado establecer una relación terapéutica con un padecimiento específico y de esta manera fabricar medicamentos que sirvan para la prevención, tratamiento y curación de las enfermedades (Caccia, 2005). Sin embargo, el escaso conocimiento que se tiene sobre el uso terapéutico de las plantas sobre el organismo, se ha buscado la manera de que ellas sustituyan las medicinas farmacéuticas o la combinación de ambas con la finalidad de mejorar la salud (White, Foster, Stalf y For, 2004).

La resistencia antimicrobiana es un problema de carácter mundial, que en los últimos años ha ido aumentando, debido al uso inapropiado de los antibióticos, permitiendo la multiplicación de microorganismos resistentes, lo que hace más difícil el tratamiento de las infecciones causadas por dichos microorganismo (Avellaneda y Pecho, 2001). En tal sentido, se ha generado un gran interés en el estudio de la actividad antibacteriana con extractos de plantas, con la finalidad de generar nuevas formas terapéuticas o alternativas que permitan solucionar dicho problema que surgen ante la emergencia de cepas resistentes a los antibióticos (Evagelista y Moreno, 2016).

Es por ello que se ha incrementado el estudio fitoquímico para conocer dichos compuestos y si presentan actividad antibacteriana que puedan solucionar dicho problema. De acuerdo a la información surge la siguiente

interrogante ¿Cuál es la relación entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos de las flores de *Sambucus mexicanum*?

www.bdigital.ula.ve

Justificación de la investigación

Actualmente como en la antigüedad se siguen utilizando de las plantas sus extractos, los cuales contienen diferentes compuestos químicos que se han logrado obtener en diversas formas de preparación con la finalidad de mejorar el estado de salud de las personas y desarrollar efectos terapéuticos basados en lo natural (Prieto, Garrido, González y Molina, 2004). Las plantas medicinales son cualquier especie vegetal que contiene sustancias que ejercen una acción, dicha acción puede ser beneficiosa o perjudicial para la salud el organismo. El uso de las plantas es importante ya que puede prevenir, curar o aliviar la enfermedad (Muñoz, 2002).

El *Sambucus mexicanum* es una especie arbustiva, cuyas partes son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional, las cuales poseen propiedades terapéuticas que actúan contra los problemas respiratorios, dolor de cabeza, fiebre, tos, catarro, también posee un efecto diurético, antiséptico, cicatrizante, antiinflamatorio, logrando producir efectos terapéuticos para mejorar el estado de salud de las personas (Herrera y Shiary, 2019).

Existe una preocupación a nivel mundial por el incremento de la resistencia que están presentado algunos microorganismos a los medicamentos disponibles, ocasionando que estos se vuelvan ineficaz en la prevención y tratamiento de infecciones microbianas. Las enfermedades infecciosas se pueden interpretar como una crisis que desequilibra el estado de salud. Es por eso que se están buscando nuevas alternativas terapéuticas que ayuden a solucionar dicho problema (Torres, 2012).

Es por ello que la contribución al conocimiento del presente estudio se justifica en la necesidad de determinar la composición química de los extractos de las flores de *Sambucus mexicanum* y si esta presenta actividad antibacteriana.

Objetivos de la investigación

Objetivo general

Confirmar la relación entre la caracterización química y la actividad antibacteriana de los extractos de las flores de *Sambucus mexicanum*.

Objetivos específicos

- Obtener el extracto de hexano y etanol de las flores de *Sambucus mexicanum* mediante la técnica de reflujo.
- Reconocer cualitativamente los metabolitos secundarios de los extracto de hexano y etanol de las flores *Sambucus mexicanum* mediante el tamizaje fitoquímico.
- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto de etanol de las flores de *Sambucus mexicanum* empleando el método de difusión en agar con disco.

Alcances y Limitaciones de la investigación

Alcances de la investigación

El alcance de una investigación se relacionara con la profundidad del conocimiento que los investigadores pretenden obtener durante el proceso de investigación (Hernández, Fernández y Baptista, 2010). En tal sentido, el alcance de esta investigación tiene como propósito aportar nuevos conocimientos sobre la actividad antibacteriana de las flores de *Sambucus mexicanum* y confirmar que dicha actividad está relacionada con la composición química de los extractos de las flores de esta especie, siendo una alternativa para la industria farmacéutica y la salud mundial.

Limitaciones de la investigación

Las limitaciones de una investigación están relacionadas con la disponibilidad de recursos financieros, procedimentales y teóricos. (Hernández y cols., 2010). Las limitantes que se encontraron en el proceso de la investigación fueron la falla de electricidad, el internet, el gas y la falta de equipos tecnológicos como la computadora.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Ferreira, Badim, Salvador, Silvestre, Santos y cols., en el 2021, realizó una investigación Caracterización química del extracto acuoso de las flores de *Sambucus nigra* L. y sus implicaciones biológicas. El objetivo principal de este estudio fue caracterizar químicamente el extracto acuoso de las flores *S. nigra* y validarlo como agente bioactivo. La extracción acuosa de la flor de saúco se realizó a diferentes temperaturas (50, 70 y 90 °C). Estos extractos fueron analizados por cromatografía de gases acopladas a espectrometría de masas (CG-EM) y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (CLAR-EM), que permitió la identificación de 46 compuestos, representando la quercetina y el ácido clorogénico el 86 % del total de compuestos fenólicos y la naringenina con un 27,2 %. Además, el extracto mostró actividad antimicrobiana, dicha actividad fue determinada mediante la concentración mínima bactericida y fungicida por el método de microdilución recomendado por Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), contra bacterias grampositivas, particularmente *Staphylococcus aureus* (ATCC 25293) y *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) presento actividad a una concentración de 8,3 y 4,1 mg/mL respectivamente y con respecto a las bacterias gram negativas *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1), *Klebsiella oxytoca* (ATCC 13182) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 11296), la concentración que presento dicha actividad hacia el extracto acuoso fue mayor a 33,0 mg/mL para cada bacteria. Estos resultados muestran que *S.*

nigra está basado en que los extractos pueden ser una fuente dietética importante de compuestos fenólicos bioactivos que contribuyen a salud mejorando la calidad de vida, demostrando su potencial como alimentos nutracéuticos y funcionales y/o componentes cosméticos con fines terapéuticos.

Bravo y Díaz (2021), realizaron una investigación cuyo objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana del extracto de etanol de las hojas del *Sambucus nigra*. El método utilizado fue la prueba de difusión en pozo, obteniendo como resultados que el extracto de etanol al 100 % obtuvo un halo de inhibición con un promedio $16,65 \pm 0,46$ mm; y al 50 % un halo de inhibición promedio $15,44 \pm 0,32$ mm. Llegando a la conclusión de que los extractos al 100 % y al 50 % de etanol de las hojas *Sambucus nigra* (sauco) presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*.

Por otra parte, Rodríguez, Gamarra y Pérez (2020), realizaron una investigación titulado tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de seis plantas medicinales usadas en Amazonas, cuyo objetivo fue identificar cualitativamente los metabolitos secundarios y evaluar la actividad antibacteriana de los extractos acuoso y alcohólico de *Passiflora ligularis*, *Sambucus peruvianus*, *Desmodium molliculum*, *Urtica dioica*, *Malva silvestris* y *Lomatia ligularis* sobre *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* responsable de infecciones urinarias. El método utilizado para evaluar la actividad antibacteriana fue la prueba en agar en disco frente *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, obteniendo como resultado que las bacterias evaluadas presentaron un halo de inhibición de 7 mm para *Pseudomonas aeruginosa*, excepto *Escherichia coli* que mostro resistencia. Mientras para el tamizaje fitoquímico con extracto de etanol al 70 % se determinó la presencia de esteroides, flavonoides, taninos y antocianinas en la mayoría de las plantas. Llegando a la conclusión de que los extractos

alcohólicos del *Sambucus peruvianus* y *Lomatia ligularis* mostraron actividad antibacteriana sobre *Pseudomona aureginosa*; pero la inhibición que mostro *Escherichia coli* fue mayor con los extractos acuosos de *Desmodium molliculum* y *Passiflora ligularis*.

Mientras Lozano (2019), realizo un estudio titulado composición química y actividad antibacteriana de los extractos de hexano y etanol obtenidos de las hojas, tallo y flores del *Sambucus mexicanum*, su objetivo fue confirmar la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos del *Sambucus mexicanum*. El método de extracción utilizado fue reflujo mientras que los extractos de hexano se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), identificando en los extracto de las hojas el escualeno (50,62 %) y fitol (40,26 %), en los tallos se encontró escualeno (78,19 %) y vitaminas E (14,37 %) y en las flores se determinó tricosano (16,20 %) y ácido hexadecanoico (12,72 %), así mismo en el screening fitoquímico del extracto de etanol de las hojas se observaron alcaloides, triterpenos y compuestos fenólicos, mientras que en el tallos se identificó triterpernos, flavonoides suave y compuestos fenólicos, en las flores mostro presencia de alcaloides en dragendorff y mayer, triterpenos, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en agar con disco frente a *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados obtenidos fueron que los extractos de hexano y etanol de las hojas solo fueron sensibles a solo cuatro de las bacterias evaluadas con un halo de inhibición de 7 a 10 mm, excepto para *E. faecalis* en cual no hubo halo de inhibición. Mientras que en los extractos de las flores mostro actividad sobre *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* con un halos de inhinbicion de 7 a 9 mm menos para *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*

faecalis, en los extractos del tallo mostro sensibilidad a cuatro de las bacterias y resistencia a *Staphylococcus aureus* en el extracto de hexano, estas fueron evaluadas a una concentración de 10 mg/mL (10.000 ppm). Por tal razón este estudio guarda relación con este escrito, ya que nos permitirá corroborar los componentes del extracto de etanol de las flores de *Sambucus mexicanum*.

Antecedentes históricos

Desde el inicio de la evolución, el hombre ha utilizado las plantas no solo como fuente de alimento sino también en el tratamiento de enfermedades, ya que se han encontrado evidencias que indican que las propiedades medicinales fueron descubiertas por casualidad, permitiendo saber cuáles eran beneficiosas o perjudiciales para el ser humano. Este conocimiento adquirido por la humanidad fue pasando a través de las generaciones, las cuales han recopilado datos que permiten conocer el uso de los productos naturales (Domingo y López-Brea, 2003).

Entre los datos recopilados se encuentran unos grabados en tablillas de arcilla, encontradas en la antigua Mesopotamia la cual se remonta al año 2100 a.C., estos grabados se consideran como el primer texto medico ya que enumera una gran variedad de remedios de origen vegetal, mineral y animal. También los egipcios realizaron un gran aporte como el Papiro de Eber, una colección de recetas que contienen 811 prescripciones y 700 remedios escritas en los años 1500 a.C., otro personaje que influyo fue Hipócrates el cual usaba plantas con fines curativos. Parcelo introdujo un nuevo enfoque desde el punto de vista químico referente al uso de las plantas, también Dóciles creador de la Botánica médica, así como Dioscórides autor de la materia medica considerada como guía de plantas medicinales de la antigüedad. Hoy en día sigue el interés por el estudio de los productos

naturales enfocados en la búsqueda de sustancias como alternativas terapéuticas (Waizel y Waizel, 2005).

El *Sambucus* también llamado sauco o sabuco, es bien conocido por el ser humano ya que está íntimamente relacionada con las personas desde el Neolítico (Verberic, Jakopic, Stampar y Schmitzer, 2009), desde entonces han existido documentos que han descrito como se ha utilizado esta planta en la preparación de remedios, uno de ellos es el tratado Anatomía sambuca publicada en 1651, donde recoge unas 70 enfermedades que pueden ser tratadas con remedios a base de sauco (Grajales, Botero y Ramírez, 2015).

