



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



**COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS
FRUTOS DE *Solanum mammosum* EN CEPAS DE REFERENCIA
INTERNACIONAL**

Trabajo presentado ante la Ilustre Universidad de Los Andes para optar al
título de Licenciada en Bioanálisis

Autor:

Maryori Santiago

CI: V-25886409

Tutor:

Prof. Ysbelia Obregón

Mérida, Julio de 2024.

DEDICATORIA

A Dios

Mi trabajo de grado lo dedico a Dios padre celestial por ser quien me inspiró para la realización de este estudio, por darme salud, fuerza y valor para culminar esta etapa de mi vida.

A mi madre

Quien me ha dado la existencia y con ello la capacidad para superarme, por dar todo por mí en este transitar, por ser ejemplo de perseverancia, por las palabras de aliento en momentos difíciles. Por saber formarme con buenos principios hábitos y valores, por corregirme cuando me equivoco, y por hacerme recordar que los sueños son posibles si luchamos con fe y optimismo, aun cuando todo parece en contra.

A mi abuela

Por sus buenos y sabios consejos, por enseñarme el camino correcto. Esta tesis es el resultado de lo que me has enseñado en la vida, ya que siempre has sido una persona honesta, trabajadora y líder. Tus bendiciones a diario a lo largo de mi vida me han protegido y llevado por el camino del bien.

A mi pequeña Arantzita y a mi hermanito

Ustedes son el mejor regalo que pude recibir de Dios, mi mayor tesoro y también la fuente más pura de mi inspiración.

Maryori Santiago

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso por darme vida, salud, y la fuerza para enfrentar cada día con fe y optimismo.

A mi madre, a mi abuela a mi tío, por su dedicación y sacrificio han sido el motor que me ha impulsado a alcanzar mis metas, sin su gran apoyo no lo había logrado. Gracias por la educación de calidad que me brindaron, por nunca dudar de mis capacidades, por siempre estar presente, por cuidarme y protegerme. Mi gratitud hacia ustedes es imposible de expresar completamente

A mi hermana por su soporte y cariño, por estar conmigo en los momentos difíciles, por amar a mi hija como si fuera suya, por cuidarla mientras yo estudiaba, mi agradecimiento será por siempre.

A mi amor Rufo Hernandez, por su compañía, comprensión y sus innumerables palabras de aliento.

A mis amigas; Joselyn Santiago, Yoselin Valero, Elizabeth Belandria y María Dionela Salas, si existiese otra vida universitaria sin duda me gustaría encontrarme con ustedes. Gracias por los momentos compartidos, por los desafíos superados, por el apoyo mutuo y por su amistad sincera.

A mi querida tutora Profesora Ysbelia Obregón, gracias por ser una tutora increíble, con un corazón gigante, una vocación única, una pasión por enseñar maravillosa, por su paciencia incansable. Un buen maestro vive siempre en el corazón de sus alumnos y Usted querida profe vivirá en el mío por siempre.

Al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”, por ser el lugar donde se llevo a cabo la parte experimental de esta investigación.

Al T.S.U. Emilio Salazar por su apoyo en la obtención de los seis extractos utilizados en este estudio, así como también por su colaboración en el procedimiento realizado en la actividad antibacteriana.

A las profesoras Alida Pérez, Rosa Aparicio e Ysbelia Obregón, por su valiosa colaboración en la realización del tamizaje fitoquímico.

A la profesora Yndra Cordero por su dedicación en la elaboración de la actividad antibacteriana y a la profe Clara Díaz en la actividad antifúngica.

www.bdigital.ula.ve

Maryori Santiago

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xi
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación de la Investigación	5
Objetivos de la Investigación	7
<i>Objetivo General</i>	7
<i>Objetivos Específicos</i>	7
Alcances y Limitaciones de la Investigación	7
<i>Alcances de la Investigación</i>	7
<i>Limitaciones de la Investigación</i>	8
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	9
Trabajos Previos	9
Antecedentes Históricos	11
Bases Teóricas	12
Familia Solanaceae	12
Género <i>Solanum</i>	16
Especie <i>Solanum mammosum</i>	20
Productos Naturales	26
Extractos Vegetales	31
Tamizaje Fitoquímico	34
Bacterias	39

ÍNDICE DE CONTENIDO

(Continuación)

