



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



Composición Química y Actividad Antibacteriana de los Extractos de
Buddleja americana

www.bdigital.ula.ve

Autor:

Miguel A. Vivas Zamora

C.I. 25.167.258

Tutora:

Dra. Yndra Cordero

Mérida, marzo 2024



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



Composición Química y Actividad Antibacteriana de los Extractos de
Buddleja americana

www.bdigital.ula.ve

Trabajo presentado como requisito para optar al grado de Licenciado en
Bioanálisis.

Autor:

Miguel A. Vivas Zamora
C.I. 25.167.258

Tutora:

Dra. Yndra Cordero

Mérida, marzo 202

DEDICATORIA

Dedico este gran logro a:

Mis padres Miguel y Zayda, quienes fueron mi mayor apoyo en tiempos difíciles, por siempre estar presentes y darme esa fuerza de seguir adelante y nunca desistir, por escucharme y darme tantos consejos valiosos.

A mi hermano Fabián, por impulsarme a luchar por mis sueños y culminar esta etapa, tu sabiduría y apoyo estuvieron presentes desde el principio.

¡Este logro es también de ustedes!

www.bdigital.ula.ve **Miguel Arc. Vivas Zamora**

AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a la vida por cada lección que me da y que me permite seguir aprendiendo.

Agradezco a Dios por todas las bendiciones recibidas a lo largo de este camino, por darme fuerzas para superar todos los obstáculos y miedos, afrontándolos con salud, valentía y perseverancia.

Agradezco enormemente a mis padres y a mi hermano, desde el comienzo fueron ese apoyo vital para poder concretar este gran logro.

A mi primo Daniel, siempre estaré agradecido, tu apoyo desde el inicio de este largo camino me permitió obtener estos logros.

Mi gratitud con la profesora Yndra Cordero, gracias por aceptar ser mi tutora, guiarme y orientarme durante todo el desarrollo de esta investigación; a las profesoras Ysbelia Obregón y Rosa Aparicio, gracias por sus correcciones y sugerencias, por su dedicación, paciencia y por luchar en mantener abiertas las posibilidades de hacer investigación en estos tiempos difíciles que atraviesa nuestra casa de estudios.

Agradecido con Bianna Briceño por su aporte y apoyo en el desarrollo de esta investigación.

Al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis “Dr. Alfredo Usubillaga del Hierro”, por abrirme las puertas para poder ejecutar esta investigación.

A mis amigos, Jesús, Yorman y Sinaí, gracias por siempre estar presentes, con palabras de aliento y apoyo.

A todos los profesores con los que tuve el honor de compartir, gracias por todos los conocimientos brindados, por sus consejos y por ayudarme a forjar las bases profesionales y personales.

¡Gracias a todos!

Miguel Arc. Vivas Zamora

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
VEREDICTO	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema.....	3
Justificación e Importancia de la Investigación.....	5
Objetivos de la Investigación	6
Objetivo General	6
Objetivos Específicos	6
Alcances y Limitaciones de la Investigación	7
Alcance de la Investigación.....	7
Limitaciones de la Investigación.....	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	8
Trabajos Previos	8
Antecedentes Históricos o Epistemológicos	11
Bases Teóricas	12
Familia Scrophulariaceae	12
Género <i>Buddleja</i>	15
Especie <i>Buddleja americana</i>	21
Productos Naturalesp.....	24
Terpenoides	26
Compuestos fenólicos	26

ÍNDICE DE CONTENIDO (Continuación)

	Pág.
Flavonoides.....	27
Alcaloides	28
Quinonas	28
Glicósidos.....	29
Extractos Vegetales.....	30
Estudio Fitoquímico	31
Bacterias.....	33
Antibióticos y clasificación	35
Actividad Antibacteriana	36
Definición Operacional de Términos	38
Operacionalización de las Variables	39
Hipótesis.....	41
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	42
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
Procedimientos de la Investigación	44
Diseño de Análisis	52
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	54
Resultados	54
Discusiones	64
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	68
Conclusiones	68

ÍNDICE DE CONTENIDO (Continuación)

	Pág.
Recomendaciones	69
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructuras químicas de β - amirina, iridoides y aucubina reportados en la familia Scrophulariaceae.	14
Figura 2. Estructuras químicas de β - sitosterol y Verbascósido reportados en el género <i>Buddleja</i>	18
Figura 3. Especie <i>Buddleja americana</i>	21
Figura 4. Estructuras químicas de Martínósido, Nigrosido y Linarino reportados en la especie <i>Buddleja americana</i>	23
Figura 5. Estructura química de un terpeno.....	26
Figura 6. Estructuras químicas de algunos compuestos fenólicos.	27
Figura 7. Estructura química del flavonoide quercetina.....	27
Figura 8. Estructura química del alcaloide papaverina.	28
Figura 9. Estructura química de quinonas en base a su complejidad química.....	29
Figura 10. Estructura química de la arbutina	29
Figura 11. Procedimiento para el análisis fitoquímico de <i>Buddleja americana</i>	49
Figura 12. Procedimiento para determinar la actividad antibacteriana	52
Figura 13. Resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico de los tallos de <i>Buddleja americana</i>	57
Figura 14. Resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico de los tallos de <i>Buddleja americana</i> (Continuación).....	58
Figura 15. Resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico de los tallos de <i>Buddleja americana</i> (Continuación).....	59
Figura 16. Resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico de los tallos de <i>Buddleja americana</i> (Continuación).....	60
Figura 17. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i> 25923	60
Figura 18. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de <i>Enterococcus faecalis</i> 29212	61
Figura 19. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922	61
Figura 20. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de <i>Klebsiella pneumoniae</i> 23357.....	62
Figura 21. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica de la familia Scrophulariaceae.....	13
Tabla 2. Clasificación taxonómica del género <i>Buddleja</i>	17
Tabla 3. Compuestos químicos reportados en el género <i>Buddleja</i>	18
Tabla 4. Clasificación taxonómica de la especie <i>Buddleja americana</i>	22
Tabla 5. Clasificación de los antibióticos según su mecanismo de acción.	36
Tabla 6. Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de <i>Buddleja americana</i>	39
Tabla 7. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de los tallos de <i>Buddleja americana</i>	40
Tabla 8. Resultados del rendimiento de los extractos de <i>B. americana</i>	54
Tabla 9. Resultados de la composición química de los extractos de los tallos de <i>Buddleja americana</i>	56
Tabla 10. Resultados de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del extracto de etanol de <i>Buddleja americana</i>	63



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



**Composición química y actividad antibacteriana de los extractos de
Buddleja americana
(Trabajo de Grado II)**

Autor:

Miguel A. Vivas Zamora

Tutora:

Dra. Yndra Cordero

RESUMEN

El género *Buddleja* pertenece a la familia Scrophulariaceae y fue nombrado en honor al naturalista inglés Adam Buddle. Diversas especies de este género han sido ampliamente investigadas en cuanto a sus metabolitos secundarios debido a que poseen actividades antibacterianas, antifúngicas y antiprotzoarias que pudiesen ser una alternativa a la gran problemática mundial de la resistencia a los antibióticos. El objetivo fue confirmar la relación entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de *Buddleja americana*. Se determinó la composición química de los extractos de hexano y etanol y se observó la presencia de esteroides, alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas y glicósidos cardiotónicos. Se evaluó la actividad antibacteriana por el método de Kirby-Baüer utilizando solo el extracto con etanol, a una concentración de 10 mg/mL, se obtuvo como resultado un halo de inhibición de 10 mm y 8 mm para *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* respectivamente. Las cepas de *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa* presentaron halos de inhibición de 7 mm; mientras que en la cepa de *Escherichia coli* no se evidenció actividad. Este es el primer estudio de la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de *Buddleja americana* en Mérida- Venezuela. **Palabras claves:** *Buddleja*, *Buddleja americana*, actividad antibacteriana, composición química, extractos, antibióticos, resistencia.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), considera que la medicina natural y tradicional, que incluye el tratamiento con plantas medicinales una forma natural, segura y efectiva de abordar diversas afecciones de salud (Burton, Falkenberg, Smith, Zhang, Zhang, Boerma y Lerberghe, 2006). El consumo y manejo de plantas silvestres como medicina forma parte del conocimiento tradicional de distintas poblaciones humanas. En la actualidad la coexistencia de diversos sistemas de salud es una realidad en casi la totalidad de las sociedades. Estos sistemas que ofrecen una amplia gama de enfoques, recursos, costos y beneficios para la salud individual y colectiva, siendo la demanda y utilización de estos recursos la que ha determinado la naturaleza múltiple de la atención de la salud, esta realidad se da tanto en países desarrollados, donde el usuario se acerca a las terapias alternativas en búsqueda de una mejor atención de salud, como en los países en desarrollo, donde lo hacen en virtud de su realidad socioeconómica, o por ser estos sistemas tradicionales casi los únicos disponibles (Arias, 2009).

A nivel mundial se han registrado alrededor de 50000 especies de plantas con usos medicinales (De Carvalho, Wolschick, Rocha, Magalhaes y Mayo, 2016), entre ellas, el género *Buddleja* en particular ha sido ampliamente utilizado en la medicina popular debido a sus diversas propiedades medicinales tales como el tratamiento de enfermedades hepáticas, en afecciones bronquiales, reumáticas y manejo del dolor, así como su actividad antimicrobiana y antifúngica en algunas especies del género *Buddleja* (Mensah, Houghton, Bloomfield, Vlietinck, y Berghe, 2000; Farman, Muhammad, Rubina, Abdul y Irshad, 2011). Por otro lado, la escasez y en algunos casos la ausencia de medicamentos eficaces para el tratamiento de enfermedades infecciosas tiene consecuencias graves. Los datos de la OMS

indican que la resistencia bacteriana ocasionó 700 000 muertes en 2015, esta cifra, podría ascender a 10 millones en 2050 si no se llevan a cabo intervenciones para revertir la tendencia. Según proyecciones recientes de la OMS, en los siguientes 30 años las muertes por bacterias resistentes podrían ser más frecuentes que las atribuidas al cáncer (Camacho, Portillo, Rivera, Sánchez, Franco, Duque, Velo e Ishida, 2021).

La resistencia antibacteriana es un desafío creciente en la salud pública ya que las infecciones causadas por bacterias resistentes a menudo no responden al tratamiento convencional, lo que aumenta el riesgo de muerte, prolonga la hospitalización y genera costos elevados (Fair y Tor, 2014), en este contexto la investigación sobre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de *Buddleja americana* pueden ser de gran relevancia para combatir la resistencia microbiana y encontrar nuevas opciones de tratamiento.

La presente investigación tuvo como objetivo confirmar la relación existente entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de los tallos de *Buddleja americana*.

Este proyecto de investigación está estructurado en cinco capítulos. El capítulo I contiene los siguientes elementos: planteamiento del problema, justificación, objetivos, alcances y limitaciones de la investigación. El capítulo II abarca los trabajos previos, antecedentes históricos, bases teóricas, definición operacional de términos, operacionalización de las variables e hipótesis. El capítulo III comprende los siguientes puntos: tipo de investigación, diseño de la investigación, población y muestra, unidad de investigación, selección del tamaño de la muestra, sistema de variables, instrumento de recolección de datos, procedimientos de la investigación y diseño de análisis. El capítulo IV presenta los resultados y discusiones. El capítulo V conclusiones y recomendaciones y por último las referencias bibliográficas.

CAPÍTULO I.

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

La OMS considera a la medicina natural y tradicional, donde se incluye el tratamiento con plantas medicinales, como la medicina más natural, inocua, efectiva, además de tener un costo racional, ser asequible y aceptada por la población (Burton y cols., 2006).

Alrededor de todo el mundo se han registrado cerca de 50000 especies de plantas con usos medicinales (De Carvalho y cols., 2016). Según la OMS, se estima que cerca del 80 % de la población de los países en desarrollo usan la medicina tradicional como fuente principal de medicamentos, por ser los únicos tratamientos accesibles y asequibles disponibles. En Latinoamérica, la Oficina Regional de la OMS para las Américas (AMOR / OPS) indica que, en Chile y Colombia, un 71 % y un 40 % de la población respectivamente, sigue usando la medicina tradicional (Bussmann y Sharon, 2016).

La mayoría de las especies del género *Buddleja* han encontrado aplicaciones en la medicina popular, se utilizan para el tratamiento de enfermedades hepáticas, posiblemente por los lignanos presentes en la fracción polar de las partes aéreas y raíces (El-Domiatya, Winkb, Abou-Hasmen, Abdel y Abdalla, 2009), también se utilizan en afecciones bronquiales, reumáticas y manejo del dolor posiblemente por el efecto antiinflamatorio que varias especies de *Buddleja* han demostrado por intermedio de la inhibición de mediadores inflamatorios como la lipooxigenasa y ciclooxigenasa (COX) (Liao, Houghton, y Hoult, 1999; Backhouse, Rosales, Apablaza, Goity, Erazo, Negrete, Theodoluz, Rodríguez y Delporte, 2008), actividades antimicrobianas mediante la presencia de aldehídos (Pardo,

Perich, Villarroel y Torres, 1993; Farman y cols., 2011) y antimicóticas a través de los sesquiterpenos presentes en algunas especies de *Buddleja* (Mensah y cols., 2000; Farman y cols., 2011).

Por otro lado, según la Organización de las Naciones Unidas (ONU), la resistencia bacteriana es una de las principales amenazas a la salud, ya que pone en peligro prioridades globales como el desarrollo humano (Giono, Santos, Rayo, Torres y Alcántar, 2020). El mayor problema de la resistencia antibacteriana se observa en el ámbito hospitalario y anualmente se reporta a nivel mundial 700000 muertes; siendo la principal causa de infección en las unidades de cuidados intensivos (UCI), las bacterias extremadrogasresistentes (resistencia a todas las familias de antibacterianos excepto a dos o una de ellas) y pandrogasresistentes (resistencia a todas las familias de antibacterianos) (Yu, Han y Quiñones, 2021). Se estima que para el año 2050 se producirán más de 10 millones de muertes por año debido a esta causa (Giono y cols., 2020).

En la actualidad, la resistencia antibacteriana se ha convertido en uno de los principales problemas de salud pública, debido a que las infecciones causadas por microorganismos resistentes a menudo fallan en responder al tratamiento, lo que resulta en mayor riesgo de muerte, hospitalización prolongada y altos costos hospitalarios. A pesar de las estrategias utilizadas para contrarrestar el problema, los porcentajes de resistencia continúan en ascenso, advirtiendo paso a paso sobre el inicio de una era post-antibiótica, en la que se tienen opciones terapéuticas limitadas, a tal punto de carecer por completo de tratamientos disponibles (Fair y Tor, 2014).

Justificación e Importancia de la Investigación

El uso de plantas por sus propiedades medicinales es de gran importancia en muchas culturas y su utilización se remonta al momento cuando aparece el hombre en la tierra. En las poblaciones rurales e indígenas es el principal recurso por explotar y es usada por el 80 % de la población (Kong, Goh, Chia y Chia, (2003).

En esta investigación se consideró que el género *Buddleja* ha sido de vital importancia en la antigüedad, siendo utilizado en la medicina tradicional por sus propiedades curativas, debido a los diferentes metabolitos secundarios presentes.

En Venezuela no se ha estudiado la composición química de los tallos de *B. americana* y su actividad antibacteriana, por lo que constituye el principal motivo de esta investigación, contribuyendo de esta forma a la lucha contra la resistencia bacteriana.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación que existe entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de *Buddleja americana*.