El sauco contiene propiedades terapéuticas que permite aliviar síntomas utilizando sus frutos en la preparación de alimentos como mermeladas y vinos, mientras que las hojas, flores, corteza y tallo en la elaboración de remedios para el alivio o cura de síntomas como tos, resfriados, dolor de cabeza y garganta, también se utilizan en hematomas, quemaduras, ya que posee propiedades analgésica, antigripal, diurético, antiinflamatorio y antiséptico (Fonnegra y Jiménez, 2006).

La madera del sauco ha permitido la fabricación de flautas, cerbatanas, cajas, peines cucharas, tenedores, cercas y corrales (Grajales, Botero y Ramírez, 2015), incluso el instrumento musical utilizado por los romanos de donde deriva la palabra “sambuke”, mencionada por Plinio fue hecha por madera de sauco (Fonnegra y Jiménez, 2006). Es por eso que todas las partes de esta planta son de gran importancia y deben ser aprovechadas por el hombre ya que posee un gran valor natural, agronómico, cultural y económico (Grajales Botero y Ramírez, 2015).

El género *Sambucus*, cuenta con más de 30 especies entre ellas tenemos *Sambucus nigra*, *Sambucus mexicanum* *Sambucus peruviana*, *Sambucus canadiense*, entre otras, son originarias de las regiones templadas y subtropicales en ambos hemisferios, aunque está más extendida por el hemisferio norte, en el hemisferio sur se localiza en Oceanía y en algunas

zonas de América del sur (Sánchez, Amado, Criollo, Carvajal, Roa, Cuesta, Conde, Umana, Bernal y Barreto, 2010). De forma natural se encuentra en bosques húmedos, asociados a matorrales espinosos de hoja caduca y en ambientes mediterráneos, también en valles y vaguadas fuera del área ribereña o asociado a cursos permanentes (Alzate, Idarraga, Díaz y Rodríguez, 2013). Fue introducida por los españoles, quienes lo trajeron a América en el siglo XVI, se ha aclimatado en muchas regiones incluso en las alturas andinas (Blanco, Chamarro y Arreaza, 2005).

Bases teóricas

Familia Adoxaceae

Son una familia de angiosperma perteneciente al orden de las Dipsacales que comprende cinco géneros (*Adoxa*, *Sambucus*, *Sinadoxa*, *Tetradoxa* y *Viburnum*) con más de 200 especies. La familia Adoxaceae está formada por arbustos o árboles pequeños que se caracteriza por presentar hojas opuestas, simples o compuestas, las flores pueden ser solitarias u organizadas que se encuentran agrupadas y sus frutos son bayas (figura 1) (Calderón, 2021). Su clasifican taxonómicamente en:

Dominio: Eukaryota

Reino: Plantae

Filum: Spermatophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Dipsacales

Familia: Adoxaceae

Género: *Sambucus*

Especie: *Sambucus mexicanum*, *Sambucus nigra*, *Sambucus canadiensis*

Fuente: Trópicos. Org. Missouri Botanical Garden

Figura 1: Especie *Sambucus mexicanum*

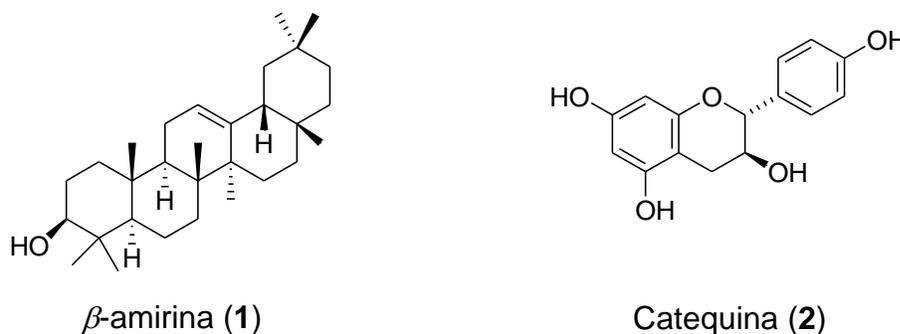


Fuente: Tropicos.org

Son originarias de Europa, noroeste de África y sudoeste de Asia. Sin embargo, la podemos localizar en Centroamérica y Sudamérica, especialmente en los países con climas templados y tropicales, por lo general se halla en bosques y valles (Sánchez, Amado, Criollo, Carvajal, Roa, Cuesta, Conde Umana, Bernal y Barreto, 2010).

La familia Adoxaceae posee varias sustancias activas entre ellas tenemos aceites volátiles, fitoesteroles, mucilago, vitaminas A y C, glucósidos, alcaloides, triterpenos: β -amirina (1) y flavonoides: Catequina (2) las cuales podemos encontrar en cualquier parte de la planta (figura 2) (Grajales, Botero y Ramírez, 2015).

Es importante señalar que las partes recomendadas para el uso medicinal son las flores y los frutos (Díaz, 2003). Las cuales se pueden utilizar para aliviar síntomas de resfriados, quemaduras, inflamaciones, torceduras, infecciones y gastritis (Grajales Botero y Ramírez, 2015).



Tomado y Modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

Género *Sambucus*

Son un grupo morfológicamente variado de plantas que han sido confundidos por los taxónomos. Este género comprende aproximadamente

23 especies (Acharya y Mukherjee, 2014), el cual está formado por hierbas, arbustos o arboles con hojas opuestas de color verde, sus flores son bisexuales, numerosas, pequeñas, fragantes, blancas y sus frutos en forma de drupas con 1 o 5 semillas (Ayala, 2003). Se encuentra distribuida principalmente regiones templadas y subtropicales (Amini, Nasrollahi, Sattarian, Isazadeh y Habibi, 2019). De acuerdo a la información obtenida, las especies más estudiadas han sido *Sambucus nigra*, *Sambucus mexicanum*, *Sambucus peruviana*, *Sambucus canadense* (Calderón, 2021). Las especies más estudiadas son:

Sambucus canadienses

Son arbustos que alcanzan hasta los 3 metros de altura, sus hojas están dispuestas en pares opuestos, sus flores son pequeñas de color blanco sobre el follaje, el fruto es una baya de color púrpura oscuro a negro (Galindo, 2003).

Sambucus nigra

Es un arbusto o árbol de 4 a 6 metros de altura con una copa redonda, baja y densa, el tronco es curvo e inclinado, con una corteza gruesa y un follaje de color verde y brillante, las flores son de color blanco y sus frutos son bayas de color negro (Grajales, Botero y Ramírez, 2015).

Sambucus peruviana

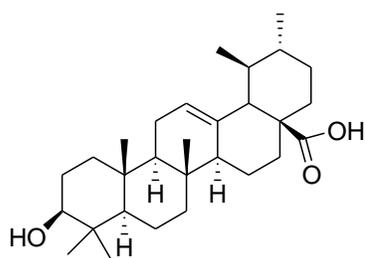
Es un arbusto de 3 a 5 metros, su tallo es de color gris y puede ser bastante grueso. Las hojas son de color verde claro no muy grande y se encuentran una frente a la otra, mientras sus flores son pequeñas de color crema, con un olor suave y agradable las cuales se encuentran agrupadas formando un racimo. Sus frutos son de color negro o morado redondos. (Herrera y Shiary, 2019).

Metabolitos secundarios del género *Sambucus*

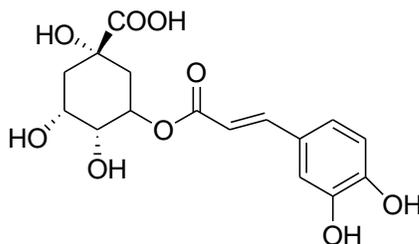
Entre los metabolitos secundarios más importantes que presenta el género de *Sambucus* se encuentran nitrato de potasio, mucilago, triterpenos [ácido ursólico (3), oleanólico], esteroides, aceite esencial, polifenoles [ácido clorogénico (4), *p*-cumarico, cafeico, ferulico) y sus esteres β -glucosídicos, flavonoides [quercetina (5)], heterósidos [rutina, isoquercirina, antragalina (6)] y el Octil-12-metilpropanoato (7) (figura 3) (Grajales, Botero y Ramírez, 2015).

Las propiedades farmacológicas significativas que presenta son antiestrés, antimicrobiana, antidiabético, antioxidante y antiinflamatorio (Abdramanoy, Massanyi, Sarsembayera, Usenbayev, Alimov y Tvrda, 2021).

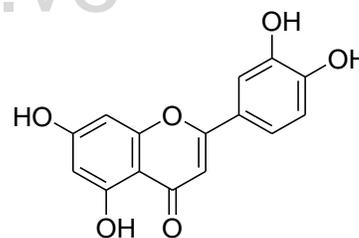
Figura 3.- Algunas estructuras químicas del género *Sambucus*.



Ácido ursólico (3)



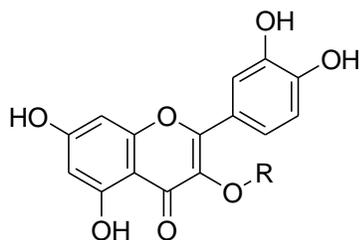
Ácido clorogénico (4)



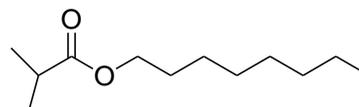
Quercetina (5)

Tomado y Modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

Figura 3.- Algunas estructuras químicas del género *Sambucus*.
(Continuación)



Antragalina (6)



Octil-12-metilpropanoato (7)

R = Glucosa

Tomado y Modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

Sambucus mexicanum

El sauco es un árbol de 2 a 4 metros de alto de copa redonda, baja y densa, su tallo es de color gris y puede ser bastante grueso, las hojas son de color claro, no muy grandes y se encuentran una frente a la otras. Las flores son pequeñas de color crema, tienen un olor suave y agradable que mide de 4 a 5 mm de diámetro y forman racimos en las puntas de las ramas. Su fruto es una baya de color negro o morado oscuro, redondo los cuales se encuentran agrupadas formando racimos. Se puede conseguir en bosques húmedos, asociados a matorrales espinosos, en valles o vaguadas (Font Quer, 1990). Se conocen también como Flider, Schwarzer (Alemania); Sauco, Tili, Caniller (Colombia); Sauco negro, Sabugo, Canillero (España) (Fonnegra y Jiménez, 2006).

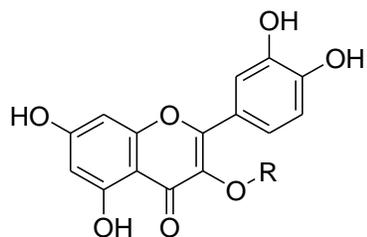
Composición química o metabolitos secundarios del *Sambucus mexicanum*

En la actualidad la ciencia moderna, analizado y estudiado los efectos terapéuticos de las plantas, permitido comparar y agrupar aquellas con

efectos similares. Así de esta manera, poder aislar de la especie los principios activos o metabolitos secundarios responsables de curar o aliviar las enfermedades. Estos metabolitos secundarios son indispensables para la interacción ecológica y el medio ambiente, pues le atribuyen funciones de defensa contra agentes patógenos. Sin embargo, la ausencia de estos no se considera fatal, puesto que no intervienen el metabolismo primario. En consecuencia, estos estudios han permitido considerar que la naturaleza produce compuestos con gran diversidad en cuanto a estructura química, propiedades fisicoquímicas y biológicas (Ugaz, 2003).