	Pág.
Antibiótico	46
Hongos	47
Actividad antimicrobiana	52
Definición Operacional de Términos	54
Operacionalización de las Variables	55
Hipótesis	58
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	59
Tipo de Investigación	59
Diseño de Investigación	59
Población y Muestra	60
<i>Unidad de Investigación</i>	60
<i>Selección del Tamaño de la Muestra</i>	60
Sistema de Variables	60
Instrumento de Recolección de Datos	60
Procedimiento de la Investigación	61
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	76
Resultados	76
Discusiones	102
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	105
Conclusiones	105
Recomendaciones	107
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS	108

ÍNDICE DE FIGURAS

N°		Pág.
1	Principales componentes químicos reportados en la familia Solanaceae	14
2	Especies del género <i>Solanum</i>	17
3	Ubicación geográfica del género <i>Solanum</i>	18
4	Principales componentes químicos aislados del género <i>Solanum</i>	19
5	Hojas de la especie <i>Solanum mammosum</i>	21
6	Flores de la especie <i>Solanum mammosum</i>	21
7	Frutos de la especie <i>Solanum mammosum</i>	22
8	Principales componentes químicos reportados en <i>Solanum mammosum</i>	24
9	Fundamento químico para la identificación de alcaloides	36
10	Fundamento químico para la identificación de saponinas	37
11	Fundamento químico para la identificación de flavonoides	38
12	Fundamento químico para la identificación de taninos y fenoles	38
13	Fundamento químico para la identificación de triterpenos	39

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Nº		Pág.
1	Procedimiento empleado para la separación e identificación de los componentes de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	62
2	Procedimiento para la obtención de los extractos de hexano, metanol y metanol-agua (70:30) de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	64
3	Procedimiento para determinar la actividad antibacteriana de los extractos de los frutos de <i>Solanum mammosum</i> por los métodos de difusión en agar con discos y pozos (<i>Kirby-Bauer</i>)	69
4	Procedimiento para determinar la actividad antifúngica de los extractos de los frutos de <i>Solanum mammosum</i> por el método de difusión en agar con discos (<i>Kirby-Bauer</i>)	73

ÍNDICE DE TABLAS

Nº		Pág.
1	Taxonómia de Solanaceae	13
2	Clasificación taxonómica de <i>Solanum mammosum</i>	23
3	Clasificación de algunas bacterias según la tinción Gram	41
4	Clasificación de los antibióticos según su acción sobre los tipos de bacterias	47
5	Clasificación de los antimicóticos según su mecanismo y espectro de acción	51
6	Operacionalización de la variable dependiente	56
7	Operacionalización de la variable independiente	57
8	Cepas de referencia internacional de la colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC)	70
9	Porcentaje de rendimiento de los extractos vegetales de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	77
10	Resultado del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y epicarpio de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	78
11	Reporte de resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y epicarpio de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	79
12	Resultados obtenidos para la determinación de la actividad antibacteriana por el método de difisión en agar con discos y con pozos de extractos de las semillas de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	88

ÍNDICE DE TABLAS (Continuación)

	Pág.
13 Resultados obtenidos para la determinación de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con discos de los extractos de epicarpio de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	89
14 Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con discos de los extractos del epicarpio de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	90
15 Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con discos de los extractos del epicarpio de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	92
16 Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión con pozo de los extractos de semillas y epicarpio de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	95
17 Resultados obtenidos para la determinación de la actividad antifúngica de los extractos de las semillas y epicarpio de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	100
18 Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antifúngica de los extractos de las semillas y epicarpio de los frutos de <i>Solanum mammosum</i>	101



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES

“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”



COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS FRUTOS DE *Solanum mammosum* EN CEPAS DE REFERENCIA INTERNACIONAL

Trabajo de grado II

Autora:
Maryori A. Santiago V.
CI: V-25886409
Tutora:
Dra. Ysbelia M. Obregón D.

RESUMEN

En la presente investigación se determinó la composición química y la actividad antimicrobiana de los frutos de *Solanum mammosum* en cepas de referencia internacional. Los frutos se recolectaron en el Municipio Pampán del estado Trujillo. La obtención de los extractos se realizó a partir del epicarpio y semilla de la especie en estudio mediante la técnica de reflujo, usando los disolventes hexano, metanol y metanol-agua (70:30). Por medio del tamizaje fitoquímico, se estableció la presencia de alcaloides, triterpenos, compuestos fenólicos, lactonas y quinonas y la ausencia de glicósidos cardiotónicos, saponinas y taninos. La actividad antibacteriana de los extractos fue evaluada mediante los métodos de difusión en disco y en pozo de agar (*Kirby-Bauer*), a una concentración de 10 mg/mL evidenciándose que los extractos estudiados presentaron mayor actividad frente a los microorganismos mediante el método de difusión en pozos. De igual forma se evaluó la actividad antifúngica mediante el método de difusión en disco de agar y los resultados no revelaron efectividad de los extractos frente a las cepas fúngicas a excepción del extracto de semillas de hexano frente a *Candida albicans* (7 mm).