Objetivos Específicos

- Obtener los extractos de hexano y etanol de los tallos de *B. americana* utilizando la técnica de reflujo.
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de hexano y etanol obtenidos de los tallos de *B. americana* mediante tamizaje fitoquímico.
- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto de etanol de los tallos de *B. americana* mediante el método de difusión de disco en agar (Kirby Bauer) contra cepas bacterianas ATCC grampositivas y gramnegativas.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcance de la Investigación

El alcance de esta investigación se relaciona con la profundidad sobre el hecho en estudio y establece la visión que posee el investigador para lograr los objetivos (Hernández, Fernández y Baptista, 2010). En este sentido, esta investigación se basó en confirmar la relación que existe entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de *Buddleja americana*, estableciendo una base científica para estudios posteriores sobre esta especie poco estudiada en el mundo y contribuyendo de esta forma al desarrollo de nuevas terapéuticas para el control de la resistencia antibacteriana.

Limitaciones de la Investigación

Para desarrollar esta investigación se presentaron algunas limitaciones, tales como la búsqueda de información y ordenamiento de los trabajos previos, ya que se encontraron pocos artículos.

Por otra parte, el elevado costo de los reactivos y materiales, así como la constante falla en el suministro eléctrico y en la velocidad de navegación de internet también afectó en el desarrollo de esta tesis, dificultando el intercambio y búsqueda de información.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Kartini, Irawan, Setiawan, y Jayani (2023), en su trabajo titulado “Características, métodos de aislamiento y propiedades biológicas de la aucubina”, tuvo como objetivo proporcionar datos sobre las características fisicoquímicas, métodos de aislamiento, plantas productoras y actividades biológicas de la aucubina. Determinaron su presencia en varias familias, siendo el glicósido iridoide más extendido en las plantas, entre ellas Scrophulariaceae, encontrándose en todas las partes de las plantas, tales como flores, semillas, frutos, hojas, tallos y raíces. Para el aislamiento de la aucubina se han utilizado diferentes métodos de separación y purificación como la cromatografía en columna, cromatografía líquida al vacío, cromatografía líquida de mediana presión y cromatografía líquida de alto rendimiento, obteniéndose rendimientos que varían entre el 0,004 % al 1,7 %. También se ha demostrado que la aucubina se modifica fácilmente debido a la temperatura, las bases débiles y la oxidación, por lo tanto, es relativamente estable si se extrae, se separa rápidamente y se almacena herméticamente; para la extracción se utiliza un disolvente universal como etanol o metanol, pudiendo disolver varios compuestos con una amplia gama de polaridades. La maceración es el método de extracción más utilizado para la aucubina, pudiendo repetirse de dos a cuatro veces para maximizar los rendimientos, otro método documentado es la extracción por reflujo y posterior maceración en frío. A una concentración de 61-244 µg/mL, la aucubina exhibió un efecto inhibitorio sobre el crecimiento total de *Candida albicans* y a la concentración de 244 µg/mL, podría desarrollarse un efecto fungicida. La aucubina también

muestra potencial como antibacteriano ya que presenta actividad contra varias bacterias grampositivas (*Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*) y gramnegativas (*Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*), con valores de CMI de 8 a 128 µg/mL. Además, la aucubina extraída de las hojas de *Eucommia ulmoides* utilizando el método de la celulasa podría inhibir *E. coli* y *S. aureus*, con valores de CMI de 9,664 y 4,832 mg/mL, respectivamente. Algunos estudios *in vitro* e *in vivo* revelan que la aucubina tiene una amplia gama de actividades biológicas, incluidas antiinflamatorias, antioxidantes, antidepresivas, antidiabéticas, antifibróticas, antimicrobianas, anticancerígenas, antihiperlipidémicas, gastroprotectoras, cardioprotectoras, hepatoprotectoras, retinoprotectoras, neuroprotectoras, osteoprotectoras y renoprotectoras. Guardando relación con esta investigación, ya que demostraron la presencia de la aucubina en la familia Scrophulariaceae y sus efectos antibacterianos contra cepas de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*.

Otero, Fuentes, Atala, Cuadros, Fuentes, y Gordillo (2022), en su trabajo titulado “Propiedades antimicrobianas de las plantas nativas Chilenas: aspectos futuros en su aplicación en la industria alimentaria”, que tuvo como objetivo describir las propiedades antimicrobianas encontradas en plantas endémicas chilenas para proponer futuros usos en la aplicación de sistemas de embalaje activo para la industria alimentaria, mediante cromatografía de capa fina, evaluaron los extractos etanólicos de las hojas de *Buddleja globosa* para actividad bacteriostática contra *S. aureus* ATCC 25923 y *E. coli* ATCC 25922, Una purificación adicional reveló que la molécula responsable de este efecto fue el verbascósido, presentando una CMI de 1 mM. Guardando relación con la presente investigación ya que evaluaron la actividad bacteriostática contra cepas de *S. aureus* y *E. coli*.

Ticona, Callisaya, Rico, Sánchez y Slowing (2022), en el trabajo titulado “Compuestos aislados de *Buddleja coriacea* con antibacterianos y actividades

antiinflamatorias en el tracto urinario”, realizaron un estudio que tuvo como objetivo identificar el extracto acuoso de las hojas, las fracciones y los compuestos responsables de las actividades antibacterianas y antiinflamatorias de las hojas de *B. coriacea*. La evaluación del extracto acuoso inicial reveló la presencia de compuestos polifenólicos, flavonoides o alcaloides. Asimismo, la presencia de un gran grupo de señales que pueden corresponder a protones cerca de alcoholes, éteres, cetonas o la presencia de alifáticos, cadenas o aceites esenciales. Además, el estudio realizado permitió afirmar, con base en lo observado, que el subextracto con *n*-hexano contiene más estructuras libres, mientras que el extracto metanólico contiene más moléculas unidas a los azúcares ya que las señales son más intensas, que corresponden a los glucósidos flavonoides. En cuanto a la capacidad antibacteriana, el subextracto *n*-hexano mostró un CMI en cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens* de 37,51 a 37,92 µg/mL. Estos resultados fueron mejores (estadísticamente significativas, $p < 0,001$) que las del extracto acuoso y los demás subextractos de *B. coriacea*. Guardando relación con la presente investigación ya que identificaron compuestos en el extracto acuoso y con *n*-hexano de una especie del género *Buddleja*, específicamente *B. coriacea*, además de evaluar la actividad antibacteriana de ambos extractos.

Por otra parte, Cuevas, Lorenzo, Hernández, Sánchez y Bach (2022), en su trabajo titulado “Actividades antimicrobianas, tóxicas y antiinflamatorias de *Buddleja perfoliata* Kunth”, estudiaron mediante maceración de dos días en cloroformo los extractos de las partes aéreas de *B. perfoliata* y determinaron su actividad antimicrobiana contra un panel de grampositivos, gramnegativos y hongos. Este estudio reveló que los extractos y fracciones de *B. perfoliata* tales como diterpenos, sesquiterpenos, triterpenoides y cetonas, tenían actividad antimicrobiana contra varios patógenos, mostrando una actividad significativa con CMI que oscilaban entre 100 y 200 µg/mL, destacando que la

actividad antibacteriana contra *S. aureus* fue de una CMI de 100 µg/mL debido a su importancia como patógeno a nivel clínico. Debido a estos resultados concluyeron que el estudio mostró que los extractos de cloroformo y las fracciones de las partes aéreas de *B. perfoliata* poseían actividades antibacterianas. Guardando relación con esta investigación, ya que determinaron la composición química de los extractos de una especie del género *Buddleja* y evaluaron la actividad antibacteriana frente a *S. aureus*.

Antecedentes Históricos o Epistemológicos

La Medicina tradicional ha desempeñado un papel importante en el tratamiento de diversas patologías, fundamentalmente en los países en desarrollo. En ellos, el 80 % de la población acude a este tipo de medicina para satisfacer las necesidades primarias de salud. Si bien; los productos de origen vegetal, particularmente las drogas secas y los extractos, pasaron de ocupar un lugar preponderante a un segundo plano, en las últimas décadas han vuelto a alcanzar una presencia cada vez mayor en la medicina occidental. Este retorno ha sido propiciado por el regreso hacia lo natural, pero también debido al desarrollo científico de los fitomedicamentos y al mayor conocimiento del riesgo-beneficio de los fármacos sintéticos. Actualmente, como en la antigüedad se continúan empleando los productos naturales, en particular, las plantas y sus extractos para diferentes usos; entre ellos, el tratamiento de enfermedades. Su uso está determinado por muchos factores como: el incremento de la resistencia microbiana a algunos productos sintéticos, la evidencia de efectos colaterales no deseables y el elevado precio de los medicamentos obtenidos por vía sintética en comparación con la mayoría de los similares derivados de la naturaleza (Gallegos, 2017).

La medicina herbaria se utiliza desde tiempos remotos para curar o aliviar las dolencias. En este contexto surgen los fitofármacos, que su empleo

es válido para mejorar la salud humana, cuenta con bajos costos (ideal para aplicar en atención primaria de salud), su uso es tradicional (el tiempo y la experiencia en miles de personas con antecedentes), se viene desarrollando en todas las universidades y centros de investigación del mundo, además posee un menor índice de toxicidad (en comparación con los productos de síntesis). Al respecto, la OMS destaca que, de los 119 fármacos derivados de las plantas, alrededor de 74 % se usan en la medicina moderna, de manera que se correlacionan directamente con los usos tradicionales que las culturas nativas les daban como hierbas medicinales. La medicina herbaria funciona más o menos de la misma manera que los fármacos farmacéuticos convencionales, o sea, por su composición química. Las hierbas contienen muchísimos compuestos químicos que se dan por sí solos en la naturaleza y que tienen una fuerte actividad biológica. En los últimos 150 años, los químicos y farmacólogos se han dedicado a aislar y purificar los compuestos "activos" de las plantas en un intento para producir fármacos (Pascual, Pérez, Morales, Castellanos y González, 2014).

Bases Teóricas

Familia Scrophulariaceae

Las plantas de esta familia suelen ser herbáceas, anuales o perennes, algunas semiparasitarias y en pocas ocasiones árboles, cuentan con hojas simples y sin estípulas, flores con 4-5 pétalos soldados en una corola de morfología muy diversa (Evans, 2000).

La familia Scrophulariaceae tiene una distribución cosmopolita. Después de estudios filogenéticos recientes, varios géneros pertenecientes a esta familia fueron transferidos a otras familias, así como algunos géneros que solían estar incluidos en otras familias ahora forman parte de las

Scrophulariaceae, como es el caso del género *Buddleja*. Actualmente esta familia está compuesta por alrededor de 25 géneros y 1200 especie. Ciertas especies pertenecientes a esta familia han sido muy estudiadas desde el punto de vista fitoquímico; entre los géneros más conocidos están *Digitalis*, *Verbascum*, *Calceolaria*, *Linaria* y *Veronica*, entre otros (Souza y Lorenzi, 2005).

Clasificación Taxonómica de la Familia Scrophulariaceae.

Recientes estudios filogenéticos moleculares en el orden Lamiales han demostrado que el gran grupo tradicionalmente reconocido como Scrophulariaceae no es monofilético. Los esfuerzos para reconstruir la filogenia de este gran grupo y revisar su clasificación para reflejar esa filogenia han dado como resultado siete grupos monofiléticos, compuestos principalmente por miembros de Scrophulariaceae, reconocidos como familias en las clasificaciones recientes de angiospermas. La familia Scrophulariaceae incluye Buddlejaceae y Myoporaceae (Tank, Beardsley, Kelchner y Olmstead, 2006), en la tabla 1 se observa la clasificación taxonómica de esta familia.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la familia Scrophulariaceae

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Scrophulariaceae

Tomado y modificado de Estupiñán, 1997.

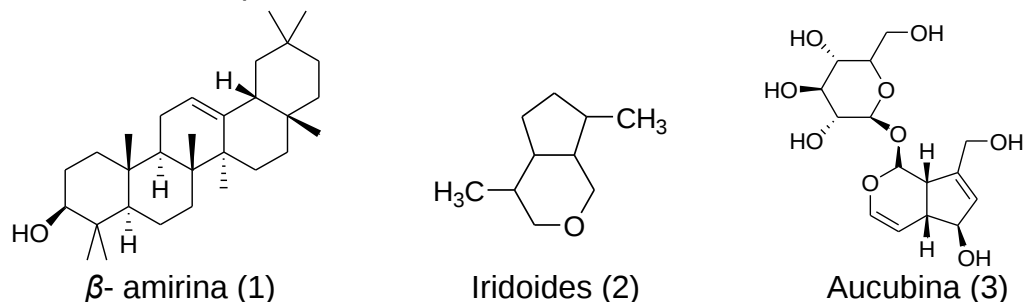
Metabolitos secundarios aislados en la Familia Scrophulariaceae.

Generalmente, los grupos de compuestos más reportados para dicha familia son: saponinas, flavonoides, naftaquinonas y antraquinonas, iridoides, esteroides y triterpenos, y heterósidos cianogénicos (Vicet, 2009). En la figura 1 se presentan algunas estructuras químicas, la β - amirina (1) e iridoides (2) reportados en esta familia.

Los alcaloides no son muy comunes, pero se encuentran en algunas especies, particularmente los tipos quinazolina y quinolizidina (Hua, Cheng, Li y Pei, 2002). Bianco, Guiso, Ballero, Foddai, Nicoletti, Piccin, Serafini, Tomassini, (2004), informaron la presencia de glicósidos iridoides en la especie *Linaria capraria* Moris. La presencia de flavonoides parece ser muy común en esta familia, destacándose los trabajos publicados por Nikolova y Asenov en el 2006, así como de Saracoglu, Varel, Harput y Nagatsu en el 2004 en especies del género *Veronica*.

Kartini y cols. (2023), reportaron la presencia de aucubina (3) en hojas y flores de diversos géneros de esta familia, entre ellas *Buddleja globosa* y *Buddleja perfoliata*.

Figura 1. Estructuras químicas de β - amirina, iridoides y aucubina reportados en la familia Scrophulariaceae.



Tomado y modificado de López, Miguel y Aleixandre, 2012.

Usos Etnobotánicos y Actividades Farmacológicas de la familia Scrophulariaceae.

Algunos estudios descubrieron los potenciales efectos de la aucubina presente en esta familia, tales como antiinflamatorio, antioxidante, ansiolítico, antidepresivo, antidiabético, antifibrótico, antimicrobiano, anticancerígeno, antihiperlipidémico, agente gastroprotector, cardioprotector y retinoprotector (Kartini y cols., 2023).

Al género *Eremophila*, que pertenece a esta familia, se le atribuyen propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antioxidantes, antidiabéticas, antiinflamatorias y propiedades cardíacas. (Cock, Baghtchedjian, Cordon, y Dumont, 2022).

Género *Buddleja*

El género *Buddleja* fue nombrado en honor al naturalista inglés Adam Buddle (1660 – 1715), frecuentemente se le nombre *Buddleja*, por una antigua costumbre de escribir una i alargada (Owen y Whiteway, 1980), propuesto por Houston en 1737 y publicado por Linnaeus en 1753. Jussieu fue el primero en considerar a *Buddleja* como miembro de Scrophulariaceae. Desde 1790 hasta 1999, *Buddleja* pasó por varios órdenes y familias según su morfología, características anatómicas, genéticas y fitoquímicas. Posteriormente eliminaron a *Buddleja* de la familia Scrophulariaceae y la integraron a la familia Loganiaceae con bases en las características morfológicas de la flor y la naturaleza de los frutos. Dahlgren publicó el género *Buddleja* en la familia Buddlejaceae, contenida en el orden Gentianales. Además de Cronquist, otros autores reconocieron a Buddlejaceae dentro del orden de Scrophulariales. (Mahlke, Zanetti, Machado, Manfron y Athayde, 2008).

Son arbustos de 1 a 4 metros de altura, con ramas jóvenes recubiertas de un denso tomento de pelos estrellados, a veces intercalados con pelos glandulares capitados. Las ramas son cilíndricas o cuadrangulares. Las hojas son simples, enteras o subenteras, generalmente aserradas, crenadas o dentadas, raramente lobuladas. La base de la hoja puede ser atenuada, cuneada o auriculada, raramente perfoliada en la base. Están dispuestos de manera opuesta. El ápice varía de agudo a acuminado. Hay especies perennes y caducifolias (Houghthon, 1984).