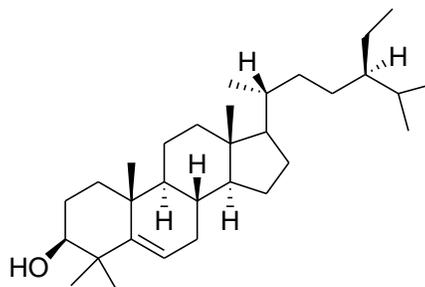
Los compuestos químicos que se hallan son ácido ascórbico, rutina (**8**), β -sitosterol (**9**), sambunigrina (**10**) (figura 4) (Pahlow, 1985). En las hojas se encuentran glucósido, la sambunigrina, que por medio de un fermento parecido a la emulsina produce glucosa, aldehído bencílico cianhídrico. En la corteza se halla la fitosterina, ácido resínico, flobafeno, materias tánicas, los ácidos esteáricos y mirísticos. En las flores se identifica aceites esenciales, glucósidos, sudoríficos, flavonoides, azúcar, colina, valeriánico tartárico, glúcido nitrílico (Grajales y Jiménez, 2015). Finalmente los frutos contienen un 80 % de agua, pantanas, azúcar invertido, un poco de aceite, proteínas, ácido málico y tanino (Font Quer, 1990). Los frutos maduros son ricos en vitaminas y minerales (Pahlow, 1985).

Figura 4.- Algunas estructuras químicas de la especie *Sambucus mexicana*.

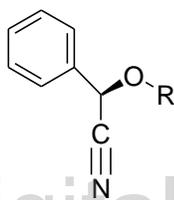


Rutina (8)

R = Glucosa-Ramnosa



β -sitosterol (9)



Sambunigrina (10)

R = Glucosa

Tomado y modificado de Bruneton, 2001.

Usos etnobotánicos y actividad farmacológica y/o biológicas del *Sambucus mexicana*.

Usos tradicionales

El sauco se cultiva como planta ornamental y medicinal en climas templados y tropicales, también le proporciona sombra a los cultivos de los huertos (Fonnegra y Jiménez, 2006). La infusión de las hojas se usan como repelente de mosquitos y rociada sobre las plantas sirve como protección contra los pulgones y las orugas (Sánchez y cols., 2010). También se utiliza

en los cultivos como repelente hacia los ratones, topos y sabandijas (Fonnegra y Jiménez, 2006).

La madera del sauco es bastante dura, utilizadas para la construcción de herramientas agrícolas, la fabricación de flautas, canutillos empleados por tejedores, cerbatanas y tubos de recipientes (Abella, 2000).

El fruto de esta planta puede ser utilizado para obtener una variedad de productos tales como: mermeladas, licores, yogurt, jaleas y jugos (Galindo, 2003). Por otra parte, la flor se usa para tratar refriados, irritaciones y afecciones del aparato respiratorio (Botero, 2011).

Usos medicinales

Esta planta es un recurso de la naturaleza que beneficia y se aprovecha como medicina utilizando las flores para bajar la fiebre, disminuir la inflamación, aliviar la irritación, también se utiliza para las afecciones respiratorias, resfríos, gripe, tos, catarro, obesidad, reumatismo y como diurético. Se prepara en infusión y como te, hace sudar permitiéndole al cuerpo eliminar las toxinas y en jarabe sirve como expectorante (Herrera y Shiary, 2019). Su fruto posee efectos diuréticos, como laxante en menor cantidad y purgante en dosis mayores, también como adelgazante (Pahlow, 1996). Las hojas se emplean en infusión como antiinflamatoria, laxante, expectorante y purgante y en cocción para hematomas, contusiones, torceduras, quemaduras, inflamaciones y hemorroides. Mientras que la corteza se emplea como purgante y estimulante hepático, diurético y al igual que la raíz se utiliza como diurético y emoliente (Fonnegra y Jiménez, 2006).

Toxicidad de *Sambucus mexicana*

La ingesta directa de los frutos verdes, corteza o bordes de hojas del sauco puede ocasionar intoxicaciones gastrointestinales, hemorragias

intestinales, náuseas, vómitos cuya gravedad dependerá del grado de madurez de los frutos (Font Quer, 1990).

Productos naturales

Son una gran variedad de compuestos encontrados en la naturaleza, que los seres vivos transformaron a través de reacciones químicas, para poder vivir, crecer y reproducirse. En otro sentido, un producto natural está formado por un compuesto químico aislado de fuentes naturales producido por un proceso metabólico primario o secundario (Ugaz, 1994).

En los productos naturales existen dos grandes grupos; los metabolitos primarios y los metabolitos secundarios, los primarios son compuestos ampliamente distribuidos en la naturaleza y ocurren en una forma u otra en todo el organismo y son necesarios para el desarrollo fisiológico y el metabolismo básico de las plantas, ellos son procesos químicos que la planta debe llevar a cabo para sobrevivir y reproducirse (Ugaz, 1994).

Por otra parte, los metabolitos secundarios son compuestos químicos sintetizados a partir de los metabolitos primarios que cumplen funciones no esenciales para el desarrollo de las mismas. Ellos son procesos químicos que son únicos para una planta dada y no son universales, dicho metabolismo es la química que conduce a la formación de un producto natural que se caracteriza por ser más común en un grupo en particular como una familia o un género (Ugaz, 1994).

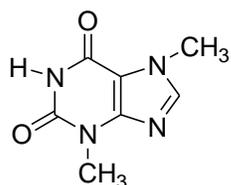
En relación a la formación de estos metabolitos, se conocen que a través de reacciones enzimáticas contribuyen a los procesos de fotosíntesis, glicolisis y en el ciclo de Krebs, formando los intermediarios biosintéticos. La combinación de segmentos o unidades químicas que provienen de las reacciones enzimáticas de los metabolitos primarios dan lugar a la formación de los metabolitos secundarios (Marcano y Hasegawa, 2002).

Metabolitos secundarios de los productos naturales

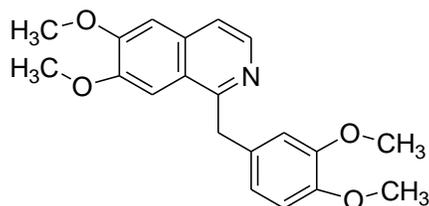
Alcaloides

Son moléculas orgánicas de carácter básico más o menos complejos que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula y exhiben actividad biológica, ejemplo teobromina (**11**) y papaverina (**12**) (figura 5) (Azcón y Talón, 2000).

Figura 5.- Algunas estructuras químicas de alcaloides.



Theobromina (**11**)



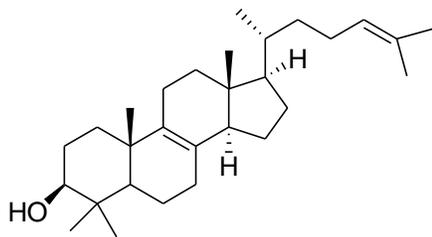
Papaverina (**12**)

Tomado y modificado de Bruneton, 2001

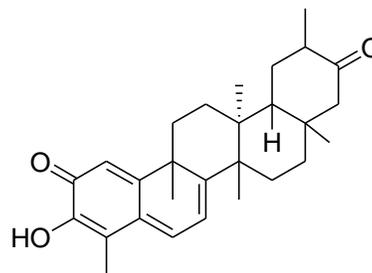
Triterpenos

Son un tipo de grasas no saponificables que se forman por la unión de unidades de isoprenos, formando el grupo más grande de metabolitos secundarios, ya que la ruta biosintética de estos compuestos permiten la formación de metabolitos primarios como secundario, así como el crecimiento de las plantas, ejemplo lanosterol (**13**) y tingenona (**14**) (figura 6) (Ávalos y Pérez, 2009).

Figura 6.- Algunas estructuras químicas de Triterpenos.



Lanosterol (13)



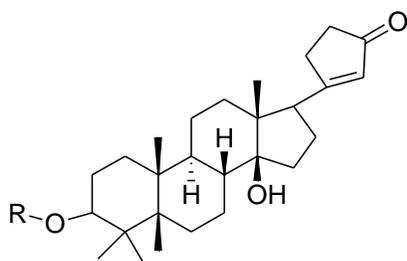
Tingenona (14)

Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009.

Saponinas

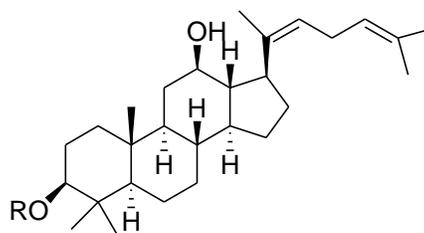
Son estructuras formadas por una parte glucosídica y una parte no glucosídica con propiedades jabonosas ejemplo digitoxina (15) y ginsenósido (16) (figura 7) (Ávalos y Pérez, 2009).

Figura 7.- Algunas estructuras químicas de saponinas.



Digitoxina (15)

R = 3 moléculas de ramnosa



Ginsenósido (16)

R = glucosa

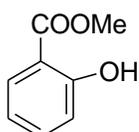
Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009.

Compuestos fenólicos y taninos

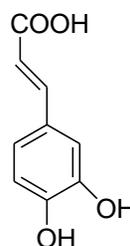
Son compuestos que poseen un anillo aromático teniendo un sustituyente hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales salicilato de metilo (17) y

ácido cafeíco (**18**) (figura 8) (Ávalos y Pérez, 2009). Mientras que los taninos son polímeros polifenólicos producidos por las plantas como compuestos secundarios, lo cuales poseen la capacidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, saponinas y alcaloides (Albornoz, 1980).

Figura 8.- Algunas estructuras químicas de compuestos fenólicos.



Salicilato de metilo (**17**)



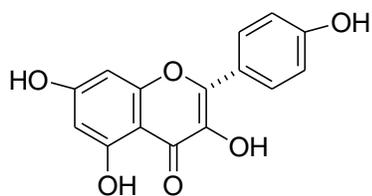
Ácido cafeíco (**18**)

Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009

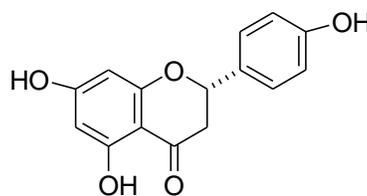
Flavonoides

Constituyen uno de los grupos más distintivos de los metabolitos secundarios, formados por quince carbonos ordenados en dos anillos aromáticos por un puente de tres carbonos. Debido a su grado de oxidación se puede clasificar en antocianinas, flavonas, flavanonas e isoflavonas ejemplo (kempferol, **19**), (naringenina, **20**) (figura 9) (Ávalos y Pérez, 2009).

Figura 9.- Algunas estructuras químicas de compuestos flavonoides.



kempferol (**19**)



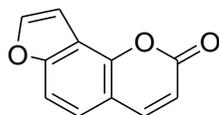
naringenina, (**20**)

Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009.

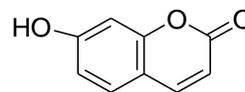
Cumarinas

Son compuestos que se encuentran en la naturaleza y forma la oxidación de compuestos aromáticos para dar dicetona. De acuerdo a su grado de complejidad química se clasifican en benzoquinonas, naftoquinonas y antroquinonas como por ejemplo angelicina (**21**) y umbelliferona (**22**) (figura 10) (Perry, Blunt y Munro, 1991).

Figuran 10.- Algunas estructuras químicas de cumarinas.