Palabras Clave: *Solanum mammosum*, actividad antimicrobiana, tamizaje fitoquímico.

INTRODUCCIÓN

Estudios demuestran que la resistencia a los antimicrobianos es una de las diez principales amenazas de Salud Pública a las que se enfrenta la humanidad, esto debido a que cada año mueren más 700 mil personas en todo el mundo a causa de gérmenes resistentes; se estima que de no tomar las medidas necesarias para 2050, estas resistencias microbianas podrían convertirse en la principal causa global de muerte, lo que pone de manifiesto la urgencia de implementar medidas preventivas más efectivas, esto incluye la necesidad de restringir el uso de antibióticos a situaciones necesarias para minimizar la aparición de nuevas resistencias y también es indispensable la búsqueda e implementación de nuevas formas terapéuticas que puedan contribuir en la minimización de aparición de estas cepas resistentes (Sierra, 2017).

Es bien sabido que las plantas han sido utilizadas desde tiempos prehistoricos con fines medicinales, dichos tratamientos se basan en el uso de los extractos de plantas o sus principios activos. La utilización de sustancias naturales en el tratamiento de diferentes enfermedades incluidas las de etiología infecciosa constituye en la actualidad un desafío para la farmacología y la medicina y se ofrece como una alternativa sobre todo en aquellas infecciones en las que los antimicrobianos de uso actual no están siendo efectivos esto debido a la multirresistencia que han desarrollado ciertos microorganismos (Sierra, 2017).

En la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas, los metabolitos presentes en especies vegetales juegan un papel muy importante en la relación planta-patógeno permitiendo su defensa frente a este último, lo cual ha hecho necesario el avance en el estudio y detección de la actividad biológica en plantas (Gregorí, 2005).

El género *Solanum* posee plantas notables por diversas propiedades, hay especies que son importantísimos rubros para la alimentación a nivel mundial, o de interés ornamental, mientras que otras son extremadamente tóxicas e incluso varios investigadores han divulgado información acerca de la actividad antimicrobiana de diferentes especies del género *Solanum*, como la *Solanum mammosum* destacando su poder antimicrobiano (Ramón y Galeano, 2020).

Es por esto que es necesario la realización de estudios más profundos acerca de las propiedades que posee la especie *S. mammosum* que puedan favorecer el tratamiento frente a diferentes enfermedades de etiología infecciosa y que ayuden a precisar los compuestos químicos que le brindan las características antimicrobianas (Huayhua y Nina, 2009).

Debido a lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue confirmar la relación de la composición química y la actividad antimicrobiana de los frutos de *Solanum mammosum* en cepas de referencia internacional.

La presente investigación ha sido desarrollada siguiendo las normas APA en su sexta edición, la cual estuvo segmentada de la siguiente manera. El Capítulo I: El Problema, formado por los siguientes subtítulos: Planteamiento del Problema, Justificación e Importancia de la Investigación, Objetivos de la Investigación, Alcances y Limitaciones de la Investigación. El Capítulo II: Marco Teórico, en este se enmarcan los Trabajos Previos, Antecedentes Históricos o Epistemológicos, Bases Teóricas, Definición Operacional de Términos, Operacionalización de las Variables e Hipótesis. El Capítulo III: Marco Metodológico, describe el Tipo de Investigación, Diseño de la Investigación, Unidad de Investigación, Población y Muestra, Sistema de Variables, Procedimientos o Metodología de la Investigación y Diseño de Análisis. El capítulo IV está constituido de los Resultados y Discusiones, y el capítulo V compuesto por, las Conclusiones, Recomendaciones y Referencias Bibliohemerográficas.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Es bien sabido que la mayor parte de los seres vivos que existen sobre la Tierra son microorganismos, es decir, organismos que no son visibles a simple vista y con los cuales el hombre ha tenido que convivir desde el inicio de su existencia. Estos organismos que abundan en el planeta interactúan con todos los seres vivos y con los elementos abióticos de los ecosistemas, razón por la cual, han jugado un papel protagónico en la evolución de la vida, tal y como se le conoce en la actualidad. Sin embargo, aunque los microbios realizan actividades que son beneficiosas para el equilibrio de la vida, también pueden ser perjudiciales para ciertos organismos, debido a que pueden ocasionar enfermedades (Montaño, Sandoval, Camargo y Sánchez, 2010).