Es un género con una distribución pantropical que se encuentra en el sur de Asia, África y América. Se conocen alrededor de 100 especies, 50 distribuidas en América, de las cuales 15 crecen en México. Leeuwenberg (1979) afirma que hay aproximadamente 16 especies en África y 21 en Asia. Son nativas de las regiones cálidas del nuevo mundo, desde el sur de los Estados Unidos hasta el sur de Chile, y están ampliamente distribuidos en África y las regiones más cálidas de Asia. Las especies se han dividido en 2 grupos en función de sus tipos florales: los de América son dioicos, mientras que los de África y Asia son monoicos (Houghthon, 1984).

Clasificación Taxonómica del género *Buddleja*

La presencia de triterpenoides del tipo mimengosideo encontrados en *Buddleja*, así como los iridoides aucubina, que son características de Scrophulariaceae, son algunas pruebas quimiotaxonómicas que respaldan la exclusión de *Buddleja* de Loganiaceae y su inclusión en la familia Scrophulariaceae, posición que ha sido recientemente consolidada por estudios de filogenética. Actualmente, como se observa en la tabla 2, se sigue el sistema propuesto por el grupo de filogenia de angiospermas (APG), que ha integrado la familia Scrophulariaceae en el orden Lamiales (Emam, Moussa, Faure, Favel, Delmas, Elias, Balansara, 1998).

Tabla 2. Clasificación taxonómica del género *Buddleja*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Scrophulariaceae
Tribu	Buddlejeae
Género	<i>Buddleja</i>

Tomado y modificado de Emam y cols., 1998.

Metabolitos Secundarios Aislados en el Género *Buddleja*.

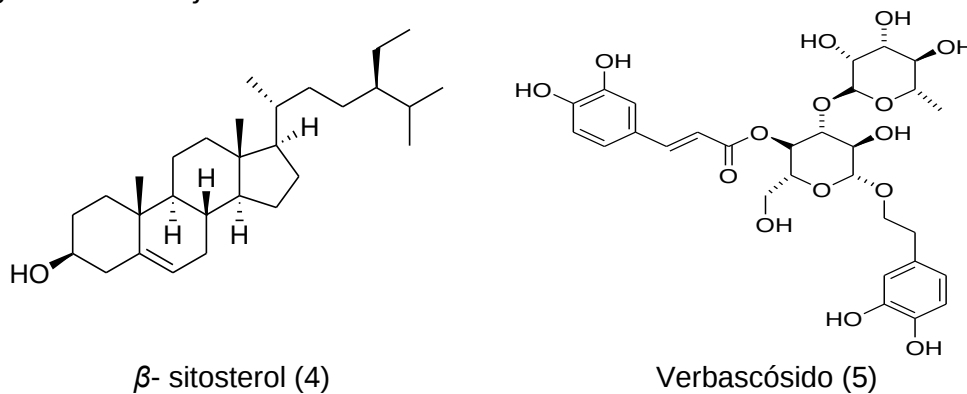
El elevado número y la gran diversidad de metabolitos secundarios han despertado interés en diversos campos de la ciencia (Simões y Spitzer, 2003). Varias especies de *Buddleja* han sido ampliamente investigadas en cuanto a sus metabolitos secundarios, resultando en el aislamiento de numerosas y diversas sustancias, como terpenoides y fenilpropanoides (Houghton, 1984), flavonoides, iridoides, feniletanoides (Yamamoto, Nitta, Miyase, Ueno y Wu, 1993), sesquiterpenos (Yoshida, Nobuhara, Uchida, Okuda, 1976), lignanos (Yamamoto, Miyase, Ueno y Maeda, 1991) y saponinas (Ding, Yahara, y Nohara, 1992). Los estudios fitoquímicos realizados en este género han revelado la presencia de gran variedad de compuestos químicos, en la figura 2, se observan las estructuras químicas de β - sitosterol (4) y Verbascósido (5) reportados en la tabla 3.

Tabla 3. Compuestos químicos reportados en el género *Buddleja*.

Compuestos químicos	
Monoterpenos	Citroneloi, <i>p</i> -cariofileno
Sesquiterpenos	Buddleinas A, B, C, D, E.
Diterpenos	Buddlejona, desoxibuddlejona
Esteroles	β -sitosterol (3) y estigmasterol
Triterpenos	β -amirina, acetato de <i>p</i> -amirina
Saponinas	Mimengósidos A y B
Flavonoides	Linarina, quercetina, luteolina
Iridoides	6-feruloílajugol
Fenilpropanoides	Ácidos cafeíco, verbascósido (4), martinósido.
Feniletanoides	2-(~4-hidroxifenil) etil lignoserato.
Lignan	Buddlenol A, B, C, D, E, y F
Alcaloides	Noldina

Tomado y modificado de Yoshida y cols., (1976); Houghton, Woldemariam, Candau, Bernardo, Khen y Li, (1996).

Figura 2. Estructuras químicas de β -sitosterol y Verbascósido reportados en el género *Buddleja*.



Tomado y modificado de Liang, Wang, He y Hua, 2016.

Usos Etnobotánicos y Actividades Farmacológicas del Género *Buddleja*.

Varias especies del género *Buddleja* se han utilizado en la medicina popular en muchas partes del mundo, como América del Norte y del Sur, África y Asia. Las raíces, flores y hojas de estas plantas se utilizan para diversas enfermedades como disentería, inflamaciones oculares y cutáneas, así como agentes diuréticos y antisépticos, entre otros (Houghton, 1984). Kissmann y Groth (1999), relatan sobre el uso de *Buddleja brasiliensis* Jacq., conocida popularmente como barbasco o verbasco, en humanos y animales, se le atribuyen propiedades emolientes, antihelmínticas, sudoríficas, anti-hemorroidales, antiartríticas y antitusivas; en animales se utiliza para lavar los ojos y tratar las contusiones de los equinos.

Algunos de estos compuestos han mostrado efectos inhibitorios sobre la generación de 29 eicosanoides leucocitarios (Liao y cols., 1999), actividades antihepatotóxicas (Houghton e Hikino, 1989), antifúngicas (Mensah y cols., 2000), antibacterianas y actividades antiprotozoarias (Emam y cols., 1998).

En México, se utiliza *Buddleja cordata* para curar abscesos, se mezcla con grasa de cerdo y se aplica sobre heridas o contusiones, así como también como antipirético. Las hojas picadas con carbonato y grasa se utilizan para infecciones estomacales y como diuréticos en infecciones renales (Gallardo y Argueta, 1994).

En Bolivia, *Buddleja tucumanensis*, un arbusto nativo de la provincia de Quillacollo en Cochabamba es conocido popularmente como 'yuraq-wasa'. Sus hojas y flores se utilizan en la medicina popular para lavar heridas y tratar úlceras y enfermedades urinarias (Lorenzo, Loayza y Dellacassa, 2006).

Las hojas de *Buddleja parviflora*, ampliamente distribuidas en México, se utilizan en la medicina popular como agente diurético y como antirreumático (Cortés, Delgadillo y Hurtado, 2006).

Buddleja madagascariensis Lank., un arbusto originario de Madagascar y ampliamente distribuido en Egipto, se utiliza popularmente para el tratamiento del asma, la bronquitis y la tos, y sus hojas se utilizan como sustituto del jabón (Houghton, 1984).

En Chile y Argentina, las hojas de *Buddleja globosa*, una planta endémica, se utiliza por los indígenas mapuche para tratar heridas. En Chile, las hojas pulverizadas se utilizan para el tratamiento de úlceras desde hace muchos años (Murillo citado en Mensah y cols., 2001).

La *Buddleja officinales*, conocida en China como *Mi Meng Hua* y registrada en la Farmacopea china, tiene actividad antiinflamatoria y antibacteriana. Se utiliza para tratar infecciones oculares (Guo, Koike, Li, Satou, Guo y Nikaido, 2004). También la *Buddleja davidii*, originaria de China, pero cultivada en muchas partes del mundo como planta ornamental, se recomienda en forma de polvo de sus hojas y tallos para estimular la cicatrización de heridas, tratar úlceras cutáneas y curar lesiones asociadas a la lepra (Houghton, 1984).

La *Buddleja scordioides*, conocida popularmente en México como escovinha, ramo de borboleta, salvinha, sálvia-real y mato, se utiliza ampliamente para el tratamiento de la diarrea, cólicos estomacales y enfermedades gastrointestinales (Márquez, Lara, Esquivel, Mata y Luna, 1999).

En México, la *Buddleja perfoliata*, conocida como salvia-chiquita, salvia-docampo, erva-de-manita (Houghton, 1984), se utiliza popularmente para el tratamiento de la tuberculosis, así como para el catarro, ptialismo y dolor de cabeza (Cortés y cols., 2006). La especie *Buddleja thyrsoides* Lam, es conocida popularmente como barbasco, cambará y *cambarazinho-do-campo*; la decocción de las flores y hojas se utiliza para el tratamiento de la bronquitis y la tos, se utiliza ampliamente para el tratamiento de la diarrea, cólicos estomacales y enfermedades gastrointestinales (Márquez y cols., 1999).

Especie *Buddleja americana*

Arbusto o árbol que puede alcanzar hasta los 10 m de altura, de tallo semi leñoso y alargados y de poco espesor, con hojas de 5 a 30 cm de largo, opuestas, ovales o elípticas, delgadas, algunas veces finamente dentadas, en el reverso son verdes y cubiertas por una lanilla amarillenta. Tiene flores pequeñas fragantes, de forma de embudo, color blanco o amarillento, en grupos densos con inflorescencias en racimo cada 22 cm, cápsula de semillas oblongas de aproximadamente 1 mm de largo (Cáceres, 1995) Ver figura 3

Figura 3. Especie *Buddleja americana*



Tomado de Colección de Referencia Rápida. (1988). *Buddleja americana* [fotografía de Dick Culbert]

Se ha encontrado en lugares con vegetación de bosque mesófilo de montaña, bosque de pino y encino, bosque tropical de diciembre a abril y en fructificación de febrero a abril. Se trata de la especie más ampliamente distribuida en América, encontrándose desde el noreste de México hasta Sudamérica y las Antillas (Ocampo, 2003).

Clasificación Taxonómica del género *Buddleja americana*

En la tabla 4 se aprecia la clasificación taxonómica de la especie *Buddleja americana*.

Tabla 4. Clasificación taxonómica de la especie *Buddleja americana*

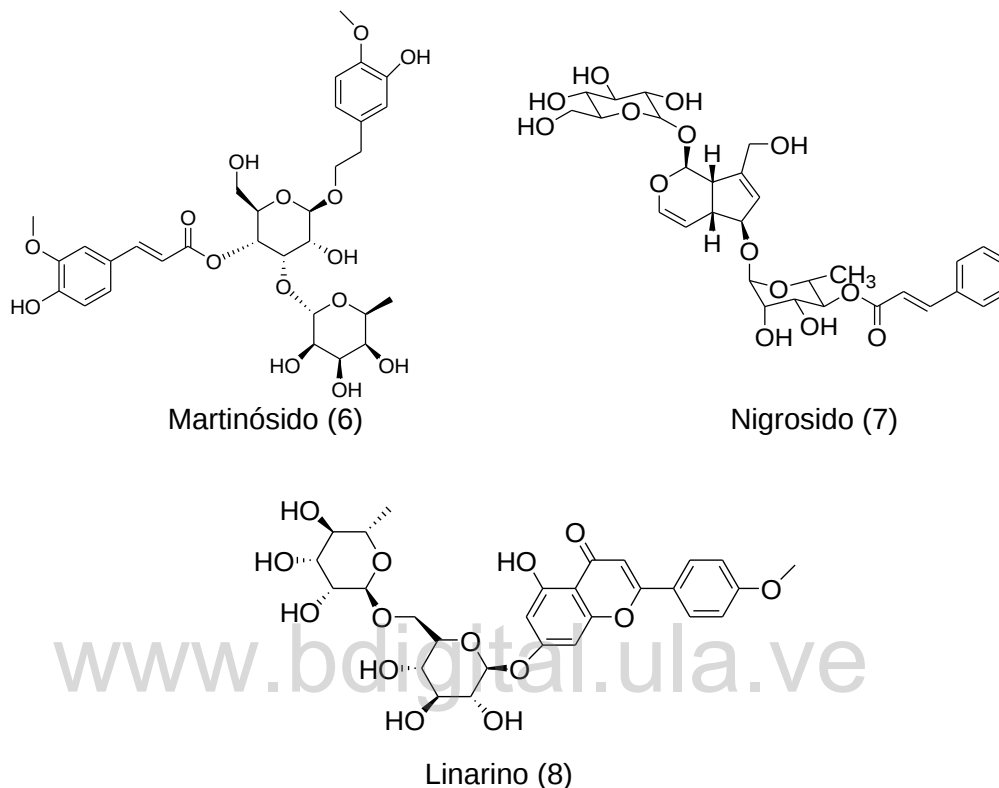
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Scrophulariaceae
Tribu	Buddlejeae
Género	<i>Buddleja</i>
Especie	<i>Buddleja americana</i>

Tomado y modificado de Emam y cols., 1998.

Metabolitos Secundarios Aislados en la Especie *Buddleja americana*.

Algunos metabolitos secundarios han sido identificados en el extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana*, tales como Martinósido (6), Nigrosido (7), Linarino (8), sus estructuras químicas se presentan en la figura 4. (Miyagoshi, Takeda, Nakamura y Ogihara, 1990).

Figura 4. Estructuras químicas de Martinósido, Nigrosido y Linarino reportados en la especie *Buddleja americana*.



Tomado y modificado de Miyagoshi y cols., 1990

Usos Etnobotánicos y Actividades Farmacológicas de la especie *Buddleja americana*.

En México se utiliza el extracto de la corteza o raíces para aumentar el flujo de orina y purificar el cuerpo, además de tener efecto curativo en el útero colapsado. Las hojas son utilizadas para ayudar a la digestión, y junto con las raíces y corteza elaboran una pasta de uso tópico que ayuda a curar tumores, cortes y úlceras, aliviar dolores en las articulaciones y tratar quemaduras. El extracto de hojas tiene un efecto antiséptico y el extracto de las raíces tiene

un efecto hipnótico, además se menciona el uso de una dosis oral de un extracto de la planta para tratar la cirrosis y mejorar la función biliar (Martínez, 1959).

En Guatemala las hojas frescas se hierven y se emplean como tratamiento para la indigestión y el asma. También se prepara una infusión de hojas, cortezas y raíces que promueve la diuresis y trata afecciones uterinas. Las hojas trituradas se aplican en la frente para aliviar dolores de cabeza, en las articulaciones para aliviar dolores reumáticos y en heridas como antisépticos. Una decocción de las raíces se utiliza por vía oral como soporífero eficaz en insomnio y también como diurético en casos de cirrosis hepática atrófica. Las raíces trituradas se aplican a las hemorragias nasales (Martínez, 1959).

En Costa Rica se ha observado usos de esta planta similares a los de Guatemala, se utilizan las hojas por sus propiedades diuréticas y sedantes. La mayoría de estos usos tradicionales han sido fundamentados en farmacología y algunos experimentos que utilizan extractos han revelado la presencia de una fracción alcaloidal cuya concentración es mayor en las raíces y a la que se le atribuyen propiedades diuréticas, propiedades hipnóticas y posiblemente analgésicas (Díaz, 1976).

Productos Naturales

Gran diversidad de metabolitos secundarios ha sido y son utilizados por el hombre para aplicarlos en la industria farmacéutica, terapéutica de cultivos, perfumística, alimenticia (como suplementos, aditivos o colorantes), en el curtido de cueros, etc. Éstos son los comúnmente llamados productos naturales vegetales y representan moléculas con variadas estructuras, diferentes propiedades de solubilidad y distintos orígenes biosintéticos. En muchos casos los metabolitos secundarios pueden ser materia prima para

sintetizar otros compuestos útiles, originando productos de semisíntesis. La utilidad de éstos solamente está limitada por la imaginación humana o por el avance de los conocimientos científicos (Ringuelet y Viña, 2013).