Angelicina (**21**)



Umbelliferona (**22**)

Tomado y modificado de Perry, Blunt y Munro, 1991.

www.bdigital.ula.ve

Biosíntesis de productos naturales

La formación de los metabolitos secundarios en la naturaleza se originan a partir de los metabolitos primarios. La síntesis de los productos naturales comienza con la fotosíntesis que se da en las plantas superiores, algas y algunas bacterias. Es un proceso endotérmico el cual necesita de luz solar y aquellas que no absorben la luz obtienen su energía por la degradación de carbohidratos. En este sentido se han establecido tres rutas biosintéticas como son la ruta del acetato, ruta ácido shikímico y ruta ácido mevalónico, que biosintetizan los principales grupos de los productos naturales como los ácidos grasos, antraquinonas, terpenos, esteroides, alcaloides, cumarinas, entre otras (Marcano y Hasegawa, 2002).

Extractos vegetales

Un extracto vegetal es una combinación de varios compuestos químicos extraídos de las plantas, que se adquieren mediante métodos físicos, químicos y microbiológicos usando partes u órganos de especies vegetales para obtener extractos con múltiples principios activos y variadas concentraciones de una misma planta (Escudero, 2012).

Clasificación de los extractos vegetales

Según Amaguaña y Churuchumbi (2018), la clasificación de los extractos va a depender de la consistencia y concentración de principios activos para poder clasificarlos en:

Extractos fluidos: Los extractos de fluidos también conocidos como extractos líquidos, son preparaciones de drogas vegetales que contiene alcohol como disolvente y conservante, los cuales deben ser preparados de tal manera que cada mililitro contenga los componentes extraídos de 1 gramo de materia cruda (Cáceres, 2003).

Extractos secos: Se obtienen evaporando todo el solvente hasta conseguir una consistencia en polvo. Son altamente estables y de fácil manipulación y se le puede utilizar para preparar tinturas de extractos fluidos (Kuklinsk, 2003).

Extractos blandos: Se obtienen evaporando el disolvente hasta conseguir un producto con una textura semisólida pero que no moje el papel de filtro (Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

Crioextractos: Se obtiene por trituración del material vegetal correctamente desecada, la cual ha sido sometida a condiciones de congelación (-196°C), mediante la inyección de nitrógeno líquido, de manera que los principios

activos no sean alterados por la acción del calor liberado en un proceso de trituración y dependiendo del material vegetal, puede llegar hasta 70°C, son muy útiles para conseguir proteínas y enzimas de ciertas especies (Castillo y Martínez, 2007).

Métodos de obtención de extractos vegetales

Según Valcargel y Gómez (1988), los extractos se pueden obtener de fuentes naturales a través de diferentes técnicas como:

Mecánicas:

Por expresión: Consiste en ejercer presión sobre la planta para obtener un jugo en lo que se encuentran los principios activos y se puede utilizar para conseguir zumo cítrico y aceites (Osorio, 2009).

Por incisiones: Método utilizado para extraer materiales vegetales como gomas, resinas y mieles a través de cortes por lo que caen fluidos de las plantas (Osorio, 2009).

Destilación: Es una técnica que se basa en la diferente volatilidad de los principios activos de la plantas, la cual nos permite obtener los aceites esenciales como resultados de un proceso de eliminación parcial o total del líquido extractor (Santana, 2014).

Extracción discontinua:

Maceración: Es una técnica que se realiza a temperatura ambiente donde el material vegetal se coloca en contacto con el solvente (agua o etanol), dejando reposar la mezcla aproximadamente por dos a catorce días. Una vez transcurridos el tiempo se filtra el líquido y se exprime el residuo, se recupera el solvente y se obtiene el extracto final (Osorio, 2009).

Infusión: El disolvente se coloca y se hierve sobre la planta, dejándolo enfriar a temperatura ambiente, luego se filtra para así obtener el extracto de dicha plantas (Marcano y Hasegawa, 2002).

Digestión: Es una técnica que se utiliza para la extracción de principios activos difíciles de conseguir de una planta leñosa (Marcano y Hasegawa, 2002).

Decocción: Este procedimiento consiste en colocar el material vegetal en el solvente hasta llevarlo a ebullición por 15 a 30 minutos, déjalo enfriar y proceder a realizar la filtración (Marcano y Hasegawa, 2002).

Extracción continúa:

Percolación: Es una técnica que consiste en colocar el material vegetal en una columna junto con el disolvente (agua o alcohol) con el objetivo de arrastrar los principios activos (Miranda y Cuellar, 2001).

Soxhlet: Es una técnica donde se utiliza el equipo de soxhlet, para realizar un lavado a la mezcla solida con un determinado disolvente que va extrayendo los principios activos. Durante este proceso de extracción ocurre una disolución de los compuestos químicos presentes en la mezcla, en el que se forman interacciones entre las moléculas del soluto y solvente (Pinedo, 2012).

Análisis fitoquímico

Es un método que tiene como objetivo determinar la presencia o ausencia de los principales metabolitos secundarios de una especie vegetal, mediante la selección del solvente correcto para la extracción del material vegetal, así mismo, lograr una reacción de color y precipitación la cual orienta a la identificación de dicho metabolitos (Marcano y Hasegawa, 2002). Entre ellos tenemos:

Alcaloides

Debido a la capacidad que poseen los alcaloides para combinarse con metales pesados como el bismuto, mercurio y yodo se dan las siguientes reacciones: Reacción de Dragendorff, da un precipitado de color rojo o anaranjado, persistente por 24 horas, mientras que la reacción de Wagner forman precipitados de color marrón y por último la reacción de Mayer, se da un precipitado de color ligeramente amarillento (Calixto, 2006). En el análisis fitoquímico preliminar las técnicas utilizadas para el reconocimiento se basan en la capacidad que poseen los alcaloides en medio ácido para combinarse con el yoduro de potasio el cual reacciona con el cloruro mercuríco, formando un precipitado rojo de yoduro mercuríco el cual es soluble en exceso de iones de yoduro con formación de un complejo incoloro. Mientras que la solución alcalina de este complejo permite descubrir indicios de amoniaco, en esta reacción se forma el compuesto de color pardo oxyoduro mercuri amoniaco, generando una coloración amarillenta (Orantes, 2008).

Flavonoides

La identificación de estos metabolitos secundarios se realiza a través de la prueba de Shinoda, donde el magnesio en medio ácido, reduce el

flavonoide generando un producto que va del color rojo anaranjado al violeta (Domínguez, 1973).

Taninos y Compuestos fenólicos

La identificación de los compuestos fenólicos se pueden realizar mediante de la reacción de cloruro férrico que es una prueba colorimétrica, que se usa una disolución al 1 % de cloruro de hierro que es neutralizada con hidróxido sódico hasta que se forme un precipitado de hidróxido de hierro (Fe_2OH). La sustancia orgánica se disuelve en agua, metanol o etanol, luego se le adiciona la disolución neutra de cloruro formando un complejo coloreado transitorio o permanente (Domínguez, 1979). Mientras que por la prueba de gelatina-sal consiste en observar un precipitado ya que tienen la propiedad de reaccionar con las proteínas formando compuestos insolubles (Orantes, 2008).

www.bdigital.ula.ve

Quinonas

Se identifica por medió de la prueba de Borntrager, que se fundamenta en la hidrolisis de los enlaces glicosídicos y se produce una oxidación de las antronas y las antranoles hasta antraquinonas generando la formación de complejos de color rojo (Carvajal, Hata, Sierra y Rueda, 2009).

Glucósidos cardiotónicos

Estos compuestos se realizan a través de la prueba de Baljet que logra identificar lactonas α , β -insaturadas, la cual se basa en la formación de un complejo entre el ácido pícrico y la lactona α , β -insaturadas, presentando una coloración roja clara u oscura (Orantes, 2008).

Saponinas

Se realiza mediante la prueba de espuma, la cual está basada en la propiedad físico-química que presentan las soluciones acuosas a la saponina de disminuir la tensión superficial de los líquidos acuosos provocando abundante espuma cuando se agita vigorosamente (Carvajal, Hata, Sierra y Rueda, 2009).

Cumarinas

La identificación de este metabolito se realiza mediante la prueba de Erlich, donde se genera una lactonización del ácido *cis*-*O*-hidroxicinámico o ácido cumarínico, determinándose la presencia de grupos furano, la muestra se disuelve en etanol y se agrega una solución de *p*-dimetilaminobezaldehído en etanol y después cloruro de hidrogeno gaseoso formando una coloración naranja (Carvajal, Hata, Sierra y Rueda, 2009).

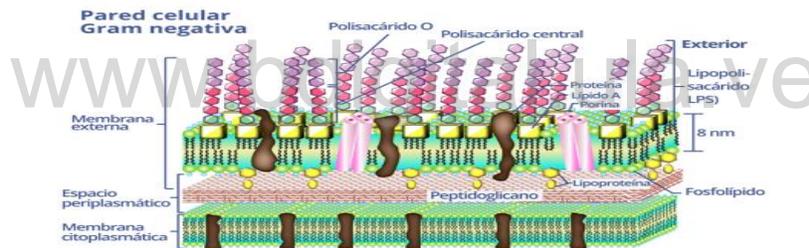
Bacterias

Las bacterias son organismo unicelulares procariotas, los cuales poseen una estructura simple y sencilla, sin membrana nuclear, no poseen núcleo, ni orgánulos membranosos, con reproducción asexual. Son los organismos más pequeños descritos y solo pueden ser visualizado a través de un microscopio. Las bacterias se pueden clasificar según su aspecto macroscópico y microscópico, por el crecimiento en autótrofas y heterótrofas, y en propiedades metabólicas como aeróbicas y anaeróbicas. En el aspecto microscópico, se incluye el tamaño, la forma (cocos, bacilos, cocobacilos), pero el principal método de identificación es la coloración de Gram, el cual se divide en dos grandes grupos (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009).

Bacterias Gram negativas:

Presentan una pared celular más compleja, la cual contiene dos capas, situada en la superficie externa de la membrana citoplasmática compuesta por lipopolisacaridos y peptidoglicanos, y una capa interna formada por fosfolopidos y lipoproteínas, además, no posee ácidos teicoicos ni lipoteicoicos. El espacio entre la superficie externa de la membrana citoplasmática y la superficie interna de la membrana externa se forma el espacio periplasmico. Debido a que la capa de peptidoglicano es tan delgada no puede retener el colorante lo que la diferencia de las Gram positivas (figura 11) (Volk, 1976).

Figura 11: Bacteria Gram negativas

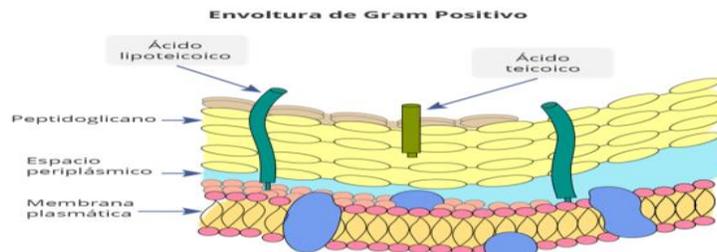


Tomado y modificado de Volk, 1976.

Bacterias Gram positivas

Poseen una pared celular gruesa que consta de varias capas y se encuentra formada por peptidoglucano, la cual es una membrana porosa que permite el paso de metabolitos a la membrana plasmática. Además, posee ácidos teicoicos, polisacáridos y lipoteicoicos. Estas bacterias tienen la particularidad de no poseer membrana externa por lo que son capaces de retener el colorante (figura 12) (Volk, 1976).

Figura 12: Bacteria Gram Positiva



Tomado y modificado de Volk, 1976.

Características generales de las bacterias

Dentro de las bacterias Gram positivas existen una variedad de géneros como las *Staphylococcus* y *Enterococcus*, causantes de muchas enfermedades nosocomial (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009).