Debido a lo anterior, en 1929 se inició la batalla antimicrobiana, gracias al descubrimiento de la penicilina por parte de Alexander Fleming, que se constituyó como el primer antibiótico en la historia de la humanidad y dio paso a la era de los antibióticos (Gacto, 2015). En este sentido, se define los antimicrobianos como "sustancias de origen natural o sintético que eliminan o inhiben el crecimiento de virus, bacterias, hongos y protozoos" (Observatorio Salud y Medio Ambiente, 2022).

Pero a pesar de los esfuerzos en el área de la microbiología, durante los últimos años se ha incrementado la resistencia de los microorganismos hacia los fármacos con acción antimicrobiana, razón por la cual, la búsqueda de nuevos compuestos que contribuyan a combatir los microorganismos infecciosos continúa en la actualidad. Esta resistencia, según lo plantea el

Observatorio Salud y Medio Ambiente (2022), es un mecanismo natural de defensa de las bacterias y se ha visto incrementada por el uso indiscriminado de antibióticos y la liberación de contaminantes en el medio ambiente, lo que ha aumentado la presencia de bacterias resistentes a los antibióticos hasta tal punto que están comprometiendo la eficacia de estos fármacos como herramienta terapéutica. De hecho, los expertos advierten que si no se toman medidas urgentes se podría estar ante una era post-antibiótica, lo que pone en peligro la vida y supervivencia en el planeta por lo perjudicial que pueden llegar a ser estos microorganismos para la salud.

En este contexto, la biodiversidad de especies vegetales existentes, resultan en una fuente de compuestos bioactivos que pueden ser probados y aprovechados en el campo de la salud, específicamente en la lucha contra los microorganismos que resultan perjudiciales para la salud. Esto se logra gracias a la presencia de los metabolitos secundarios en las plantas medicinales, los cuales tienen una composición química muy variada que va desde los alcaloides, taninos, glucósidos, aceites esenciales, gomas, resinas, hasta principios activos con propiedades antibióticas (Vélez, Campos y Sánchez, 2014).

Una de las familias vegetales que pueden contribuir con dicho propósito es la familia Solanaceae, la cual es una de las más grandes y complejas de las angiospermas e incluye 2500 especies en 100 géneros (Almoulah y Vonikoy, 2017). De esta familia, uno de los géneros más grandes es el *Solanum*, la cual posee alrededor de 1700 especies distribuidas en todo el mundo y se considera con un alto valor farmacológico por su riqueza y diversidad de propiedades biológicas como la actividad citotóxica, anticancerígena, antiinflamatoria, antiulcerogénica, antimicrobiana y antioxidante. De hecho, existen reportes que indican que *Solanum mammosum* es una fuente principal de Solasodina, un alcaloide conocido por sus efectos diuréticos, anticancerígenos, antifúngicos, cardiotónicos,

antiespermatogénicos, antiandrogénicos, inmunomoduladores y antipiréticos en el sistema nervioso central (Ramón y Galeano 2020).

Cabe destacar que la especie *S. mammosum* es una planta nativa de Sudamérica que se ha extendido a las Antillas y al Caribe, lugares en los que se le ha dado usos medicinales para el tratamiento del pie de atleta, la sinusitis, entre otros. La misma, cumple dichas acciones gracias a la presencia de componentes químicos como los flavonoides y los alcaloides, compuestos que pueden evitar la sobrecolonización de microorganismos (Huayhua y Nina, 2009). De acuerdo con esto, por la importancia y accesibilidad a la *S. mammosum*, así como la escasa información relacionada a sus componentes y actividad antimicrobiana, el presente estudio tuvo como propósito, determinar la relación de la composición química y actividad antimicrobiana de los frutos de *Solanum mammosum* en cepas de referencia internacional. Es por esta razón que se ha propuesto la siguiente interrogante:

¿Cuál es la relación de la composición química y la actividad antimicrobiana de los frutos de *Solanum mammosum* en cepas de referencia internacional?

Justificación de la Investigación

Debido a la eficaz resistencia que han desarrollado las bacterias y hongos frente a los diversos fármacos sintéticos diseñados gracias a los avances de la medicina moderna, resulta recomendable incluir el uso de los extractos de las plantas medicinales en el tratamiento de infecciones causadas por los microorganismos antes mencionados, dado que representan una alternativa natural que disminuye la exposición del paciente a medicamentos sintéticos, que pierden su efectividad y que además, pueden ser tóxicos a largo plazo (Bisso, 2018). En este sentido, se considera pertinente determinar la

composición química y actividad antimicrobiana de los frutos de *Solanum mammosum*, en cepas de referencia internacional dado que conlleva un interés académico y científico.