Debemos aclarar que los metabolitos primarios también representan productos naturales, son parte de la maquinaria química vegetal y su utilización por el hombre en alimentación y en diversas industrias es esencial y muy conocida, pero los metabolitos secundarios están restringidos generalmente al metabolismo de algunas especies vegetales o familias botánicas. La glucosa es sintetizada vía fotosíntesis por prácticamente todas las plantas, mientras que la morfina por ejemplo es una estructura molecular biosintetizada solamente por especies de la familia Papaveraceae. Por ello, el término productos naturales vegetales se refiere generalmente a los metabolitos secundarios, con real o potencial utilidad para el hombre y/o para la adaptación de la planta al medio ambiente (Ringuelet y Viña, 2013).

Como precursores *in vivo* de todos los metabolitos secundarios siempre aparece algún compuesto presente en una vía del metabolismo primario. Así es como los compuestos nitrogenados (aminas, amidas, glicósidos cianogénicos, alcaloides) tienen algún aminoácido o derivado de ellos como precursor en su ruta biosintética; compuestos de la vía primaria de las pentosas-fosfato como la eritrosa-fosfato y el fosfoenolpiruvato de la glucólisis dan lugar a las distintas clases de metabolitos fenólicos; los terpenoides tienen como precursores a intermediarios de la glucólisis o grupos acetilos. Esto pone en evidencia que hay una verdadera integración metabólica entre los compuestos primarios (principalmente glúcidos, lípidos y proteínas) y los compuestos secundarios (Ávalos y Perez, 2009).

Algunos metabolitos secundarios o productos naturales cumplen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales. Ciertos grupos actúan como pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción al atraer a insectos

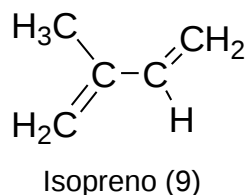
polinizadores o animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de semillas. Otros compuestos tienen una función protectora frente a predadores, como disuasorios, proporcionando al vegetal sabores amargos, convirtiendo a las plantas en materiales indigestos o venenosos (Bilbao, 1997).

También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos, actuando como pesticidas naturales (García, 2009). Aunque algunos metabolitos secundarios se encuentran en animales, la gran mayoría de los productos naturales de interés son de origen vegetal (Robinson, 1980). Dentro de la clasificación de los metabolitos secundarios tenemos:

Terpenoides

Poseen como unidad estructural la molécula de isopreno (9), son liposolubles y biosintéticamente asociados a la vía del ácido mevalónico o a la vía gliceraldehído fosfato - ácido pirúvico, dependiendo de la clase de terpenoides en cuestión (Ringuelet y Viña, 2013). Ver figura 5.

Figura 5. Estructura química de un terpeno.



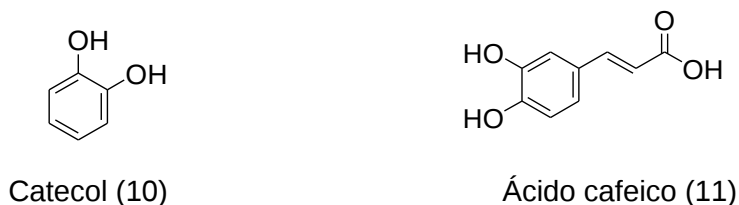
Tomado y modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

Compuestos fenólicos

Con al menos un grupo hidroxilo unido a uno o más anillos aromáticos en su estructura química, la mayoría hidrosolubles y derivados

biosintéticamente del ácido shikímico, algunos de estos compuestos son el catecol (10) y ácido cafeico (11) ilustrados en la figura 6 (Ringuelet y Viña, 2013).

Figura 6. Estructuras químicas de algunos compuestos fenólicos.

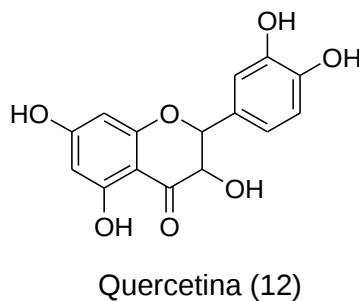


Tomado y modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

Flavonoides

Son un grupo de moléculas del metabolismo secundario de los vegetales, entre algunas de sus funciones se consideran antioxidantes y secuestradores de radicales libres, agentes antimicrobianos, fotoreceptores, protectores de la luz UV. La estructura de los flavonoides es un anillo A derivado de la cadena del policétido y también posee un anillo B derivado del ácido shikímico (Marcano y Hasegawa 2002). En la figura 7 se observa la estructura de la quercetina (12).

Figura 7. Estructura química del flavonoide quercetina

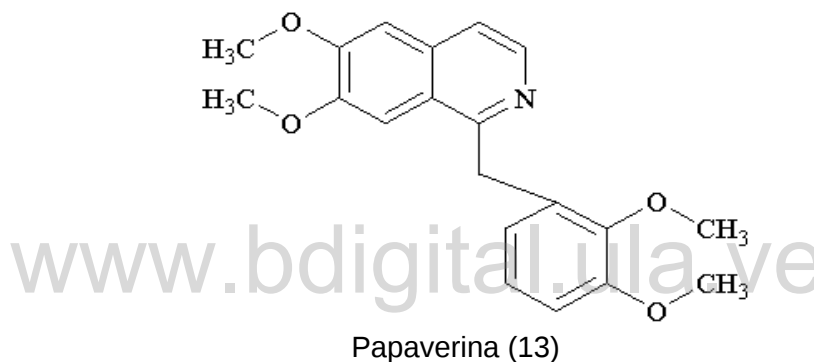


Tomado y modificado de Marcano y Hasegawa, 2002

Alcaloides

Son compuestos sintetizados a partir de aminoácidos, por lo tanto, dentro de su estructura se encuentran grupos nitrogenados, presentan actividad farmacológica con efectos psicoactivos a dosis bajas y están presentes en todos los órganos de las plantas (hojas, flores, corteza, raíz). Un ejemplo de un compuesto alcaloide lo podemos observar en la Figura 8, donde se muestra la estructura de la Papaverina (13) (Arango, 2008).

Figura 8. Estructura química del alcaloide papaverina.

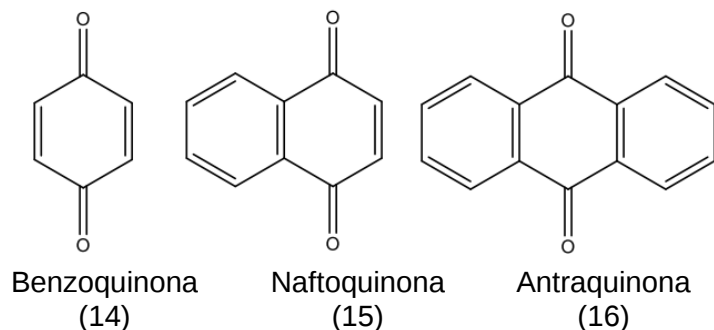


Tomado y modificado de Martínez, Valencia, Jiménez y Galeano, (2008).

Quinonas

Las quinonas son compuestos presentes en la naturaleza, se forman de la oxidación de compuestos aromáticos para dar la correspondiente dicetona. De acuerdo con su grado de complejidad química se clasifican en benzoquinonas (14), naftoquinonas (15) y antraquinonas (16), se pueden observar en la figura 9 (Perry, Blunt y Munro, 1991).

Figura 9. Estructura química de quinonas en base a su complejidad química

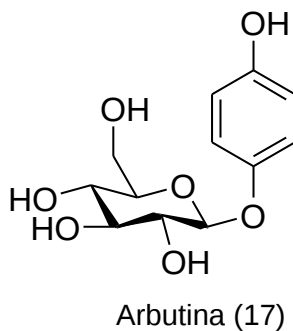


Tomado y modificado de Martínez, Valencia, Jiménez y Galeano, 2008.

Glicósidos

Los glicósidos son metabolitos vegetales de gran importancia. Su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardiacos y glicósidos cianogénicos (Ávalos y Pérez, 2009). Como ejemplo, en la figura 10 se puede apreciar la estructura química de la arbutina (17).

Figura 10. Estructura química de la arbutina



Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009.

Extractos Vegetales

Son preparaciones que se hacen para obtener un concentrado de principios activos a partir de material vegetal; cuyos tejidos son tratados con un solvente, se realiza una evaporación del líquido excedente, o se hacen extracciones repetidas del tejido hasta que se obtiene un concentrado de material vegetal. En los extractos sólidos o secos se hace una evaporación total del extracto o tintura (Marcano y Hasegawa, 2018).

Métodos de Obtención. Se debe tomar en cuenta que existen diferentes métodos para extraer los principios activos contenidos en las plantas, los cuales necesitan de un líquido extractivo que va a depender del procedimiento técnico y de la naturaleza química del principio activo. A continuación, se citarán los métodos de extracción más importantes (Voigt y Manfred, 1982):

Reflujo. Implica la condensación de gases y la vuelta de este condensado al sistema que originó. A medida que se procede a la calefacción del matraz, la temperatura aumenta evaporando parte del disolvente, Los vapores de este ascienden por el cuello del envase hasta el refrigerante, donde se condensa volviendo de nuevo al sistema (Kister, 1992).

Percolación. Consiste en colocar el material fragmentado en un recipiente cónico o cilíndrico haciendo pasar un disolvente apropiado a través de este (Lamarque, Zygadlo, Labuckas, López, Torres y Maestri, 2008).

Maceración. El proceso de maceración consiste en remojar el material a extraer, debidamente fragmentado, con un disolvente apropiado, hasta que

éste penetre en los tejidos, ablandando y disolviendo las porciones solubles (Lamarque y cols., 2008).

Decocción. Llamada también cocimiento, este procedimiento consiste en cubrir la planta con el disolvente (agua), elevando la temperatura hasta el punto de ebullición del agua, manteniendo constante durante un período variable que suele oscilar de 15 a 30 minutos (Valcárcel y Gómez, 2021).

Infusión. El disolvente se hierva y posteriormente se introduce la planta a extraer, dejándose enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente (Valcárcel y Gómez, 2021).

Digestión. Es una maceración realizada a una temperatura suave que oscila alrededor de los 50 o 60°C. Al aumentar mediante la temperatura se consigue un mayor rendimiento de la extracción, puesto que disminuye la viscosidad del solvente lo que hace que éste pueda ingresar más rápidamente al interior de las células y así extraer los principios activos (Voigt y Manfred, 1982).

Estudio Fitoquímico

Existen distintos métodos cualitativos para la detección preliminar de los diferentes metabolitos secundarios que pueden encontrarse en las plantas, basados en la extracción de estos mediante solventes orgánicos de diferentes polaridades y aplicando pruebas de coloración. Respecto a las pruebas cualitativas, estas son realizadas para identificar la presencia de el o los tipos de metabolitos secundarios que presentan las plantas, entre ellas tenemos (Yagüe, de Gaviña y Torner, 1969):

Compuestos Esteroles y/o Triterpenos

Ensayo de Liebermann-Burchard. Es la prueba más usada para la identificación de terpenos y esteroides con un doble enlace. Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, ya que ambos tipos de productos poseen un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6 (Bermejo, Pereira, Cintra y Morales, 2014).

Compuestos Alcaloides

Ensayo de Dragendorff. Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de HCl (1%) (Bermejo y cols., 2014).

Ensayo de Wagner y Mayer. Permite también identificar alcaloides, se procede de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida (Bermejo y cols., 2014).

Compuestos Fenólicos

Ensayo de Cloruro Férrico. Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos. Si el extracto de la planta se realiza con etanol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos; si es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos (Bermejo y cols., 2014).

Compuestos Flavonoides

Ensayo de Shinoda. Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto vegetal (Bermejo y cols., 2014).

Saponinas

Ensayo de la Espuma. Permite reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroidal como triterpénicas (Bermejo y cols., 2014).

Quinonas

Ensayo de Borntrager. Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1mL de cloroformo (Bermejo y cols., 2014).

Bacterias

Las bacterias son microorganismos procariotas. Es importante entender que no todas las bacterias son iguales. La diferencia radica en una variación a nivel genético que determina por ejemplo la presencia de pared celular o bien la necesidad de oxígeno o de determinada temperatura para sobrevivir. (Musto, Bosisio, do Nascimento, Iserle, Orellana, Rota, Ramírez y Stephan, 2013).

Clasificación Bacteriana. Dado el elevado número de bacterias existentes, se hace necesario clasificarlas de alguna manera. Para realizar una clasificación preliminar se hace una distinción macroscópica y microscópica,

se utiliza su tamaño (de 1 a 20 uM o más), forma (esferas, bastones y espirales), su disposición espacial (células aisladas, en cadenas y formando grupos), requerimientos para crecer, su capacidad de despertar la respuesta inmune y por último su genotipo (Musto y cols., 2013).

Distinción Macroscópica y Microscópica. Las bacterias crecen en colonias y cada una de ellas equivaldría a una ciudad con un millón o más de organismos. La suma de sus características condiciona los rasgos que definen a una colonia, como su color, tamaño, forma u olor. La capacidad de resistir frente a determinados antibióticos, de fermentar azúcares específicos, de lisar eritrocitos o de hidrolizar los lípidos, se puede determinar también mediante el uso de los medios de cultivos adecuados (Musto y cols., 2013).

El crecimiento bacteriano fuera de su hábitat natural se denomina crecimiento en cultivo. Un cultivo es una población de microorganismos que crece en un ambiente artificial, y el soporte que permite su crecimiento fuera de su hábitat se llama medio de cultivo. El crecimiento bacteriano se da naturalmente por ejemplo en un hospedador viviente, este crecimiento es conocido como *in vivo*. Los medios de cultivo permiten obtener poblaciones de bacterias *in vitro*, es decir fuera de su ambiente natural (Musto y cols., 2013).

El aspecto microscópico incluye el tamaño, la forma y la disposición de los gérmenes (cocos, diplococos, bacilos, curvos, espirales, cúmulos, en cadena) al igual que la capacidad de captar un colorante. Todas estas características son herramientas que se utilizan para la identificación de las bacterias (Musto y cols., 2013).

Tinciones. Son procedimientos usados para teñir y así visualizar, diferentes microorganismos, entre ellos las bacterias, las cuales no serían visibles al microscopio óptico por ser transparentes. Las tinciones se efectúan generalmente sobre bacterias desecadas y calentadas para coagular sus

proteínas (proceso de fijación). La tinción de Gram es una prueba rápida, simple y con resultado suficientemente definitorio como para permitir al clínico que distinga entre dos clases fundamentales de bacterias. De esta forma, se establece un diagnóstico inicial y se puede comenzar un tratamiento basándose en esta diferencia (Musto y cols., 2013).

En la tinción de Gram, las células bacterianas se fijan con calor o se dejan secar sobre el portaobjetos y luego se tiñen con cristal violeta, que es un colorante que se precipita con yodo, posteriormente se elimina el colorante que no ligó lavando el portaobjetos con un líquido decolorante, se añade luego un contraste que es la safranina para teñir a las células decoloradas. Las bacterias grampositivas se tiñen de morado porque el colorante queda atrapado en una gruesa capa de peptidoglucanos a modo de malla entrelazada que rodea a la célula. Las bacterias gramnegativas tienen una capa de peptidoglucanos más delgada, que no retiene el cristal violeta, de forma que las células se tiñen con la safranina empleada como contraste y se ven rojas (Musto y cols., 2013).

Hay bacterias que no pueden ser clasificadas mediante la tinción de Gram como las micobacterias, estos microorganismos tienen una cubierta externa cerosa y solo pueden distinguirse mediante una tinción ácido-alcohólica (Musto y cols., 2013).

Antibióticos y clasificación

El término “antibiótico” define a los productos capaces de inhibir o matar a las bacterias, en la tabla 5 se agrupan según su mecanismo de acción (Lopardo, 2020).