Staphylococcus aureus, son cocos Gram positivos (bacterias en forma esférica), dispuestos en racimos irregulares, son inmóviles, anaerobios facultativo, no forman esporas y generalmente no poseen capsula, catalasa positiva, siendo la única especie que produce enzima coagulasa, y no forman esporas (Prescott, Harley y Klein, 2008).

Enterococcus faecalis, son cocos Gram positivos en formas de pares y cadenas cortas, inmóviles, anaerobios facultativo, no forma endosporas, fermentan lactosa, pueden presentar hemolisis y catalasa negativa (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009).

Existen una gran variedad de bacterias Gram negativas entre ellas tenemos la *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, las cuales son bacilos que pueden medir entre 0,5 y 1,5 micrometros de ancho por 24 micrómetros de largo. La mayoría son aerobios facultativos y crecen en medios de cultivo nutritivo. Se pueden encontrar en el tracto gastrointestinal (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009).

Resistencia bacteriana

Las bacterias por su capacidad de adaptación pueden desarrollar resistencia, debido a una serie de genes que suelen estar asociados a elementos genéticos transferibles. Por lo tanto las bacterias que obtienen estos elementos desarrollan un mecanismo de resistencia frente a los antibióticos. Existe una resistencia natural siendo propia de cada familia, especie o intrínseca donde la bacteria de una misma especie se vuelve resistente alguna de las familias de antibióticos, también se encuentra la resistencia adquirida que se modifica la carga genética de la bacteria, apareciendo por mutación cromosómica o por el mecanismo de transferencia genética, dándole la capacidad a la bacteria de resistir a varios antibióticos si tener contacto con ellos (Pérez y Robles, 2013).

Es por esto que las bacterias desarrollan un mecanismo de resistencia que impiden al antibiótico ejercer su mecanismo de acción, estos mecanismos son: la inactivación enzimática donde la enzima bacteriana puede hidrolizar o modificar un antibiótico manera que este no pueda llegar a su sitio de acción, otro mecanismo es la pared bacteriana donde las porinas sufren un cambio en el diámetro o en su número bloqueando el ingreso del antibiótico interior de la bacteria, también ocurre la modificación del sitio blanco en la cual una molécula que se une al antibiótico es modificada y disminuye la afinidad por el sitio de unión y por último la bomba de flujo donde las proteínas de membrana transportan metabolitos o compuestos tóxicos desde el interior al exterior reduciendo la concentración del antibiótico (Sussman, Matos y Restrepo, 2002).

Antibióticos

Son productos microbianos o sus derivados, que pueden destruir microorganismos susceptible o inhibir su crecimiento (Prescott, Harley y Klein, 2008).

Los antibióticos pueden clasificarse por clases, según sus propiedades, estructura química y mecanismo de acción, así como el tipo de bacterias sobre las que actúan. De acuerdo al organismo productor se clasifican en bacterianos, micóticos y actinomicóticos (Fisher y Dinuzzo, 1990).

En relación al espectro de acción encontramos los de más amplio espectro que afectan a un grupo grande de bacterias, también de corto espectro los cuales actúan específicamente para un grupo pequeño o una sola bacteria. Según su estructura química se pueden inhibir el metabolismo bacteriano de algunas de estas formas: inhibe la formación de la pared bacteriana, inhibiendo la síntesis proteica, también con la inhibición de la membrana citoplasmática, inhibiendo la duplicación del ADN y por ultimo con la inhibición de las vías metabólicas (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009).

Actividad antibacteriana

Es la capacidad de una bacteria de permanecer inmune a los efectos bactericida de un antibiótico (Rodríguez, Gamboa, Hernández y García, 2005).

Técnicas para determinar la actividad antibacteriana

Para evaluar y valorar la actividad antibacteriana de una sustancia de origen vegetal se emplean diferentes métodos, los cuales se rigen por diferentes factores como las técnicas de ensayo, el método de cultivo, el material biológico y vegetal (Rodríguez, Gamboa, Hernández y García, 2005).

Pruebas de difusión del disco en agar

En este método se utiliza un asa de siembra para inocular, en un tubo con medio de cultivo colonias aisladas del patógeno crecidas en una placa de agar. Se incuba el medio a 37 °C hasta que se logra obtener una turbidez,

luego se sumerge un hisopo de algodón estéril en la suspensión bacteriana y se comienza a inocular de forma homogénea toda la superficie de la placa de Petri con medio Müller-Hinton. Se deja secar por 5 minutos y se procede a colocar los discos de antibióticos con una pinza esterilizada, una vez colocados los discos se lleva a la estufa a 35 °C por 24 horas. Una vez que transcurrido este tiempo se procede a medir los halos de inhibición que se formaron en los discos (Prescott, Harley y Klein, 2008).

Pruebas por dilución en caldo

Se prepara una serie de tubos de caldo con concentraciones de antibiótico o el material vegetal de mayor a menor, luego se inocula la cepa o microorganismos que se desean a estudiar y el resultado se va a evidenciar por la ausencia de la turbidez, de acuerdo a esto se lograra obtener la concentración inhibitoria mínima donde se haya crecimiento del microorganismos (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2019).

Definición operacional de términos

Extractos:

Son compuestos químicos, obtenidos por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural (Lamarque, Zydalgo, Labuckas y Torres, 2008).

Plantas medicinales:

Cualquier especie vegetal que en una o más de sus partes contienen sustancias que pueden ser utilizadas con la finalidad de ayudar a prevenir, curar o aliviar cualquier enfermedad (Ugaz, 1994).

Principios activos:

Son aquellos componentes extraídos a partir de una fuente natural con la finalidad de provocar una acción en el organismo (Lamarque, Zydalgo, Labuckas y Torres, 2008).

Drogas vegetales:

Se les denomina así a las plantas o sus partes enteras, molidas o pulverizadas, las cuales pueden estar fresca o secas, y se utilizan en estado puro o mezcladas para elaborar medicamentos (Ugaz, 1994).

Rutas del mevalónico:

Se forman unidades de prenilo que tras uniones sucesivas conducen a isoprenoides (Marcano y Hasegawa, 2002).

Rutas del shikímico:

Se forman los aminoácidos y de ellos los otros compuestos aromáticos más complejos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Ruta del acetato:

Se forman los policétidos y ácidos grasos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Tinción de Gram:

Es una de tinción diferencial empleado que permite diferenciar rápida y fácilmente las bacterias según sus características morfológicas (Barrios, 1988).

Cepa:

Población de microorganismos que descienden de un único microorganismo o de un cultivo puro aislado (Prescott, Harley y Klein, 2008).

www.bdigital.ula.ve

Operacionalización de las variables

Tabla 1: Variable dependiente actividad antibacteriana del extracto de las flores de *Sambucus mexicanum*.

1. Variable	2. Tipo de variable	3. Definición de términos
Actividad antibacteriana del extracto de las flores de <i>Sambucus mexicanum</i>	Dependiente	Es el efecto que tiene un agente para eliminar o inhibir el crecimiento y proliferación de los microorganismos, sin dañar al huésped u organismo que lo porta (Prescott, Harley y Klein, 2008).
4. Definición operacional	5. Dimensiones	6. Indicador
Prueba de difusión en agar con discos.	Sensibles Intermedio Resistente	Dependerá de los halos de inhibición que presente el crecimiento bacteriano de cada cepa en mm.

Fuente: Rodríguez y Aparicio 2023

Tabla 2: Variable independiente Composición química del extracto de las flores del *Sambucus mexicanum*

1. Variable	2. Tipo de variable	3. Definición de términos
Composición química del extracto de las flores del <i>Sambucus mexicanum</i> .	Independiente	Son productos naturales o metabolitos secundario, los cuales se pueden encontrar en los extracto y en algunos casos no tiene utilidad para el ser que lo sintetiza (Marcano y Hasegawa, 2002).
4. Definición operacional	5. Dimensiones	6. Indicador
Son pruebas químicas cualitativas, las cuales pueden presentar la aparición de una coloración o precipitados, también son conocidas como Tamizaje fitoquímico.	Alcaloides Esteroles y/o Triterpenos Saponinas Compuestos fenólicos Taninos Flavonoides Quinonas y/o Antraquinonas Glicósidos cardiotónicos Cumarinas.	Alcaloide: Precipitado. Esteroles: Coloración azul. Triterpenos: Coloración violeta. Saponina: Espuma. Compuestos fenolicos: coloración azul. Taninos: precipitado Quinona y/o Antraquinona: Coloración roja Flavonoides: Colocación naranja Glucósidos carditónicos: coloración purpura Cumarinas: Fluorescencia azul-violeta

Fuente: Rodríguez y Aparicio 2023.

Hipótesis

Los estudios previos reportan que varias especies del género *Sambucus* han reportado actividad antibacteriana, por lo cual es de esperarse que los extractos de las flores de *Sambucus mexicanum* presente dicha actividad.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Hurtado (2010), el tipo de investigación tiene relación con la interrogante de estudios en el cual se resalta lo que se quiere saber. Pues, esto marca el logro general que se desea conseguir durante el proceso de la investigación. Por tal motivo, esta investigación es confirmatoria, puesto que busca confirmar la relación entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos de las flores del *Sambucus mexicanum*.

www.bdigital.ula.ve

Diseño de la Investigación

Según Hurtado (2010), describió que el diseño de investigación se debe determinar a través de las estrategias que se implementarán para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber. En tal sentido, esta investigación tuvo un diseño experimental, porque la especie vegetal fue sometida a ciertos estímulos o tratamientos para observar los efectos o reacciones que se producen. El diseño de investigación experimental es explicativo, cuyo propósito es demostrar que los cambios que presenta la variable dependiente son causados por la variable independiente. Este estudio se realizó en un tiempo determinado, por lo tanto es una investigación de diseño transversal, dado a que los datos fueron

recolectados en un solo momento y en un tiempo único (Hernández, Fernández y Baptista, 2010).

Población y Muestra

Unidad de Investigación

El grupo de estudio estuvo representado por la especie vegetal *Sambucus mexicanum*.

Selección del Tamaño Muestra

La muestra estuvo integrada por la recolección de 500 gramos de flores fresca de la especie vegetal *Sambucus mexicanum*.

www.bdigital.ula.ve

Sistema de Variables

Las variables que guardan relación con el propósito de esta investigación fueron las siguientes: la variable dependiente es la actividad antibacteriana del extracto de las flores de *Sambucus mexicanum*. Mientras la variable independiente es la composición química de los extractos de las flores de *Sambucus mexicanum*.

Instrumento de Recolección de Datos

Un instrumento de recolección de datos es cualquier recurso, dispositivo o formato (en papel o digital), que se utiliza para obtener, registrar o almacenar información, mediante formularios, hojas de datos, fotografías, tablas, gráficos (Arias y Fideas, 2006).

Los instrumentos que se utilizaron para la recolección de datos fueron fotografías y tablas donde se registraron los resultados de la composición química y actividad antibacteriana del extracto a estudiar.

Metodología de la Investigación

Recolección del Material Vegetal

Las flores frescas de *Sambucus mexicanum* fueron recolectadas en la localidad de Nueva Bolivia Sector Francisco de Miranda, estado Mérida. La especie fue identificada por el Profesor Pablo Meléndez en el Herbario MERF, de la facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo el Voucher N° MR01.