Tabla 5. Clasificación de los antibióticos según su mecanismo de acción.

Inhibidores de la pared celular		Inhibidores de la biosíntesis de proteínas	Alteración de la estructura de los Ácidos Nucleicos
Betalactámicos	Penicilinas	Tetraciclinas	Rifamicinas
	Cefalosporinas	Anfenicoles	Quinolonas
	Monobactames	Aminoglucósidos	Nitroimidazoles
	Carbapenemes	Oxazolidinonas	Nitrofuranos
Otros Inhibidores	Glucopéptidos	Macrólidos	Alteración de las membranas celulares
	Fosfomicina	Lincosamidas	
		Estreptograminas	Lipopéptidos
		Ácido fusídico	
Drogas antituberculosas		Inhibidores de la síntesis del folato	
Isoniazida		Sulfamidas	
Etambutol		Trimetoprima	
Pirazinamida		Trimetoprima- sulfametoxazol	

Elaborado por Vivas y Cordero (2024), a partir de información extraída de Lopardo, 2020.

Actividad Antibacteriana

Diferentes métodos de laboratorio pueden ser usados para determinar *in vitro* la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos, pero estos no son igualmente sensibles o no se basan en los mismos principios, permitiendo que los resultados sean influenciados por el método seleccionado, los microorganismos usados y el grado de solubilidad de cada compuesto evaluado (Ramírez y Castaño, 2009).

Los métodos para evaluar la actividad antibacteriana están clasificados, en tres grupos principales: Métodos de difusión, métodos de dilución y bioautografía, un cuarto método es el análisis conductimétrico, el cual detecta

el crecimiento microbiano como un cambio en la conductividad eléctrica o impedancia del medio de cultivo (Ramírez y Castaño, 2009).

Métodos de Difusión. El método de difusión en agar está apoyado por datos clínicos y de laboratorio; y presenta la ventaja que sus resultados son altamente reproducibles. La técnica está basada en el método de Kirby-Bauer. Este método de difusión en disco o en pozo fue estandarizado y es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2012) de Estados Unidos. El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar, sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia (Hacek, Dressel y Peterson, 1999).

Métodos de Dilución. El método de dilución en agar o en caldo como test de susceptibilidad microbiana es utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibitoria (CMI), estas variables son una herramienta para investigar nuevos antimicrobianos (Andrews, 2001).

En la técnica de dilución en caldo, son utilizados tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones crecientes del extracto vegetal, el organismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las microplacas y la CMI es determinada después de la incubación (Ramírez y Castaño, 2009).

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Para poder medir la sensibilidad de una bacteria a un antibiótico determinado, se debe tener en cuenta la concentración mínima inhibitoria (CMI), que se define como la menor concentración de antimicrobiano capaz de inhibir el desarrollo de una cepa bacteriana dada. Así se logra alcanzar en el organismo la CMI con dosis terapéuticas, pudiendo afirmar que la cepa es sensible al antibiótico. La CMI se ha establecido como *gold standard* frente a otros métodos que evalúan susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, da respuestas definitivas cuando el resultado obtenido por otros métodos es indeterminado (Ramírez y Castaño, 2009).

Bioautografía. Es una técnica que involucra un método de separación como la cromatografía en papel, y una biológica (difusión en gel) en el cual se pueden evaluar tanto hongos (saprofitos) como bacterias (Kline y Golab, 1965).

Definición Operacional de Términos

Eicosanoides

Los eicosanoides son lípidos derivados de ácidos grasos poliinsaturados que se obtienen de la ingesta de ácidos grasos omega-6 y omega-3 ácido docosahexaenoico [DHA]). Estos lípidos son sintetizados enzimáticamente por lipoxigenasas (LOX) y/o ciclooxigenasas (COX) en leucocitos, células endoteliales y plaquetas (Escalona y Juárez, 2022).

Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Se define como la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento de un organismo después de subcultivar en un medio libre del compuesto evaluado (Andrews, 2001).

Operacionalización de las Variables

Tabla 6. Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de *Buddleja americana*.

Variable	Tipo de Variable	Definición conceptual
Actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de <i>Buddleja americana</i> .	Dependiente Cuantitativa	Capacidad que poseen ciertas sustancias de inhibir el crecimiento bacteriano. (Ramírez y Castaño, 2009).
Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Método de difusión en Disco (Kirby-Baüer).	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Escherichia coli</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i>	-Sensible -Sensibilidad Intermedia -Resistente -Presencia o ausencia del halo de inhibición frente a bacterias (mm).

Elaborado por Vivas y Cordero, 2024.

Tabla 7. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de los tallos de *Buddleja americana*.

Variable	Tipo de Variable	Definición conceptual
Composición química de los extractos de los tallos de <i>Buddleja americana</i>	Independiente Cualitativa	Estudios químicos que permiten aislar e identificar metabolitos secundarios presentes en especies vegetales (Plaza, 2015).
Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Tamizaje fitoquímico.	1. Alcaloides: Reacciones de Dragendorff, Wagner y Mayer.	Aparición de turbidez o precipitados.
	2. Esteroles y/o triterpenos: Reacción de Liebermann-Burchard	Esteroles: coloración azul overde. Triterpenos: coloraciones rosa, rojo, magenta o violeta.
	3. Saponinas: prueba de espuma	Formación de abundante espuma.
	4. Compuestos fenólicos simples: con cloruro férrico	Coloración de azul a negro.
	5. Taninos: prueba de Gelatina.	Presencia de precipitado blanco.
	6. Flavonoides: Reacción de Shinoda y NaOH 10%.	Flavonas: naranja a rojo. Flavonoles: rojo. Flavononas: magenta.
	7. Quinonas y Antraquinonas: con hidróxido de amonio y ácido sulfúrico concentrado.	Presencia de coloración roja.
	8. Cumarinas: Hidróxido de amonio.	La presencia de fluorescencia azul-violeta.
	9. Glicósidos cardiotónicos: Ensayo de Kedde	Coloración violácea.
	10. Lactonas Sesquiterpénicas: con Hidroximato férrico	Las coloraciones roja, violeta o rosa.

Elaborado por Vivas y Cordero, 2024.

Hipótesis

Diversos estudios previos han demostrado que el género *Buddleja* posee múltiples actividades biológicas de interés debido a la presencia de metabolitos secundarios, por lo que podemos suponer, que es posible que los compuestos químicos de los tallos de *Buddleja americana* presenten actividad antibacteriana frente a cepas ATCC de bacterias grampositivas y gramnegativas de interés clínico.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

El tipo de investigación se refiere a la clase de estudio que se va a realizar. Orientada sobre la finalidad general del estudio y sobre la manera de recoger las informaciones o datos necesarios (Martins y Palella, 2014).

Esta investigación es de tipo confirmatorio, ya que tiene como propósito verificar hipótesis referidas a relaciones entre eventos o variables, se busca la posible relación entre la composición química de los extractos de los tallos de *Buddleja americana* y la actividad antibacteriana frente a diferentes bacterias.

Diseño de la Investigación

El diseño de investigación se refiere a la estrategia que adopta el investigador para responder al problema, dificultad o inconveniente planteado en el estudio. Para fines didácticos, se clasifican en diseño experimental, de campo y documental (Hurtado, 2010).

El diseño experimental es aquel según el cual el investigador manipula una variable experimental no comprobada, bajo condiciones estrictamente controladas (Martins y Palella, 2014).

En tal sentido, esta investigación es de carácter experimental y de campo, dado que la especie vegetal fue recolectada en su hábitat natural y procesada bajo condiciones estrictamente controladas en el Laboratorio “A” de Productos Naturales “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”, del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes (ULA).

Población y Muestra

Unidad de Investigación

Según Arias (2006), la población, es un conjunto finito o infinito de elementos que se desea estudiar. López (2004), define a la muestra como un subconjunto o parte de la población en que se llevará a cabo la investigación; siendo una parte representativa de la misma. En este trabajo, la unidad de investigación fue la especie *Buddleja americana*, recolectada en el Municipio Libertador del Estado Mérida.

Selección del Tamaño de la Muestra

Hernández, Fernández y Baptista (2006), clasifican el muestreo en dos grandes grupos; unos son los probabilísticos, basados en el fundamento de equiprobabilidad y los métodos no probabilísticos que seleccionan cuidadosamente a los sujetos de la población utilizando criterios específicos.

El tipo de muestra utilizada en esta investigación fue no probabilístico, y está representada por los 161 g de tallos de la especie *Buddleja americana*.

Sistema de Variables

Ramírez (1999), plantea que una variable es la representación característica que puede variar entre individuos y presentan diferentes valores. Álvarez (2008), expresó que los tipos de variables de una investigación se pueden clasificar y distinguir de diversas maneras dependiendo de los tipos de valores que toman las mismas, siendo necesario distinguir las variables independientes, dependientes e intervinientes.

En la presente investigación la variable dependiente está relacionada con la actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de *Buddleja americana* y la variable independiente corresponde a la composición química del extracto obtenido de los tallos de dicha especie.

Instrumento de Recolección de Datos

La recolección de datos se hizo con registros, ya que la información sobre el objeto de estudio, es posible obtenerla a través de archivos de determinadas fuentes bibliográficas confiables, con el fin de conocer la historia, taxonomía, composición y usos de la especie *B. americana*, también con cuadernos de trabajos en donde se registraron los resultados de cada prueba realizada y que posteriormente sirvió para elaborar tablas tanto para la composición química como para la actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de dicha especie.

Procedimientos de la Investigación

Recolección de la planta y preparación del material vegetal

La planta fue recolectada en el jardín de plantas medicinales Doctor Luis Ruiz Terán, ubicado en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, su identificación botánica se realizó en el herbario MERF.

Obtención de los extractos de *Buddleja americana*

En primer lugar, se llevó el material vegetal (tallos) con un peso de 161 g a una estufa a 40 °C hasta total sequedad, se trituró con un mortero y se agregaron a un balón, después se llevó a cabo el ensamblaje del equipo de

extracción, se agregaron 200 mL de cada solvente, utilizando hexano y etanol para obtener los extractos por separados de cada uno. Se conectó el equipo a una manta eléctrica y se mantuvo a una temperatura de 45 °C para el extracto de hexano y 40 °C para el extracto de etanol durante una hora. Se dejó enfriar durante unos minutos y se filtró en un matraz utilizando un embudo y papel filtro. Este proceso se realizó en el Laboratorio “A” de Productos Naturales del IIFFB.

Concentración de los extractos con el rotavapor

Se llenó hasta la mitad un matraz de fondo redondo con los extractos anteriormente filtrados, cada uno por separado. El matraz se conectó a un rotavapor digital, el baño maría del rotavapor se calentó a una temperatura adecuada para evaporar el solvente y se activó el equipo. Se bajó el montaje hasta que tocó el baño de maría y se destiló el contenido. Posteriormente, se desmontó el equipo y se transfirió el contenido remanente del matraz a un frasco ámbar. Este procedimiento se repitió para ambos extractos.

Determinación del perfil fitoquímico de los extractos de hexano y etanol de *Buddleja americana*

Los extractos fueron sometidos a un tamizaje fitoquímico cualitativo para identificar los metabolitos secundarios presentes (Ver figura 11). Esta prueba consiste en someter los extractos a diferentes reacciones químicas, descritas a continuación:

1. Alcaloides: En tres tubos se disolvieron de 1-2 mg de la muestra del extracto etanólico en 5 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 10 %, se llevó a calentamiento en baño de María por 1 hora, se dejó enfriar y luego se filtró la

muestra. Posteriormente se dividió el filtrado (1,0 mL) en 3 tubos de ensayo identificados para cada reactivo (Bermejo y cols., 2014).

- **Prueba de Dragendorff:** Se agregó gotas de sales de metales pesados como el yoduro de potasio al tubo identificado como “D”, la prueba es positiva si se aprecia un precipitado de color naranja. Es positivo si hay opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitado (+++) (Bermejo y cols., 2014).

- **Prueba de Mayer:** Se agregó yoduro de potasio y mercurio al tubo identificado como “M”, la prueba es positiva si se aprecia un precipitado de color blanco (Bermejo y cols., 2014).

- **Prueba de Wagner:** Se agregó Reactivo de Wagner (solución de yoduro de potasio) al tubo identificado como “W”, La prueba es positiva si se aprecia un precipitado de color pardo rojizo (Bermejo y cols., 2014).

2. Triterpenos/esteroles:

- **Ensayo de Liebermann-Burchard.** Se disolvieron cada uno de los extractos en 10 mL de cloroformo; a una alícuota de 5 mL se le adicionaron 0,25 mL de anhídrido acético más dos gotas de ácido sulfúrico concentrado. La formación de diferentes colores indica la presencia de fitoesteros o terpenos. El color verde indica la presencia de fitoesteros, mientras que de rosa a morado indica la presencia de terpenos y triterpenos (Bulugahapitiya, 2013).

3. Compuestos Fenólicos:

- **Prueba de cloruro férrico (FeCl_3):** se disolvió la muestra (1-2 mg) en 1 mL de etanol añadiendo unas gotas de cloruro férrico al 5 %, la coloración verde azul o negra indica la positividad de la prueba (Bermejo y cols., 2014).

4. Saponinas:

- **Ensayo de Espuma.** En un tubo de ensayo se agrega 1 mL de extracto acuoso, agitar vigorosamente y se toma la altura de la espuma. Se considera

positiva la prueba si se obtiene de 8 mm a 10 mm de altura estable por 30 minutos (Bermejo y cols., 2014).

5. Taninos:

- **Ensayo de la gelatina:** permitió reconocer la presencia de taninos en el extracto de etanol, se tomó 1-2 mg de la muestra y se disolvió en 2 mL de solución de gelatina. Se observó la presencia de precipitado blanco que indica la positividad de la prueba (Marcano y Hasewaga 2002).

6. Flavonoides:

- **Prueba de Shinoda:** se disolvieron 1-2 mg de la muestra en 1 mL de etanol y luego se adicionaron virutas de magnesio y unas gotas de HCl concentrado; si se obtiene una coloración roja indica la presencia de auronas o chalconas. En cambio, si se forma una coloración naranja a rojo, indica la presencia de flavonas; si es rojo flavonoles y si es magenta flavononas (Bermejo y cols., 2014).

- **Prueba de NaOH al 10 %:** se agregó unas gotas de NaOH al 10 %, la presencia de un precipitado color pardo se toma como positivo (Bermejo y cols., 2014).

7. Cumarinas:

- **Reacción con NH_4OH concentrado:** Se disolvió la muestra (1-2 mg) en 1 mL de etanol se agregaron unas gotas de hidróxido de amonio concentrado y se expuso el tubo a la lámpara de luz ultravioleta (UV) a 365 nm, la presencia de fluorescencia azul/verde indicó la positividad de esta (Bermejo y cols., 2014).

8. Antraquinonas:

- **Reacción con NH_4OH concentrado:** Al extracto de etanol se le agrego una gota de hidróxido de amonio concentrado. Si la capa orgánica toma una

coloración roja al alcalinizarla, hay antraquinonas presentes (Bermejo y cols., 2014).

9. Quinonas:

- **Reacción con ácido sulfúrico:** Se agregó 1 gota de ácido sulfúrico concentrado a una porción del extracto (Hexano y etanol) que se ha colocado en una capsula de porcelana. La formación de una coloración roja indica la presencia de quinonas (Marcano y Hasegawa, 2002).

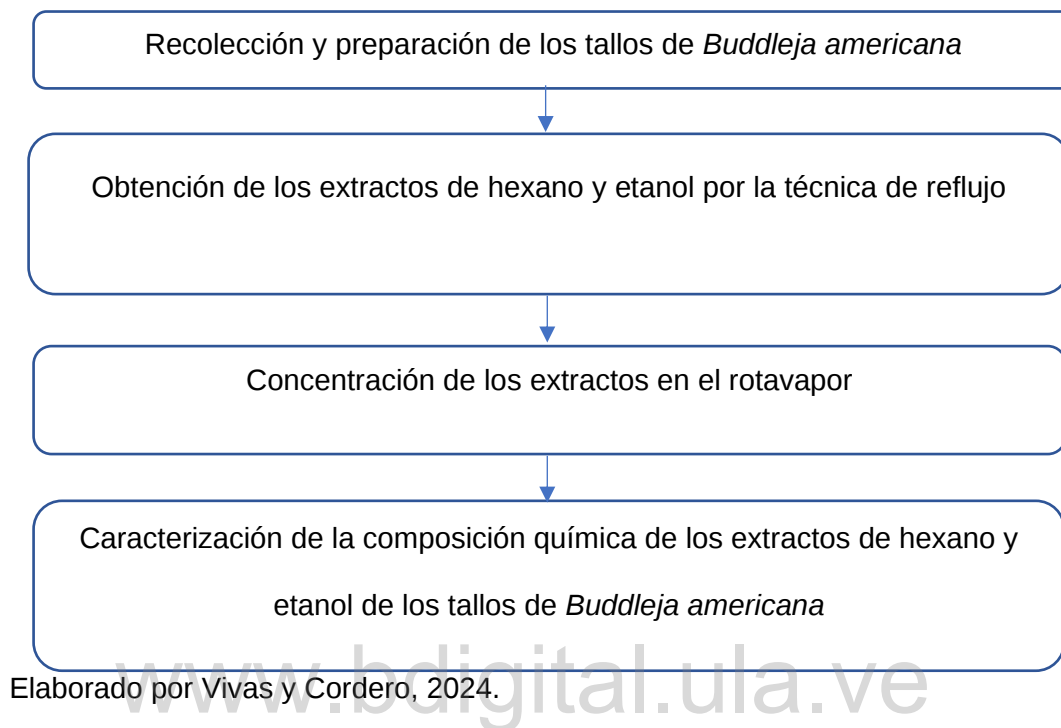
10. Lactonas sesquiterpénicas

- **Prueba de Baljet.** Disolver los extractos y adicionar de 3 a 4 gotas del reactivo de Baljet; un cambio de coloración de naranja a rojo demuestra la presencia de lactonas sesquiterpénicas (García, Cruz, Alarcón, Nieto y Gallegos, 2019).

11. Glicósidos cardiotónicos:

- **Ensayo de Keller-Kiliani:** Disolver el extracto en 1 mL de agua destilada, se agregan 2 mL de ácido acético glacial y posteriormente se adicionan algunas gotas de cloruro férrico al 5 %. Verter cuidadosamente en tubos de ensayo con 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. La formación de un anillo marrón en la interfaz indica la presencia de glicósidos cardiotónicos, al igual que la formación de un anillo violeta debajo del anillo marrón; un anillo verdoso también puede formarse gradualmente, indicando la presencia de estos compuestos (Bulugahapitiya, 2013).

Figura 11. Procedimiento para el análisis fitoquímico de *Buddleja americana*



Determinación de la actividad antibacteriana

La técnica se basó en el método de Kirby-Baüer. Esta prueba se desarrolló en el Laboratorio de actinomicetos del Instituto de Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (ULA), donde se evaluó la técnica de difusión en disco.

Preparación de las muestras

Se usó solo el extracto de etanol para la actividad antibacteriana en concentración de 10 mg/mL, pues fue la fracción de la que se obtuvo mayor barrido fitoquímico en DMSO.

Microorganismos utilizados

Para esta investigación se seleccionaron cinco especies bacterianas: dos grampositivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), tres gramnegativas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). Estas especies son de referencia internacional y forman parte de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC). Las bacterias se obtuvieron del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Método de difusión de discos en agar para actividad antibacteriana:

Preparación de los inóculos

Las cepas bacterianas por ensayar se incubaron previamente en placas con agar Müller Hinton por 16-18 horas a 37 °C, posteriormente se preparó un inóculo N° 0,5 McFarland (1×10^8 UFC/ mL). Ver figura 12.

Preparación de las placas

Para la actividad antibacteriana, se preparó el medio Agar Müller Hinton (HIMEDIA ®) según indicaciones del fabricante. Se vertieron 20 mL de cada medio en placas de Petri y se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

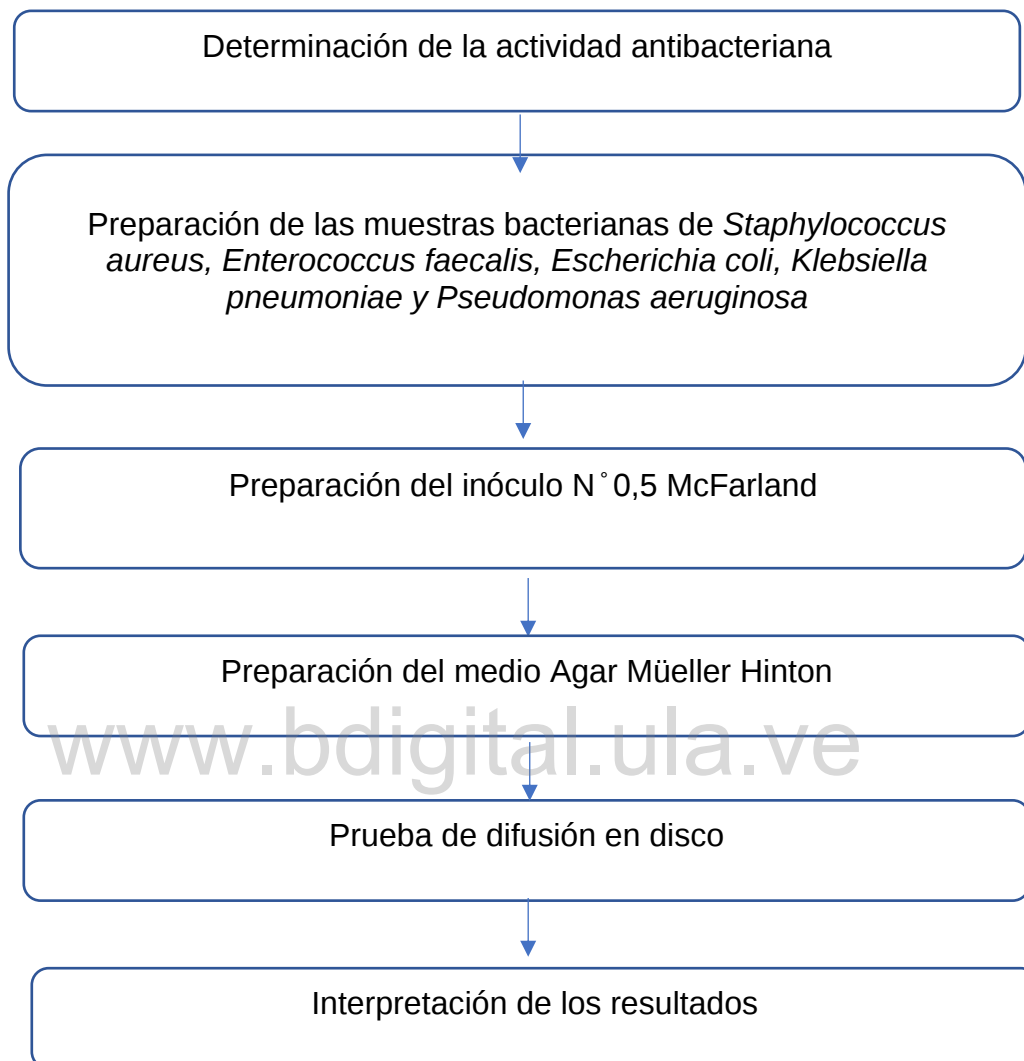
Prueba de difusión en disco

Con la ayuda de un hisopo, se inoculó la superficie de placas de agar Müeller Hinton con las soluciones bacterianas previamente preparadas. Se utilizaron discos de papel filtro Whatmann No 1 de 6 mm de diámetro los cuales se esterilizaron bajo luz ultravioleta (LUV), durante 1 hora. Se impregnaron con 10 µL del extracto de etanol de *Buddleja americana* con concentración de 10 mg/mL.

Interpretación de los resultados

Un resultado se considera positivo o sensible cuando se detecta una zona de inhibición alrededor del disco, mientras que se interpreta como negativo o resistente cuando no se observa dicha zona. El diámetro de la zona de inhibición, que resulta de la actividad antibacteriana de las muestras en investigación, se expresa en milímetros (mm).

Figura 12. Procedimiento para determinar la actividad antibacteriana



Elaborado por Vivas y Cordero, 2024.

Diseño de Análisis

Hernández y cols (2006) refirieron que existen dos tipos de enfoques de investigación: cualitativo y cuantitativo. La metodología cuantitativa se basa en métodos de recolección de datos con medición numérica y análisis matemático mientras que la metodología cualitativa se basa en los principios

teóricos desarrollados en la investigación. Por lo tanto, en nuestra investigación se utilizaron ambos enfoques, uno cuantitativo al medir los halos de inhibición en milímetros (mm) de las pruebas de susceptibilidad antibacteriana y un enfoque cualitativo al observar las características químicas en las pruebas de identificación.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

Determinación del porcentaje de rendimiento de los extractos de hexano y etanol de los tallos de *Buddleja americana*

A partir de 76,83 g de tallos secos y molidos, se logró obtener 0,18 g del extracto de hexano y 2,13 g del extracto de etanol, con un porcentaje de rendimiento de 0,23 % y 2,77 % respectivamente (Tabla 8).

Tabla 8. Resultados del rendimiento de los extractos de *B. americana*.

Extractos	Hexano	Etanol
Masa inicial de los tallos secos y molidos (g)	76,83	76,83
Masa final del extracto (g)	0,18	2,13
Porcentaje del Rendimiento	0,23 %	2,77 %

Elaborado por Vivas y Cordero, 2024.

Análisis fitoquímico de los tallos de *Buddleja americana*

Se determinaron los metabolitos secundarios contenidos en *Buddleja americana*, al someter los extractos de hexano y etanol a las diferentes reacciones químicas descritas en el capítulo anterior. Estas pruebas se basan en reacciones de cambios de color, formación de precipitados, producción de espuma y fluorescencia por exposición a la luz UV. Los resultados se interpretaron como negativo (-) o positivo (poco: +, moderado: ++, abundante: +++).

Los resultados del análisis indicaron la existencia de alcaloides en el extracto de etanol y esteroides en los extractos de hexano y etanol mediante la formación de un anillo color verde claro y verde oscuro respectivamente. Las pruebas de alcaloides resultaron positivas solo en el extracto de etanol, observándose en la prueba de Dragendorff un precipitado rojizo y mostrando un precipitado de color naranja y blanco en las pruebas de Meyer y Wagner.

Se observó en el ensayo de Liebermann-Burchard una coloración verde oscura intensa, tanto para el extracto de hexano como para el extracto de etanol, siendo esta característica en los esteroides, también se evidenció en el extracto con etanol quinonas que se evidenciaron por la formación de una coloración roja al agregar ácido sulfúrico y glicósidos cardiotónicos evidenciados por la formación de un anillo marrón ligero. En la Tabla 9 se puede apreciar los resultados de la composición química (Ver figuras 13-16).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 9. Resultados de la composición química de los extractos de los tallos de *Buddleja americana*.

Prueba Química		Extracto Hexano (apolar)	Extracto Etanol (polar)
Alcaloides	Dragendorff	ND	+
	Meyer		+
	Wagner		+
Triterpenos y esteroles:		Triterpenos: -	Triterpenos: -
		Esteroles: Verde ++	Esteroles: Verde + + +
Compuestos fenólicos		ND	-
Saponinas		ND	-
Taninos		ND	-
Flavonoides		Shinoda: -	Shinoda: -
		NaOH: -	NaOH: -
Cumarina		-	-
Antraquinonas		-	-
Quinonas		-	+
Lactonas sesquiterpénicas		-	-
Glicósidos Cardiotónicos		ND	+
Leyenda: Negativo: -, Positivo: Abundante: +++, Moderado: ++, Escaso: +. No Determinado: ND			

Elaborado por Vivas y Cordero, 2024.

Figura 13. Resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico de los tallos de *Buddleja americana*.

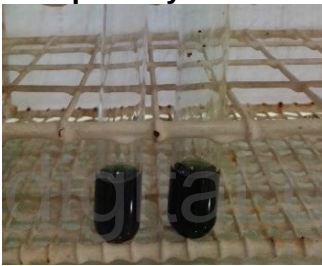
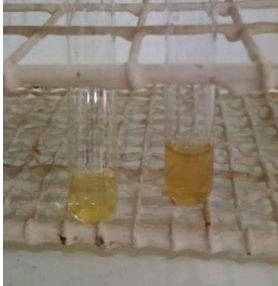
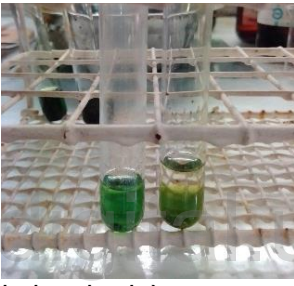
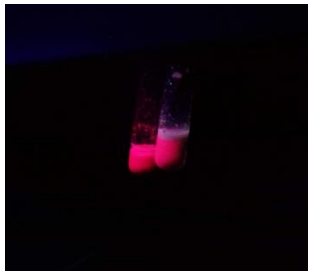
Alcaloides  Extracto etanol (lado izquierdo) extracto hexano (lado derecho).	
Extracto etanol Dragendorff: + (Precipitado rojizo). Wagner: + (Pequeñas floculaciones). Mayer: + (Precipitado blanco).	Extracto hexano Dragendorff: - Wagner: - Mayer: -
Triterpenos y esteroides:  Extracto hexano (lado izquierdo) extracto etanol (lado derecho)	
Extracto etanol Liebermann-Burchard: + + + (Verde oscuro intenso).	Extracto hexano Liebermann-Burchard: + + (Verde oscuro intenso).
Compuestos Fenólicos  Extracto hexano (lado izquierdo) extracto etanol (lado derecho)	
Extracto etanol Cloruro férrico (FeCl₃): -	Extracto hexano Cloruro férrico (FeCl₃): -
Elaborado por Vivas y Cordero, 2024.	

Figura 14. Resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico de los tallos de *Buddleja americana* (Continuación).

Saponinas  Extracto hexano (lado izquierdo) extracto etanol (lado derecho)	
Extracto etanol Ensayo de Espuma: -	Extracto hexano Ensayo de Espuma: -
Flavonoides  Extracto hexano (lado izquierdo) extracto etanol (lado derecho)	
Extracto etanol Ensayo de Shinoda: -	Extracto hexano Ensayo de Shinoda: -
Cumarinas  Extracto hexano (lado izquierdo) extracto etanol (lado derecho).	
Extracto etanol Hidróxido de Amonio: -	Extracto hexano Hidróxido de Amonio: -

Elaborado por Vivas y Cordero, 2024.

Figura 15. Resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico de los tallos de *Buddleja americana* (Continuación).

Quinonas  Extracto hexano (lado izquierdo) extracto etanol (lado derecho)	
Extracto hexano Ácido Sulfúrico: -	Extracto etanol Ácido Sulfúrico: + (coloración rojiza leve).
Glicósidos Cardiotónicos  Extractos etanol (lado izquierdo) extractos hexano (lado derecho)	
Extracto hexano Ensayo de Keller-Kiliani: -	Extracto etanol Ensayo de Keller-Kiliani: + (anillo marrón).
Antraquinonas  Extracto hexano (lado izquierdo) extracto etanol (lado derecho).	
Extracto etanol Hidróxido de amonio: -	Extracto hexano Hidróxido de amonio: -

Elaborado por Vivas y Cordero, 2024.

Figura 16. Resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico de los tallos de *Buddleja americana* (Continuación).