Preparación de Extractos

Se procedió al secado 500 gramos de las flores de la especie en la estufa a temperatura de 40 °C. Posteriormente se trituro con la ayuda de un molino. Con el material vegetal seco y molido, se procedió a realizar mediante la técnica de reflujo una mezcla entre las flores y los solventes hexano y etanol, durante una hora. Una vez transcurrido este tiempo se filtró y se llevó a un rotavapor para obtener los extractos secos, dejándolo en una estufa a 40 °C para su posterior análisis.

La obtención del extracto se obtuvo en el Laboratorio A de Productos naturales del Instituto de Investigaciones, bajo la asesoría de Dra. Rosa Aparicio y el Auxiliar de laboratorio Emilio Salazar.

Tamizaje fitoquímico del extracto de las flores del *Sambucus mexicanum*

Para determinar la presencia de fitoquímicos en los extractos de las flores de *sambucus mexicanum* se efectuó una serie de pruebas químicas cualitativas para lograr la identificación de los mismos. Entre estas pruebas se encuentran:

Ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner (Alcaloides): Se tomó una alícuota del extracto seco (100,0 mg) y se le añadió en 5-10 mL de HCL al 10 %, se coloca en ultrasonido y luego se calienta en baño de María por 5 minutos, se enfrió y se filtró. Posteriormente se dividió el filtrado en 3 tubos (1,0 mL) de ensayo para cada reactivo. Se adicionó en el respectivo tubo el reactivo de Mayer, Wagner o Dragendorff, la aparición de un precipitado o turbidez indica la presencia de alcaloides (Domínguez, 1979).

Ensayo de Liebermann-Burchard (Terpenos y/o Esteroides): para el desarrollo de esta prueba, en dos tubos de ensayos limpios, secos y debidamente identificados, se tomó pequeñas cantidades de los extractos previamente llevados a sequedad, y se adicionaron 0,5 mL de solución clorofórmica anhidra, para luego añadir 0,5 mL de anhídrido acético y cuidadosamente por la pared del tubo una gota de ácido sulfúrico concentrado. Se considera positiva la prueba si aparecen coloraciones rojas, verdes o azuladas (Domínguez, 1979).

Ensayo de Shinoda (Flavonoides): se procede a tomar 1,0 mL del extracto, se añadió algunas limaduras de magnesio (Mg), luego se adicionó cuidadosamente por la pared del tubo unas gotas de HCL concentrado. Si hay aparición de coloraciones naranja o violeta, se considera la prueba como positiva (Domínguez, 1979).

Ensayo con FeCl₃ (Compuestos fenólicos): la muestra se disolvió en agua y se le añaden unas gotas de solución de cloruro de hierro (III) diluido. La formación de una coloración roja, azul, verde, o púrpura indica la presencia de fenoles (Domínguez, 1979).

Ensayo de gelatina al 1 % (Taninos): se disolvió la muestra en agua y se adicionó 2 gotas de reactivo de gelatina. Si hay la formación de un precipitado blanco indica la presencia de taninos (Domínguez, 1979).

Ensayo con hidróxido de amonio (Cumarinas): Se concentró una porción del extracto y se le adicionó 0,5 mL de etanol y dos gotas de hidróxido de amonio concentrado. Se considera positiva la prueba si se presenta una fluorescencia azul-violeta bajo la luz UV (Domínguez, 1979).

Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5 % (Quinonas): En un tubo de ensayo se colocó 10 mg de la muestra, 0,2 mL de etanol y 0,4 mL de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5 %. Si se observa que hay formación de coloración roja, indica la positividad de la prueba (Domínguez, 1979).

Prueba de altura y estabilidad de espuma (Saponinas): En cada tubo de ensayo se colocó 1,0 mL de cada extracto, luego se agitó vigorosamente y se observa si hay presencia de espuma a la altura de los ojos. Se considera positiva la prueba si la espuma alcanza una altura de 8 a 10 mm y se mantiene por 30 minutos (Domínguez, 1979).

Prueba de glicósidos cardiotónicos: Se reparó en un tubo de 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado; en otro tubo colocar el extracto con 2,5 mL de agua, adicionar 1 mL de ácido acético glacial y adicionar una gota de tricloruro férrico, se mezcló y se adicionó al tubo con ácido sulfúrico previamente preparado. La presencia de un anillo marrón es indica positividad del ensayo (Bulugahapitiya, 2013).

Determinación de la actividad antibacteriana del extracto de las flores de *sambucus mexicanum*.

La actividad antibacteriana se llevó a cabo de acuerdo con el ensayo de difusión en disco, descrita por Velasco, Rojas, Salazar, Rodríguez, Díaz, Morales y Rondón, 2007. Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Actinomicetos del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo la asesoría de la Prof. Yndra Cordero, Prof. Ysbelia Obregón y la colaboración del auxiliar de Laboratorio José Emilio Salazar.

Preparación de las Muestras

Se trabajó con el extracto de etanol, realizando un screening a una concentración de 10 mg/mL (10000 ppm). El solvente que se utilizó fue dimetilsulfóxido (DMSO).

Microorganismos a Evaluar

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

Actividad antibacteriana

Se evaluó la actividad antibacteriana del extracto de las flores de *Sambucus mexicanum*, mediante el método de Kirby-Bauer (Difusión en agar con disco) este método es cualitativo y cuantitativo y sus resultados se pueden interpretar únicamente con el diámetro del área de inhibición

alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de Sensible (S), Intermedio (I) o Resistente (R) y está diseñado específicamente para bacterias de crecimiento rápido ().

Método de difusión en agar con disco

Preparación de los inoculo bacteriano

El inoculo de cada cepa se preparó a partir de un cultivo puro y fresco de 16-18 horas, provenientes de un medio de cultivo básico Brain Heart infusión (BHI) y se suspendió en 5 mL de solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0,85 %) estéril, se ajustó visualmente hasta alcanzar la turbidez equivalente al patrón 0,5 Mc Farland (10^{6-8} UFC/mL).

Preparación de los discos

Se utilizó discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro estériles a la luz ultravioleta 24 h antes de realizar el ensayo antibacteriano. Cada disco se impregnó con 10 μ L del extracto de etanol, a su vez el disco del antibiótico comercial como control positivo, dependiendo de la cepa en estudio que se utilizó Piperacilina 100 μ g (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *K. pneumonia*), Eritromicina 15 μ g (*S. aureus*), Ampicilina 10 μ g (*E. faecalis*) y dimetilsulfóxido (DMSO) como control negativo.

Preparación de las placas e inoculación

Se utilizó 20 mL de agar Müeller-Hinton. Posteriormente las placas se dejaron solidificar a temperatura ambiente, luego se realizó el control de esterilidad y se conservaron a 4 °C hasta su uso. Las placas Müeller Hinton se sembraron de forma homogénea con el inoculo previamente preparado, utilizando para ello, un hisopo estéril impregnado y una pinza estéril, luego se colocaron los discos de papel de filtro en el agar y se impregnaron con los

extracto, los controles positivos y negativos. Se dejó a temperatura ambiente por 30 min y se incubó a 37 °C por 24 h. Esto con la finalidad de determinar si el extracto de etanol de las flores de *Sambucus mexicanum*, tiene actividad antibacteriana, lo cual se determinó con la formación de un halo de inhibición alrededor del disco. Este ensayo se realizó por duplicado.

Diseño de Análisis

Existen dos tipos de enfoques de investigación: cualitativo y cuantitativo. La metodología cuantitativa se basa en los métodos de recolección de datos con medición numérica y análisis matemático (Arias y Fideas, 2006). Por consiguiente, esta investigación tendrá un enfoque cuantitativo debido a que se analizarán numéricamente los datos recolectados de la unidad de estudio con el fin de medir la actividad antibacteriana a partir del extracto de las flores de *Sambucus mexicanum*.

CAPÍTULO IV

RESULTADO Y DISCUSIÓN

RESULTADOS

Una vez que se realizó la extracción de reflujo a las flores de *Sambucus mexicanum*, obtuvimos los extractos, los cuales presentaron las siguientes características macroscópicas (tabla 3):

Tabla N°3. Características físicas del extracto de hexano y etanol del *Sambucus mexicanum*.

Características	Extracto de hexano	Extracto de etanol
Aspectos	Viscoso	Homogéneo
Color	Verde oscuro	Verde oscuro
Olor	Característico	Característico
Peso de material seco	7,81 g	7,81 g
Peso del extracto	0,19 g	0,80 g
% de Rendimiento	2,43 %	10,2 %

Tamizaje fitoquímico

El análisis fitoquímico del extracto obtenido de las flores de *Sambucus mexicanum*, se realizó mediante pruebas químicas los cuales al entrar en contacto con diversos reactivos se observó una reacción de coloración o precipitación que determinó la presencia o ausencia de ciertos metabolitos secundarios. A través de pruebas químicas de coloración y/o precipitación se logró comprobar la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y

esteroles y/o triterpenos. Los cuáles serán presentados en la tabla 4 (Figura 13):

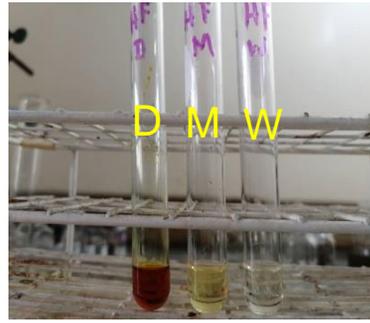
Tabla N°4. Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de las flores de hexano y etanol del *Sambucus mexicanum*.

Metabolito	Prueba	Extracto de hexano	Extracto de Etanol
		Flores	
Alcaloides	Dragendorff	-	+
	Mayer	-	-
	Wagner	-	-
Esteroles y Triterpenos	Ensayo de Liebermann-Burchard	-	++
Saponinas	Prueba de altura y estabilidad de espuma	-	-
Compuestos fenólicos	Ensayo con FeCl ₃	-	+++
Taninos	Ensayo de gelatina al 1 %	-	-
Flavonoides	Ensayo de Shinoda	-	++
Quinonas y/o Antraquinonas	Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5 %	+	-
Cumarinas	Ensayo con hidróxido de amonio	-	-
Glicósidos cardiotónicos	Prueba de glicósidos cardiotónicos	-	-

(+): Presencia. (+++): Abundante. (-): Ausencia.