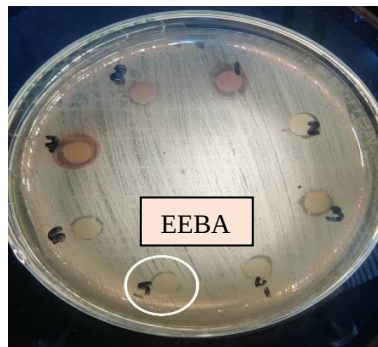
Lactonas Sesquiterpénicas	
	
Extracto etano (lado izquierdo) extracto hexano (lado derecho).	
Extracto etanol Hidroximato férrico: -	Extracto hexano Hidroximato férrico: -

Elaborado por Vivas y Cordero, 2024.

Determinación de la actividad antibacteriana

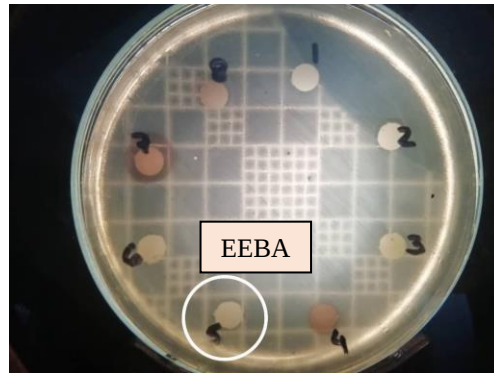
La actividad antibacteriana se realizó a través del método de difusión en disco (Kirby-Baüer) y fue estudiado solo en el extracto de etanol de los tallos de *Buddleja americana* a una concentración de 10 mg/mL (EEBA), los resultados obtenidos son presentados en las siguientes figuras (figura 17-21).

Figura 17. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* 25923



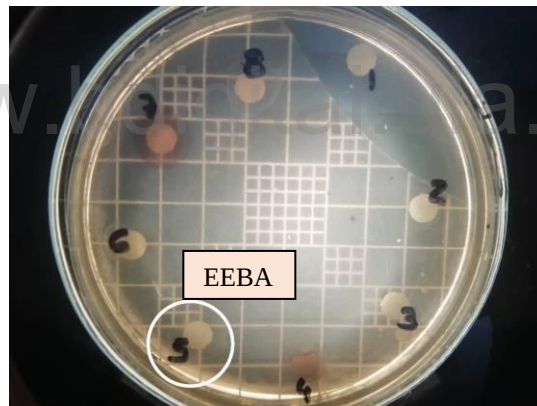
Elaborado por Vivas y Cordero, 2024

Figura 18. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de *Enterococcus faecalis* 29212



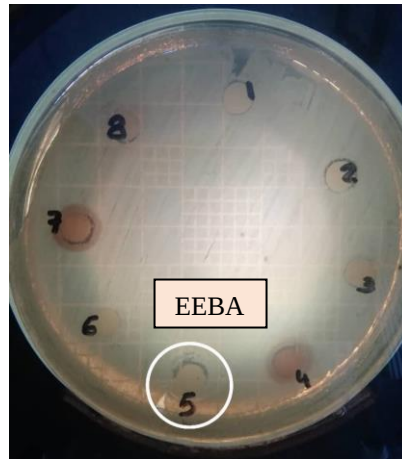
Elaborado por Vivas y Cordero, 2024

Figura 19. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de *Escherichia coli* 25922



Elaborado por Vivas y Cordero, 2024

Figura 20. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de *Klebsiella pneumoniae* 23357



Elaborado por Vivas y Cordero, 2024

Figura 21. Método de difusión en disco utilizando cepa ATCC de *Pseudomonas aeruginosa* 27853



Elaborado por Vivas y Cordero, 2024

Tabla 10. Resultados de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del extracto de etanol de *Buddleja americana*

Cepas bacterianas ATCC	Extracto de etanol [10 mg/mL]	Control Positivo	Control Negativo
<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	8 mm	Eritromicina 26 mm	DMSO -
<i>Enterococcus faecalis</i> 29212	7 mm	Ampicilina 17 mm	DMSO -
<i>Escherichia coli</i> 25922	0 mm	Piperacilina 21 mm	DMSO -
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 23357	10 mm	Piperacilina 18 mm	DMSO -
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	7 mm	Piperacilina 32 mm	DMSO -

Leyenda: DMSO (Dimetilsulfóxido).

Elaborado por: Vivas y Cordero, 2024.

Discusiones

En el estudio realizado por Arellano y Pérez (2023), determinaron la composición fitoquímica y actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos de las hojas de *Buddleja americana*, mediante la técnica de reflujo en caliente lograron identificar en el extracto de hexano la presencia de esteroides escasos y triterpenos moderados, y en el extracto de etanol identificaron alcaloides abundantes y esteroides moderados. En la presente investigación solo se observó la presencia de esteroides en el extracto de hexano, mientras que en el extracto con etanol se observó una mayor cantidad de metabolitos como alcaloides, esteroides, quinonas y glicósidos cardiotónicos, siendo una posible causa de esta discrepancia la parte de la planta seleccionada, ya que las demás condiciones como la técnica de extracción y los solventes utilizados fueron los mismos. Por otra parte, Arellano y Pérez (2023) obtuvieron halos de inhibición frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* de 7 mm, *K. pneumoniae* de 8 mm y las cepas de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *C. albicans* y *C. krusei* no presentaron halos de inhibición; relacionándose dichos resultados con la investigación realizada por Ticona y colaboradores (2022), en donde aislaron compuestos de *Buddleja coriacea* y evaluaron su actividad antibacteriana y antiinflamatoria en el tracto urinario, obteniendo resultados satisfactorios en cuanto a la CMI en cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* que oscilaban entre 37,51 a 37,92 µg/mL correspondiéndose con los resultados de los autores anteriores y con los presentados en esta investigación, en donde se obtuvo un halo de inhibición de 10 mm y 7 mm respectivamente, sugiriéndose que un compuesto común en los extractos como la aucubina podría ser el responsable de la actividad contra *K. pneumoniae*, tal como lo explica Tello (2020), afirmando que la aucubigenina, el cual es un principio activo de la aucubina, forma un

dialdehído que tiene efecto bactericida, logrando desnaturalizar las proteínas de los microorganismos.

Ticona y colaboradores (2022), identificaron en el extracto acuoso de las hojas de *Buddleja coriacea* una serie de compuestos polifenólicos, flavonoides o alcaloides, de igual manera lograron identificar otro grupo de compuestos tales como alcoholes, éteres y glucósidos flavonoides; coincidiendo con lo reportado por Yamamoto y colaboradores (1993), al encontrar flavonoides, iridoides, feniletanoides en las raíces de *Buddleja davidii*. Por otra parte, Otero y colaboradores, (2022) evaluaron los extractos etanólicos de las hojas de *Buddleja globosa* para la actividad bacteriostática contra *S. aureus* y *E. coli*, presentando una CMI de 1 mM. Una purificación adicional reveló que la molécula responsable de este efecto fue el verbascósido; relacionándose con los resultados de Cock y cols.,(2022), donde afirman que diversos estudios del género *Eremophila* perteneciente a la familia Scrophulariaceae son ricos en terpenoides, compuestos que ya han sido investigados como antimicrobianos; algunos de esos estudios evaluaron la fracción de hexano que mostró una buena actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* con valores CMI de 65 g/mL, concordando con el estudio de Kartini y cols., (2023), donde observaron un efecto antibacteriano de la aucubina contra cepas de *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis*, con valores de CMI de 8 a 128 µg/mL respectivamente, relacionándose también con efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antidepresivos, antidiabéticos, antifibróticos, antimicrobianos, anticancerígenos; razón por la cual se infiere que la aucubina presente en el género *Buddleja* es uno de los metabolitos secundarios principales de la actividad antibacteriana en este género.

Houghton (1984), estudio la composición de varias especies del género *Buddleja*, encontrando dentro de sus metabolitos secundarios terpenoides y fenilpropanoides, respaldando su uso en la medicina tradicional para tratar la

disentería, inflamaciones oculares y cutáneas, así como agentes diuréticos y antibacterianos y discrepando de los resultados obtenidos en la presente investigación al no identificarse compuestos fenólicos en los extractos de los tallos de *B. americana*, pudiendo explicarse por su variación geográfica o especie, como lo afirman Torres, Montes y Espinosa (2009) en su estudio “Patrones de variación y distribución geográfica en fenotipos químicos foliares de *Persea americana* var. *drymifolia*” y por su variabilidad en el clima, estaciones o horas de recolecta, como lo explica Franco (2021), llegando a la conclusión de que hubo variación significativa respecto a la hora de recolecta en los fenoles y ácidos fenólicos, así como durante la estación seca los fenoles simples, ácidos fenólicos estuvieron relativamente en mayor cantidad, mientras que, durante la época de lluvias, se incrementaron los flavonoides y antocianinas.

Por otra parte, Díaz (1976), confirma la presencia de alcaloides cuya concentración es mayor en las raíces de *B. americana* y a la que se le atribuyen propiedades diuréticas, propiedades hipnóticas y posiblemente analgésicas, la diuresis producida por dichos extractos podría deberse a las altas cantidades de flavonoides presentes, ya que se sabe que tienen esta propiedad. Además, el iridoide aucubina que está presente en *Buddleja*, se sabe que estimula la secreción de ácido úrico y, por lo tanto, promueve la diuresis; por otra parte Miskovsky (2002) sugiere que el mecanismo de acción de los alcaloides parece ser mediante intercalación entre la pared celular y el ADN del microorganismo, además las quinonas poseen una alta reactividad formando complejos con los aminoácidos hidrofóbicos de las proteínas, la mayoría de las veces activando la proteína y anulando su función, debido a esto el potencial antimicrobiano de este grupo es bastante amplio.

Por otro lado, Cuevas y colaboradores (2022), estudiaron los extractos de cloroformo y las fracciones obtenidas de diferentes sub-extractos de las partes aéreas de *B. perfoliata*, determinaron su actividad antimicrobiana,

obteniendo como resultados del análisis fitoquímico la presencia de diterpenos, sesquiterpenos, triterpenoides y cetonas, mostrando una actividad antimicrobiana contra varios patógenos, con una CMI que oscilaban entre 100 y 200 µg/mL, destacando la actividad antibacteriana contra *S. aureus* con una CMI de 100 µg/mL, estos resultados se correlacionan con los obtenidos en la presente investigación, en donde la cepa de *S. aureus* presento un halo de inhibición de 8 mm a pesar de no haberse identificado los mismos metabolitos secundarios en ambas especies, por lo que se deduce que otro metabolito aún no identificado es el responsable de la actividad antibacteriana contra *S. aureus*. Los resultados obtenidos por Cejudo (2019), confirman el efecto inhibitorio de estos metabolitos sobre cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina, utilizando un extracto metanólico de células y hojas de *Buddleja cordata* a unas concentraciones de 0,64 µg/mL, obtuvieron un porcentaje de inhibición de 11,1-23,3 % y 2,4-15,7 % respectivamente, concordando con los estudios de Rahman y Kang (2009), en donde afirman que las bacterias gramnegativas contienen un lipopolisacárido que bloquea la penetración del extracto vegetal y evita la acumulación de los mismos en las membranas celulares diana, explicando de esta forma por qué las bacterias grampositivas son mas sensibles a los extractos que las gramnegativas; por otra parte, Carson, Mee y Riley (2002) afirman que los terpenos y alcoholes están relacionados con las propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, su mecanismo de acción frente a *S. aureus* parece deberse a una alteración en la membrana citoplasmática.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Mediante la técnica de extracción por reflujo y partiendo de una masa de tallos secos y molidos de 76,83 g de *Buddleja americana*, se obtuvieron rendimientos de 0,18 % y 2,13 % para los extractos de hexano y etanol respectivamente.
- En la determinación de la composición química del extracto de hexano de los tallos de *B. americana*, se observó la presencia de esteroides moderados.
- En el extracto de etanol de los tallos de *B. americana*, se observó la presencia de alcaloides, esteroides abundantes, quinonas y glicósidos cardiotónicos.
- El extracto de etanol de los tallos de *Buddleja americana* a una concentración de 10 mg/mL presentó la mejor actividad antibacteriana frente a las cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* con un halo de inhibición de 10 mm y 8 mm respectivamente.
- Las cepas de *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa* presentaron halos de inhibición de 7 mm; mientras que en la cepa de *Escherichia coli* no se evidenció actividad en el extracto de etanol de los tallos de *Buddleja americana*.

Recomendaciones

- Se recomienda utilizar otras especies bacterianas, tanto grampositivas como gramnegativas, para así poder definir el espectro de acción de los extractos de los tallos de *Buddleja americana*.
- Se recomienda variar la concentración del extracto y determinar la concentración mínima inhibitoria para las cepas que presentaron halos de inhibición en esta investigación.
- Se sugiere evaluar la CMI del extracto contra cepas de *S. aureus* resistentes a la metilicina, debido a su importancia clínica.
- Se sugiere el uso del extracto de etanol de los tallos de *Buddleja americana* frente a cepas de hongos, para poder evaluar su actividad antimicótica, así como como a especies del género *Mycobacterium*.

www.bdigital.ula.ve

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, W. (2008). *La Naturaleza de la Investigación*. Caracas, Venezuela: Biosfera.
- Andrews, J. (2001). Determination of Minimum Inhibitory Concentration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 48 (31), 5-16.
- Arango, G. (2008). *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. Medellín, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia.
- Arellano, A., y Perez, G. (2023). *Análisis fitoquímico y actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos de las hojas de Buddleja americana* (Tesis de Pregrado). Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Arias, B. (2009). Diversidad de usos, prácticas de recolección y diferencias según género y edad en el uso de plantas medicinales en Córdoba, Argentina. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 8 (5), 389-401.
- Arias, F. (2006). *El proyecto de la investigación. Introducción a la metodología científica*. Caracas, Venezuela: Episteme.
- Ávalos, A., y Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*. 2 (3), 119-145.
- Backhouse, N., Rosales, L., Apablaza, C., Goity, L., Erazo S., Negrete R., Theodoluz C., Rodríguez J., y Delporte C. (2008). Analgesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Buddleja globosa*, Buddlejaceae. *Journal of Ethnopharmacology*. 116 (2), 263-269.
- Bermejo, A. Pereira, S., Cintra, J., y Morales, G. (2014). Determinación de parámetros químico- físico de las tinturas al 20 % obtenidas de las hojas, tallos y frutos de *Melia azedarach* L. (Pursiana). *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 13 (5), 670-680.

- Bianco, A., Guiso M., Ballero, M., Foddai, S., Nicoletti, M., Piccin A., Serafini, M., y Tomassini, L. (2004). Glycosidic monoterpenes from *Linaria capraria*. *Natural Product Research*. 18(3), 241-6
- Bilbao, M. (1997). *Análisis fitoquímico preliminar: Química de productos naturales*. Armenia, Colombia: Editorial Armenia.
- Bulugahapitiya, V. (2013). *Plants based natural products extraction, Isolation and Phytochemical screening methods*. Matara, Perú: Editorial Indika Graphics.
- Burton, A., Falkenberg, T., Smith, M., Zhang, Q., Zhang, X., Boerma, T., y Lerberghe, W. (2006). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005*. Geneve, Suiza; Organización Mundial de la Salud (OMS).
- Bussmann, R., y Sharon, D. (2016). *Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía, La flora mágica y medicinal del Norte del Perú*. Trujillo, Perú: Graficart S.R.L.
- Cáceres, A. (1995). *Plantas de uso Medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Camacho, L., Portillo, J., Rivera, A., Sánchez., J., Franco, R., Duque, J., Velo, G., y Ishida, C. (2021). Multirresistencia, resistencia extendida y panresistencia a antibacterianos en el norte de México. *Cirugía y cirujanos*. 89(4), 426–434.
- Carson, C., Mee, B., y Riley, T. (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 46(6), 1914–1920.
- Cejudo, C. (2019). *Evaluación de la actividad antibacteriana contra Staphylococcus aureus resistente a meticilina de un extracto de células de Buddleja cordata* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma del Estado de México, México.

- Clinical Laboratory Standards Institute. (2012). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard— 9th ed. CLSI document M2-A9. 26:1*. Pennsylvania, EE. UU: Clinical Laboratory Standards Institute.
- Cock, I., Baghtchedjian, L., Cordon, M., y Dumont, E. (2022). Phytochemistry, Medicinal Properties, Bioactive Compounds, and Therapeutic Potential of the Genus *Eremophila* (Scrophulariaceae). *Molecules*. 27, 7734-7752.
- Colección de Referencia Rápida. (1988). *Buddleja americana* [fotografía]. Museo de field de historia natural. Pasco, Perú.
- Cortés, A., Delgadillo, A., y Hurtado, M. (2006). The antispasmodic activity of *Buddleja scordioides* and *Buddleja perfoliata* on isolated intestinal preparations. *Biological and Pharmacological Bulletin*. 29 (6), 1186-1190.
- Cuevas, S., Lorenzo, A., Hernández, L., Sánchez, E., y Bach, H. (2022). Antimicrobial, toxicity, and anti-inflammatory activities of *Buddleja perfoliata* Kunth. *Phytomedicine Plus*. 2(4),100-357
- De Carvalho, K., Wolschick D., Rocha R., Magalhaes I., y Mayo, S. (2016). Ethnobotanical and ethnoveterinary study of medicinal plants usegd in the Municipality of Bom Princípio Do Piauí, Piauí, Brazil. *Journal of Medicinal Plants*. 10(23), 318–330.
- Díaz, J. (1976). *Índice y sinonimia de las plantas medicinales de México*. México: Editorial Libros de México.
- Ding, N., Yahara, S. y Nohara T. (1992). Structure of Mimengosides A and B, New Triterpenoid Glycosides from Buddlejae Flos Produced in China. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 40 (3), 780-782.
- El-Domiatya, M., Winkb, M., Abou-Hasmen, M., Abdel, M., y Abd- Alla, R. (2009). Antihepatotoxic activity and chemical constituents of *Buddleja asiatica* Lour. *Zeitschrift für Naturforschung*. 64(1-2),11-19.

- Emam, A., Moussa, A., Faure, R., Favel, A., Delmas, F., Elias, R., y Balansara, G. (1998). Isolation and biological study of a triterpenoid saponin, mimengoside A, from the leaves of *Buddleja madagascariensis*. *Planta Médica*. 62 (4), 92 – 93.
- Escalona A., y Juárez E. (2022). Los eicosanoides como reguladores de procesos inflamatorios e inmunológicos en la tuberculosis pulmonar. *Neumología y Cirugía de Tórax*. 81 (2), 109-120.
- Estupiñan, L. (1997). Sinopsis de un sistema de clasificación filogenético para familias de angiospermas (Synopsis of a phylogenetic system of classification for families of flowering plants. *Revista Udca*. Recuperado de <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/2823>.
- Evans. W. (2000). *Trease and Evans. Pharmacognosy*. Reino Unido: Editorial Saunder.
- Fair, R., y Tor, Y. (2014). Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*. 6, 25-64.
- Farman, A., Muhammad, I., Rubina, N., Abdul, M., y Irshad, A. (2011). Antimicrobial constituents from *Buddleja asiatica*. *Journal Chemical Society of Pakistan*. 33 (1), 90-95.
- Franco, J. (2021). Variación microclimática de metabolitos secundarios de *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw. (Cactaceae) en temporada de lluvia y de estiaje. (Tesis De Pregrado). Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, México.
- Gallardo, V., y Argueta, A. (1994). *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana*. México, DF: Instituto Nacional Indigenista.
- Gallegos, M. (2017). *Las plantas medicinales: usos y efectos en el estado de salud de la población rural de Babahoyo – Ecuador – 2015* (Tesis de doctorado). Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima, Perú.
- García, A. (2009). *Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de los Extractos y Fracciones Obtenidos de la Especie Vegetal Anacardium excelsum*

- Frente a Microorganismos Patógenos*. (Tesis de Pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- García, R., Cruz, F., Alarcón, J., Nieto, A., y Gallegos, M. (2019). Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos acuosos de *Thalassia testudinum* banks ex köning et sims de la localidad de Champotón, Campeche, México, durante el ciclo anual 2016-2017. *Polibotánica*. 48, 151-168.
- Giono, S., Santos, J., Rayo, M., Torres F., y Alcántar, M. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta médica de México*. 156 (2), 172-180.
- Guo, H., Koike, K., Li, W., Satou, T., Guo, D., y Nikaido, T. (2004). Saponins from the Flower Buds of *Buddleja officinalis*. *Journal of Natural Products*. 67, 10–13.
- Hacek, D., Dressel, D., y Peterson, L. (1999). Highly reproducible bactericidal activity test results by using a modified National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution technique. *Journal of Clinical Microbiology*. 37(6), 1881-1884.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2010). *Metodología de la Investigación* (5ta edición). México, D.F.: Mc Graw Hill.
- Hernández, R; Fernández, C., y Baptista, P. (2006). *Metodología de la investigación*. México: Mc Graw Hill.
- Houghton, P. (1984). Ethnopharmacology of some *Buddleja* species. *Journal of Ethnopharmacology*. 11 (3), 293 – 308.
- Houghton, P., Woldemariam, T., Candau, M., Bernardo, A.; Khen, O., y Li, S. (1996). Buddlejone, a diterpene from *Buddleja albiflora*. *Phytochemistry*. 42, 485 – 488
- Houghton, P., y Hikino, H. (1989). Anti-hepatotoxic activity of extracts and constituents of *Buddleja* species. *Planta Médica*. 55 (2), 123 – 126.

- Hua, H., Cheng, M., Li, X., y Pei, Y. (2002). A new pyrroloquinazoline alkaloid from *Linaria vulgaris*. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 50(10), 1393–1394.
- Hurtado, H. (2010). *El Proyecto de Investigación. Comprensión Holística de la Metodología y la Investigación*. Caracas, Venezuela: Quirón-Sypal.
- Kartini, K., Irawan, M., Setiawan, F, y Jayani, N. (2023). Characteristics, Isolation Methods, and Biological Properties of Aucubin. *Molecules*. 28, 4154-4172.
- Kissmann, K., y Groth, D. (1999). *Plantas Infestantes e Nocivas*. São Paulo, Brasil: BASF.
- Kister, H. (1992). *Distillation Operation*, New York, EE. UU.: McGraw-Hill
- Kline, R., y Golab, T. (1965). A simple technique in developing thinlayer bioautographs. *Journal of Chromatography A*.18, 409-411.
- Kong, J., Goh, N., Chia, L., y Chia, T. (2003). Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacol Sin*. 24, 7-21.
- Lamarque, A., Zygadlo, J., Labuckas, D., López, L., Torres, M., y Maestri, D. (2008). *Fundamentos Teóricos-Prácticos de Química Orgánica*. Córdoba, Argentina: Grupo editor Encuentro.
- Leeuwenberg, A., (1979). The Loganiaceae of África XVIII, *Buddleja* L. II Revision of the African and Asiatic species. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen*. 79 (6), 1- 163.
- Liang, J., Wang, L., He J. y Hua, X. (2016). Verbascoside promotes the regeneration of tyrosine hydroxylase-immunoreactive neurons in the substantia nigra. *Neural regeneration research*. 11(1), 101–106.
- Liao, Y., Houghton, P., y Houlst, J. (1999). Novel and known constituents from *Buddleja* species and their activity against leukocyte eicosanoid generation. *Journal of Natural Products*. 62(9), 1241-1245.

- Lopardo, H. (2020). *Antibióticos, clasificación, estructura, mecanismo de acción y resistencia*. Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional de La Plata.
- López, N., Miguel, M. y Aleixandre, A. (2012). Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud. Artículo de Revisión. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*. 32(3), 81-91.
- López, P. (2004). Población Muestra y Muestreo. *Punto Cero*, 09(08), 69-74.
- Lorenzo, D., Loayza, I., y Dellacassa, E. (2006). Composition and chiral characterization of the essential oil of *Buddleja tucumanensis* from Bolivia. *Flavour and Fragrance Journal*. 21, 95-98.
- Mahlke, J., Zanetti, G., Machado, M., Manfron, M., y Athayde, M. (2008). Morphoanatomical and phytochemical study of *Buddleja thyrsoides* Lam. (Scrophulariaceae) Leaves. *Latin American Journal of Pharmacy*. 27 (4), 505-511.
- Marcano, D., y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica Orgánica*. Caracas. Venezuela: Universidad Central de Venezuela Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
- Marcano, D., y Hasegawa, M. (2018) *Fitoquímica Orgánica*. Caracas, Venezuela: Universidad Central de Venezuela Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
- Márquez, C., Lara, F., Esquivel, B., Mata, R., y Luna, A. (1999). *Plantas Medicinales de México II. Composición, usos y actividad biológica*. Ciudad de México. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martínez, A., Valencia, G., Jiménez, N., y Galeano, M. (2008). *Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica*. Medellín, Colombia: Editorial de la Universidad de Antioquia.
- Martínez, M. (1959). *Las Plantas Medicinales de México*. México: Ediciones Botas.

- Martins, F. y Palella, S. (2014). *Metodología de la investigación cuantitativa*. Caracas: Editorial de la Universidad Pedagógica Experimental Libertador.
- Mensah, A., Houghton, P., Bloomfield, S., Vlietinck, A., y Berghe, D. (2000). Known and Novel Terpenes from *Buddleja globosa* Displaying Selective Antifungal Activity Against Dermatophytes. *Journal Natural Products*. 77 (2-3), 219–226.
- Miskovsky, P. (2002). Hypericin a new antiviral and antitumor photosensitizer: mechanism of action and interaction with biological macromolecules. *Current drug targets*. 3(1), 55–84.
- Miyagoshi, M., Takeda, T., Nakamura, T., y Ogihara, Y. (1990). Studies on the Glycosides from *Buddleja americana* L. *Shoyakugaku Zasshi*. 44 (3), 167-170.
- Murillo, A. (1989). *Plantas medicinales du Chilli*. En Mensah, A., Sampson, J., Houghton, J., Hylands, J., Westbrook, J., Dunn, M., Hughes, M., Cherry, G. Effects of *Buddleja globosa* leaf and constituents relevant to wound healing. *Journal of Ethnopharmacology*. 77, 219 – 226.
- Musto, A., Bosisio, N., do Nascimento, M., Iserte, J., Orellana, M., Rota, R., Ramírez, E., y Stephan, B. (2013). *Manual de Microbiología y Parasitología*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Universidad Nacional Arturo Jauretche.
- Nikolova, M., y Asenov, A. (2006). Surface flavonoid aglycones in newly studied plant species. *Natural product research*. 20(1),103-106.
- Ocampo, G. (2003). *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*. Ciudad de México, México: Instituto de Ecología.
- Otero, M., Fuentes, J., Atala, C., Cuadros, S., Fuentes, C., y Gordillo, F. (2022). Antimicrobial Properties of Chilean Native Plants: Future Aspects in Their Application in the Food Industry. *Foods*. 11, 1763- 1778.

- Owen, D., y Whiteway W. (1980). *Buddleia davidii* in Britain: History and development of an associated fauna. *Biological Conservation*. 17 (2), 149-155.
- Pardo, F., Perich, F., Villarroel, L., y Torres, R. (1993). Isolation of verbascoside, an antimicrobial constituent of *Buddleja globosa* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. 39(3), 221–222.
- Pascual, D., Pérez, Y., Morales, I., Castellanos, I., y González, E. (2014). Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. *Medisan*. 18(10), 1467–1474.
- Perry, N., Blunt, J., y Munro, M. (1991). A cytotoxic and antifungal 1,4-naphthoquinone and related compounds from a New Zeland brown alga, *Landsburgia quercifolia*. *Journal of natural products*. 54(4), 978–985.
- Plaza, E. (2015). Tamizaje fitoquímico preliminar, evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* y toxicidad de seis especies de *Ericaceas* colombianas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 19 (2), 182-199.
- Rahman, A., y Kang, S. (2009). In vitro control of food-borne and food spoilage bacteria by essential oil and ethanol extracts of *Lonicera japonica* Thunb. *Food Chemistry*. 116(3), 670-675.
- Ramírez, L., y Castaño, D. (2009). Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia Et Technica*. XV (42), 263-268.
- Ramírez, T. (1999). *Cómo hacer un proyecto de investigación*. Caracas, Venezuela: PANAPO.
- Ringuelet, J., y Viña, S. (2013). *Productos Naturales Vegetales*. Buenos Aires, Argentina: Editorial de la Universidad de la Plata.
- Robinson, T. (1980). *The Organic Constituents of Higher Plants*. Massachusetts, EE. UU.: Editorial Cordus Press.

- Saracoglu, I., Varel, M., Harput, U., y Nagatsu, A. (2004). Acylated flavonoids and phenol glycosides from *Veronica thymoides* subsp. *pseudocinerea*. *Phytochemistry*. 65(16), 2379–2385.
- Simões, C.; y Spitzer, V. (2003). Óleos Voláteis. In: Simões, C. y cols. (org.) *Farmacognosia – da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC.
- Solis, M. (2015). *Estudio de las Posibles Conformaciones de los Flavonoides Quercetina y Dihidroquercetina por Métodos de Mecánica Cuántica*. (Trabajo de Pregrado). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.
- Souza, V., y Lorenzi, H. (2005). *Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. São Paulo, Brasil: Nova Odessa.
- Tank, D., Beardsley, P., Kelchner, S., y Olmstead, R. (2006). Revisión de la sistemática de Scrophulariaceae y su disposición actual. *Botánica sistemática australiana*. 19, 289-307.
- Tello, A. (2020). Efecto antibacteriano del extracto acuoso y etanólico de *Plantago major* (llantén) sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), in vitro Tacna 2020. (Trabajo de Pregrado). Universidad Privada de Tacna. Tacna, Perú.
- Ticona, L., Callisaya, G., Rico, F., Sánchez, J., y Slowing, K. (2022). Isolated Compounds from *Buddleja Coriacea* with Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities in the Urinary Tract. *Planta Medica International Open*. 9, e12–e22.
- Torres, G., Montes, S., y Espinosa, F. (2009). Patrones de Variación y Distribución Geográfica en Fenotipos Químicos Foliares de *Persea americana* var. *drymifolia*. *Revista Fitotecnica Mexicana*. 32 (1), 19 – 30.

- Valcárcel, M., y Gómez, A. (2021). *Técnicas analíticas de separación*. Barcelona, España: Reverte.
- Vicet, L. 2009. *Contribución a la farmacología antiinflamatoria de la especie Capraria biflora, L.* (Tesis de Doctorado). Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. La Habana, Cuba.
- Voigt, R., y Manfred, B. (1982). *Tratado de tecnología Farmacéutica*. Madrid, España: Editorial acriba.
- Yagüe, A., de Gaviña, M., y Torner, J. (1969). *Los taninos vegetales*. Madrid, España: Editor Ministerio de Agricultura.
- Yamamoto, A., Miyase, T., Ueno, A., y Maeda, T. (1991). Buddlejasonins I - IV, four new oleanane-triterpene saponins from the aerial parts of *buddleja japonica* hemsl. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 39, 2764-2766.
- Yamamoto, A., Nitta, S., Miyase, T., Ueno, A. y Wu, L. (1993). Phenyíethanoid and lignan-iridoid complex glucosides from roots of *Buddeja davidii*. *Phytochemistry*. 32 (2), 421-425.
- Yoshida, T., Nobuhara, J., Uchida, M., y Okuda, T. (1976). Buddledin A, B and C, piscicidal sesquiterpenes from *Buddleja davidii* Franch. *Tetrahedron Letter*. 17 (41), 3717 – 3720.
- Yu, H., Han, X., y Quiñones, D. (2021). La humanidad enfrenta un desastre: la resistencia antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 20 (3), 1-9.