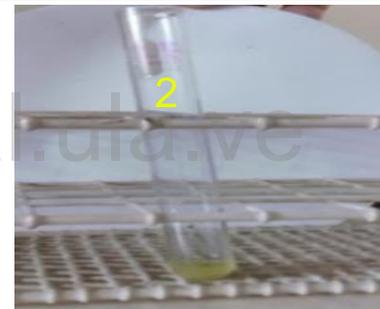
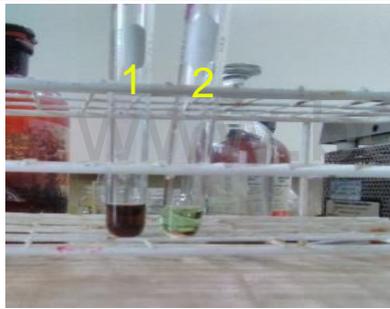
Figura 13. Tamizaje fitoquímico de los extractos de las flores de hexano y etanol del *Sambucus mexicanum*

Alcaloides (Draguendorff, Mayer y Wagner)



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

Saponinas (Prueba de altura y estabilidad de espuma)



Compuestos fenólicos (Ensayo con FeCl₃)

Taninos (Ensayo de gelatina al 1 %)

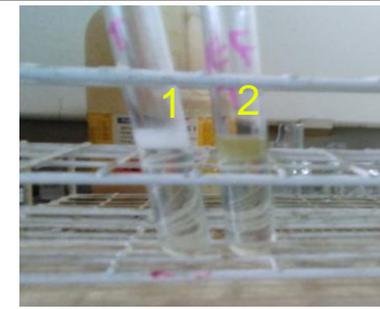
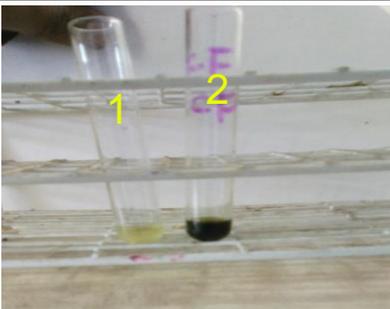
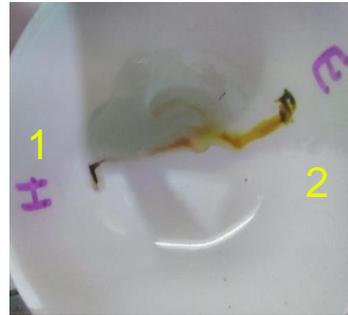
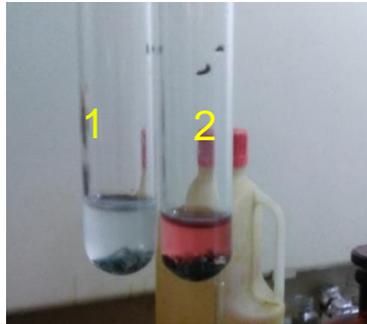


Figura 13. Tamizaje fitoquímico de los extractos de las flores de hexano y etanol del *Sambucus mexicanum* (Continuacion)

Flavonoides (Ensayo de Shinoda)	Quinonas (Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5 %)
---	--



Antraquinonas (Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5 %)	Cumarinas (Ensayo con hidróxido de amonio)
---	---



Prueba de glicósidos cardiotónicos



1: Extracto de Hexano. **2:** Extracto de Etanol

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana fue evaluada mediante la técnica de difusión en agar con discos impregnados del extracto de etanol obtenidos de las flores de *Sambucus mexicanum*, para determinar la resistencia que podían presentar bacterias Gram negativas como las Gram positivas, de tal manera que una sola bacteria presento sensibilidad a los extractos de etanol de la flor obteniendo así los siguientes resultados (Tabla 5) (figura 14).

Tabla N°5. Actividad antibacteriana del extracto de etanol de las flores de *Sambucus mexicanum*

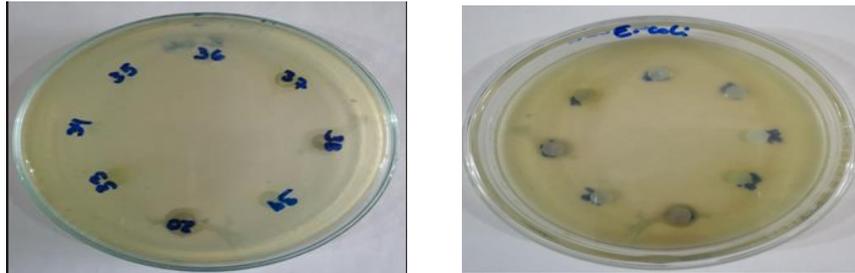
Halo de Inhibición (mm*)				
Microorganismos	Extracto (10 mg/mL)	Antibiótico		
	SMFet	PIP	AMP	ERI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	26*
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	-	17*	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	-	18*	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7*	21*	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	32*	-	-

Leyenda: SMFet: *Sambucus mexicanum*, Flores etanol. PIP:

Piperacilina® 100 µg; **AMP:** Ampicilina® 10 µg; **ERI:** Eritromicina® 15 µg;

ppm: partes por millón; **mm*:** Milímetros.

Figura 14. Actividad antibacteriana del extracto de etanol de las flores de *Sambucus mexicanum*



Halos de inhibición del extracto etanol de las flores de *Sambucus mexicanum* muestra N° 39

www.bdigital.ula.ve

DISCUSIÓN

Existe una creciente búsqueda para encontrar soluciones a la resistencia antibacteriana que presentan algunos microorganismos, una alternativa son las plantas, por poseer propiedades que puedan tener una actividad antibacteriana, es por eso que se realizó un estudio a los metabolitos presentes en el extracto de las flores *Sambucus mexicanum* obteniendo como resultado a través del análisis fitoquímico del extracto de hexano se observó quinonas, y en el extracto de etanol la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos (ver tabla 2), estos resultados se compararon con los estudios de Lozano (2019) en el cual logró identificar en las hojas alcaloides, compuestos fenólicos y triterpenos, mientras que en el tallo identificaron triterpenos, flavonoides suaves y compuestos fenólicos, en las flores observaron la presencia de alcaloides, triterpenos, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, aunque se puede observar una variación en los resultados obtenidos del análisis fitoquímico del extracto de etanol, ya que en esta investigación no se reportan taninos pero sí se identifican quinonas en el extracto de hexano. La variación que se presentó pudo deberse a los cambios climáticos, a la recolección de las flores en años diferentes, en la manipulación y traslado todo esto pudo afectar en los resultados.

En relación a la actividad antibacteriana del extracto de etanol de las flores de *Sambucus mexicanum* se realizó mediante el método de difusión en agar con disco a una concentración de 10 mg/mL, en la cual mostró sensibilidad hacia *Escherichia coli* con un halo de inhibición de 7 mm y resistencia hacia *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. En la investigación realizada por Lozano (2019), utilizando el método de difusión en agar con disco a una misma concentración de (10mg/mL) frente *Klebsiella pneumoniae*,

Escherichia coli, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, reportó que el extracto de etanol de las hojas mostró actividad antibacteriana sobre cuatro de las bacterias con un halo de inhibición de 7 a 10 mm, excepto para *Enterococcus faecalis*. En el caso del extracto de etanol del tallo muestra sensibilidad a solo tres bacterias con un halo de inhibición de 7 a 9 mm, menos para *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Mientras que el extracto de etanol de las flores presentó actividad sobre *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* con un halo de inhibición de 7 a 9 mm, mostrando resistencia para *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Al comparar ambos estudios se observó que actividad antibacteriana dio solo en *Escherichia coli*, esto puede deberse a que los compuestos reportados son polares y son retenidos en el papel por lo cual no difunden y no está dando una buena actividad.

En el estudio publicado por Bravo y Díaz (2021) solo presentó sensibilidad para *Staphylococcus aureus* en el extracto de etanol al 100 % (16,65 mm) y al 50 % (15,4 mm), esto fue realizado por el método de difusión en pozo, por otro lado Rodríguez, Gamarra y Pérez (2020), determinó a través del tamizaje fitoquímico la presencia de esteroides, flavonoides, taninos y antocianinas en los extractos acuosos, hidroalcohólico y etanol, en cuanto la actividad tuvo sensibilidad para *Pseudomonas aeruginosa* (7 mm), mientras que Ferreira, Badim, Salvador, Silvestre, Santos y cols., (2021) determinó actividad antimicrobiana, mediante la concentración mínima bactericida y fungicida por el método de microdilución, obteniendo sensibilidad para *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* a una concentración de 8,3 y 4,1 mg/mL y con respecto a las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella pneumoniae*, la concentración que presentó la actividad del extracto fue mayor a 33,0 mg/mL para cada bacteria. Aunque el análisis fitoquímico determinó compuestos fenólicos,

flavonoides y triterpenos en ambos estudios, en cuanto a la actividad antibacteriana hubo una diferencia en cuanto al resultado, debido que se observó sensibilidad a la cepa *Escherichia coli* con un halo de inhibición de 7 mm, y resistencia a *Staphylococcus aureus*.

Las plantas contiene una variedad de compuestos de bajo peso molecular conocido como metabolitos secundarios entre ellos tenemos los compuestos fenólicos, flavonoides, terpenos, alcaloides, entre otros, los cuales utilizan para defenderse de microorganismos, estos compuestos presentar actividad antibacteriana frente bacterias Gram positivas y Gram negativas, permitiendo inhibir la formación de la pared celular, atacar la bicapa de los fosfolípidos, comprometer el material genético de las bacterias, formar complejos solubles o extrasolubles, también afecta la inhibición enzimática de los microorganismo (Domingo y López-Brea, 2003). Existen microorganismo con compuestos antipáticos que actúan como auténticas bomba de expulsión de un amplio espectro de sustancias que poseen actividad antimicrobiana, la utilización de inhibidores de esta bomba, ponen en manifiesto el papel de estas bombas. Este hecho corrobora que la mayorías de los patógenos que invaden las plantas, son bacterias Gram negativas y en menor escala bacterias Gram positivas cuya pared celular es más accesible a las sustancias generadas por las plantas (Domingo y López-Brea, 2003).

En la búsqueda realizada no se hallaron registros sobre si las flores presentaban dicha actividad. Esta investigación proporciona un aporte a la fitoquímica y a la actividad antibacteriana que presenta la flor de dicha especie.

CAPÍTULO V

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIÓN

El análisis fitoquímico preliminar de la flor del *Sambucus mexicanum* permitió comprobar la presencia de alcaloides (Dragendorff), flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos en los extractos de etanol y quinonas en el extracto de hexano siendo el extracto de etanol el que presentó mayor proporción de compuestos químicos.

El extracto de etanol de las flores de *Sambucus mexicanum* tuvo actividad antibacteriana contra la bacteria de *Escherichia coli* con un halo de inhibición de 7 mm a una concentración de 10 mg/mL. Aunque no hubo inhibición sobre *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

El *Sambucus mexicanum* sería una alternativa para ser utilizada contra enfermedades producidas por microorganismos, por lo que se debería realizar estudios fitoquímicos más profundos a los metabolitos presente en las diferentes partes de la planta, para luego realizar una actividad antibacteriana con la finalidad de aportar nuevos conocimientos para la realización de tratamientos alternativos que ayuden a la salud de la población.

RECOMENDACIONES

Realizar al extracto de etanol de las flores de *Sambucus mexicanum* un estudio más profundo para determinar la presencia de otros metabolitos.

Realizar estudios en el que se identifique el mecanismo de acción de los metabolitos que producen efectos antibacterianos del extracto de etanol de las flores de *Sambucus mexicanum*.

Determinar la concentración mínima de los extractos hexano y etanol que presenten sensibilidad a la actividad antibacteriana de las flores de *Sambucus mexicanum*.

Aislar e identificar los metabolitos que presentan los extractos de hexano y etanol de las partes estudiadas u otras partes de la planta que presentan actividad antibacteriana.

Obtener los extractos del tallo de *Sambucus mexicanum* y realizarle actividad antibacteriana.

Se recomienda realizar una evaluación de la actividad antiinflamatoria, antifúngica y antioxidante de las flores del *Sambucus mexicanum*.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Abdramanov, A., Massanyi, P., Sarsembayeva, N., Usenbayev, A., Alimov, J., y Tvrda E. (2021). The *in vitro* effect of elderberry (*Sambucus nigra*) extracto in the activity and oxidative profile of bovine spermatozoa. Revista Journal of Microbiology Biotechnology and Food Science. 6: 1319-1322.
- Abella, I. (2000). La Magia de los Arboles (tercera edición). Asturias: Integral.
- Acharya, J., Mukherjee A. (2014). An account of *Sambucus* L. in the Himalayan regions of India. India, Revista Life Sci; 4:77.
- Albornoz, A. (1980). Productos naturales: Estudio de las sustancias y drogas extraídas de las plantas. Publicación de la Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Álzate, F., Idarraga, A., Díaz, O., Rodríguez, W. (2013). Flora de los bosques montanos de Medellín. Programa expedición Antioquia, series biodiversidad y recursos naturales. Alcaldía de Medellín. Universidad de Antioquia. Publicado por Agrosavia.
- Amaguaña, F. y Churuchumbi, E. (2018). Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula (*Calendula officinalis*). (Tesis de grado). Quito, Universidad Politécnica Salesiana sede Quito.
- Amini, E., Narsollahi, F., Sattarian, A., Isazadeh, M., y Habibi, M. (2019). Systemaic and molecular biological study of *Sambucus* L. (Caprifoliaceae) in Iran. Thaiszia J. Revista sudamericana de botánica; 29:133-150.
- Arias y Fideas G. (2006). El Proyecto de investigación. Introducción a la Metodología Científica (5ta edición). Caracas- Venezuela: Editorial Episteme C.A.

- Aricapa, D. (2009). Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos. Pontificia Universidad Javeriana (Tesis de grado). Facultad de Ciencias. Bogotá Colombia
- Ávalos., y Pérez, E., (2009). Metabolismo secundario de plantas. Revista Reduca; 2:119-145.
- Avellaneda, M., y Pecho E. (2001). Estudio de la resistencia a los antibacterianos en el centro Médico Naval de enero a diciembre del 2000. (Tesis de grado), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.
- Ayala, F. (2003). Taxonomía vegetal. Gimnospermae y Angiospermae de la Amazonia peruana. Revista Folia amazónica; 1: 2.
- Azcón, J. y Talón, M. (2000). Fundamentos de fisiología vegetal. Buenos Aires, Argentina: Editorial McGraw Bogotá.
- Barrios, A. (1988). Bacteriología y virología básica .1º edición. Mérida-Venezuela: editorial venezolana.
- Blanco, G. Chamarro, D., y Arreaza, L. (2005). Predicción de la respuesta productiva en bovinos lecheros suplementados con ensilaje de *Sambucus peruviana*, *Acacia decurrens*, *Avena sativa* usando el modelo cornel net carbohydrate and protein system (CNPS) en Colombia. Revista Corpoica; 6:86.
- Botero, H. (2011). Plantas medicinales, pasado y presente. Corporación autónoma regional del centro de Antioquia- Corantioquia. Medellín, Colombia.
- Bravo, G. y Díaz, R. (2021). Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Sambucus nigra* (sauco) frente *Staphylococcus aureus*. (Tesis de grado). Facultad de ciencias de la salud, Universidad Roosevelt. Perú.

- Bruneton, J. (2001). Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas medicinales. (2° edición). España. Editorial Acribia S.A.
- Bulugahapitiya, V. (2013). Plants based natural products extraction, isolation and phytochemical screening methods (1ra. ed.). Matara, Sri Lanka: Indika Graphics.
- Caccia, S. (2005). Antidepressant-Like Components of *Hypericum perforatum* Extracts: An Overview of Their Pharmacokinetics and Metabolism. Current Drug Metabolism, Revista Científica Bogotá. 6:531-543
- Cáceres, A. (2003.). Vademecum nacional de plantas medicinales. Guatemala, Editorial Universitaria. Universidad San Carlos de Guatemala, Comisión Nacional para el Aprovechamiento de Plantas Medicinales (CONAPLAMED), Laboratorio Fitofarmacéutico Farmaya, Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED).
- Calderón, G. (2021). Evaluación de la actividad antioxidante de las inflorescencias de *Sambucus nigra* que crece en tres ambientes distintos en la provincia de Pichincha. (Tesis de grado). Facultad de Ciencias Química, Universidad Central del Ecuador.
- Calixto, M. (2006). Plantas medicinales utilizadas en odontología. Revista Kiru, 3:80-85.
- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra N. y Rueda, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupata (*Strychnos schultesiana krukoff*). Revista Colombia Forestal. 12:161-170.
- Castillo, E., y Martínez, I. (2007). Manual de fitoterapia. Editorial Elsevier, 3era edición, España.
- Díaz, J. (2003). Caracterización del mercado Colombiano de plantas medicinales y aromáticas. Instituto Alexander Von Humboldt. El

- Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogotá D.C., Colombia.
- Domingo, D. y López-Brea, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. Servicio de microbiología. Hospital Universitario de la Princesa, Madrid, Revista Española Quimioterapia; 16:386-387.
- Domínguez, X. (1973). Métodos de Investigación Fitoquímica. (1° edición). México. Editorial Limusa.
- Escudero, M. (2012). Las plantas medicinales de extractos. Bases para un plan de desarrollo del sector. Fundación Alfonso Martín Escudero. Editorial Mundi prensa, 1^{era} edición, España.
- Evangelista, Z. y Moreno, A. (2016). Metabolitos secundarios de importancia farmacéutica producidos por Actinomicetos. Revista BioTecnología; 11:37-40.
- Ferreira, P., Badim, H., Salvador, A., Silvestre, A., Santos, S., Rocha, S., Sousa, A., Pereira, M., Pereira, C., Rocha, C., Teixeira, J., y Botelho, C. (2021). Chemical characterization of *Sambucus nigra* L. flowers aqueous extract and its biological implications. Biomolecules; 11: 1222-1244.
- Fisher, N. y Dinuzzo, A. (1990). Agglutination of bacteria and erythrocytes by serum from six species marine. Journals of invertebrate pathology; 50:230-265.
- Fonnegra, R., y Jiménez, S. (2006). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Medellín. Editorial Universidad de Antioquia. Segunda Edición.
- Font Quer, P. (1990). Plantas Medicinales. (2^a edición). Barcelona, España: Editorial Labor, S.A.
- Galindo, M. (2003). Dendrología y propagación vegetativa de "Saúco" *Sambucus peruviana* H.B.K con muestras tomadas a tres niveles de la rama. (Tesis grado). Forestal. Lima, Perú. UNALM.

- Grajales, B., Botero, M., y Ramírez, J. (2015). Características, manejo, usos y beneficios del saúco (*Sambucus nigra* L.) con énfasis en su implementación en sistemas silvopastoriles del Trópico Alto. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*; 6:154-164.
- Guerra, E. (2005). Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tintura del rizoma y en la fronda de *Calahuala* (*Phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio. (Tesis de grado). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista P. (2010). Metodología de la investigación. (5ª ed.). México: McGrawHill.
- Herrera, S. y Shiary, L. (2019). Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (sauco) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. (Tesis de grado). Peru: Universidad Señor de Sipan. Facultad de Ciencias de la Salud.
- Hurtado, H. (2010). El Proyecto de Investigación. Comprensión Holística de la Metodología y la Investigación. (6ª Ed). Caracas, Venezuela.
- Koser, C., Ellongtón, M., Gillespie, S., Brown, N., y Farrington, M. (2012). Routine use of microbial whole genome sequencing in diagnostic and public health microbiology. *Revista Public Library of Science*; 8:1-9.
- Kuklinski, K. (2003). Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega.
- Lamarque, A., Zydalgo, J., Labuckas, D. y Torres, M. (2008). *Extracción de compuestos orgánicos*. Fundamentos teórico - prácticos de química orgánica. Editorial: encuentro, Argentina.
- Lozano, L. (2019). Composición Química y Actividad Antibacteriana de los extractos de *Sambucus mexicanum*. (Tesis de grado). Mérida: Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de los Andes.

- Marcano, D., y Hasegawa, M. (2002). Fitoquímica Orgánica. Universidad Central de Venezuela.
- Miranda, M. y Cuellar, A. (2001). Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana, Cuba: Editorial Félix Varela.
- Muñoz, F. (2002). Plantas medicinales y aromáticas. Barcelona: Ediciones Mundi-prensa.
- Murray, P., Rosenthal, K., Pfaller, M. (2009). Microbiología Médica. (5ª Edición). España: Elsevier.
- Orantes, E. (2008). "Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri* Standley subsp. izabalensisw.s. Alverson ex Véliz (Bombacaceae). (Tesis de grado).Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Osorio, E. (2009). Aspectos básicos de farmacognosia. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
- Pahlow, M. (1985). El gran libro de las plantas medicinales, Salud a través de las fuerzas curativas de la naturaleza. España. Editorial EVEREST S.A, Séptima Edición.
- Pérez, H., y Robles, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana recuperada revista en línea. Revista médica; 4:186-191.
- Perry, N., Blunt, J., y Munro, M. (1991). Cytotoxic and antifungal 1,4-naphthoquinone and related compounds from a New Zeland brown alga, *Landsburgia quercifolia*. Revista Journal of Natural Products, 54:978-985.
- Pinedo, R. (2012). Compendio de química orgánica experimental I. (1º Edición). Lima, Perú. Editorial Universitaria.
- Prescott, L., Harley, J., y Klein, D. (2008). Microbiología. Séptima edición. España: McGrawhil.

- Prieto, S., Garrido, G., González, J., y Molina, J. (2004). Actualidad de la medicina tradicional herbolaria. *Revista CENIC: Ciencias Biológicas*; 35:19-35.
- Rodríguez, E., Gamboa, M., Hernández, F., y García, J. (2005). *Bacteriología general principios y prácticas de laboratorio*. Costa Rica. Editorial Universidad de Costa Rica.
- Rodríguez, M., Gamarra, O. y Pérez, F. (2020). Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de seis plantas medicinales usadas en Amazonas. *Revista Medicina Naturalista*; 5:32-35.
- Sánchez, L., Amado, G., Criollo, P., Carvajal, T., Roa, J., Cuesta, A., Conde, A., Umana, A., Bernal, L. y Barreto, L. (2010). *El Sauco (Sambucus nigra L) como alternativa silvopastoril en el manejo sostenible de praderas en el trópico alto Colombiano (primera edición)*. Colombia.
- Santana, R. (2014). Evaluación de métodos de extracción y dosis de aplicación de cola de caballo (*Equisetum arvense*) para el control ecológico de roya (*Puccinia* sp) en el cultivo de cebolla blanca (*Allium fistulosum*) (tesis de grado). Universidad Técnica de Ambato. Ecuador
- Sussman, A., Matos, L. y Restrepo, A. (2002). Resistencia bacteriana. *Universitas medica*. 43:91-96.
- Torres, H. (2012). Espectro de inhibición de bacterias aisladas de muestras clínicas por cinco especies de plantas con actividad antimicrobiana. (Tesis de grado). Universidad de San Carlos de Guatemala- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Consulta: 07/10/2020. <http://www.tropicos.org>
- Ugaz, O. (2003). Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios. *Manual de fitoterapia*. Perú. Editorial Pontificia de la Universidad Católica del Perú.

- Ugaz, O. (1994). Investigación Fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. Perú. Editorial pontificia de la Universidad Católica del Perú. 2da Edición.
- Valcargel, M. y Gómez A. (1988). Técnicas analíticas de separación. Barcelona. 1era Edición. Editorial Reverte.
- Velasco, J., Rojas, J., Salazar, P., Rodríguez, M., Díaz, A. Morales, A. y Rondon, M. (2007). Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Lippia oreganoides* against multiresistant bacterial strains of nosocomial origin. *Revista Product Communications*. 2:85-88.
- Verberic, R, Jakopic, J, Stampar, F, Schmitzer, V. (2009) European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. *Food Chemistry*; 114:511-515.
- Volk, W. (1996). Microbiología básica (7 ed). México: Harla, S.A.
- Waizel, J. y Waizel, S. (2005). Algunas plantas utilizadas popularmente en el tratamiento de enfermedades respiratorias. *Medigraphic*; 50:76-87.
- White, L., Foster, S., Staf, H., y For, H. (2004). El Recetario Herbario: Las mejores alternativas naturales a los medicamentos. Emmaus PA: Rodale Books. Estados Unidos.