De acuerdo con lo expuesto, responde a una necesidad académica debido a que en la actualidad no se tiene totalmente clara la potencialidad antimicrobiana de los extractos de los frutos de *Solanum mammosum*, razón por la cual, los hallazgos del presente estudio, aportan conocimiento en disciplinas como la Medicina, Farmacéutica, Botánica y Microbiología. De la misma manera, los resultados de la investigación contribuyen con la identificación de los compuestos químicos provenientes de los frutos de *Solanum mammosum*, que demuestren una eficaz acción antimicrobiana.

Tal y como se aprecia, con el desarrollo del presente estudio se pudo generar conocimientos de interés académico, científico y práctico, razón por la cual resultó justificable su desarrollo, no sólo por el aporte teórico, sino también el aporte práctico para la solución de problemas asociados con el combate de diversos microorganismos perjudiciales para la salud.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación entre la composición química y la actividad antimicrobiana de los frutos de *Solanum mammosum* en cepas de referencia internacional

Objetivos específicos

- Obtener los extractos de hexano (100%), metanol (100%), y metanol-agua (70:30) de los frutos de *Solanum mammosum* mediante la técnica de reflujo.
- Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en los extractos obtenidos de los frutos de *Solanum mammosum* a través del tamizaje fitoquímico.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos de los frutos de *Solanum mammosum* por el método de difusión en agar con disco y pozos (Kirby-Bauer).

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

Demostrar la susceptibilidad antimicrobiana que poseen los extractos de los frutos de *S. mammosum* frente a diversos microorganismos de referencia internacional con la finalidad de promover una alternativa natural

antimicrobiana en Venezuela y contribuir con la comunidad científica en futuras investigaciones sobre el género en estudio.

Limitaciones de la Investigación

Continuos cortes del fluido eléctrico que afectan el desarrollo de la investigación

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Entre las investigaciones más resaltantes, se puede mencionar el trabajo realizado por Ramírez, Pérez, Obregón, Rojas, Aparicio, Cordero y De Lima (2024), titulado: Actividad antibacteriana y antioxidante de los frutos de *Solanum hirtum* Vahl de Venezuela. Los autores de esta investigación obtuvieron extractos de diclorometano y metanol, a partir de estos realizaron el tamizaje fitoquímico y evaluación de la actividad antibacteriana mediante la técnica de difusión en disco de agar de *Kirby-Bauer*. Los resultados del análisis fitoquímico revelaron la presencia de metabolitos secundarios en los que destacan alcaloides, terpenoides, esteroides, fenoles y flavonoides, mientras que en la evaluación de la actividad antibacteriana mostraron que el extracto de diclorometano (10 mg/mL), tuvo actividad contra *S. aureus* (7,0 mm) y *K. pneumoniae* (9,0 mm) y el extracto metanólico (10mg/mL), contra *P. aeruginosa* (7,0 mm), *S. aureus* (8,0 mm) y *K. pneumoniae* (9,0 mm). Tal como se observa, esta investigación sirvió como antecedente para el presente trabajo, en vista de que los autores realizaron análisis de la composición fitoquímica de una especie del género *Solanum*, además se evaluó la actividad antibacteriana por el método de difusión en disco de agar *Kirby Bauer* que poseen los extractos de la especie frente a diversas cepas de referencia internacional.

Por otro lado el trabajo realizado por Mendoza, Fuertes y Jahuir (2022). Titulado: Análisis fitoquímico y actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers. El procedimiento de la

investigación consistió en realizar un análisis fitoquímico preliminar cualitativo mediante reacciones de color y precipitación, así como también una evaluación de actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers (25 mg/mL). La actividad antifúngica fue investigada frente a los microorganismos: *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis* y *Trichophyton mentagrophytes* usando los métodos de difusión en pozo de agar (*Kirby Bauer*) y la concentración mínima inhibitoria (CMI). El análisis fitoquímico reveló la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, esteroides, alcaloides y saponinas, mientras que la actividad antifúngica arrojó halos de inhibición entre 23 a 26 mm para todos los cultivos fúngicos y los valores de CMI fueron de 125 µg/mL, 250 µg/mL y 125 µg/mL para *Candida albicans*, *A. brasiliensis* y *T. mentagrophytes*, respectivamente. Como se pudo determinar, el estudio de los autores se relaciona con esta investigación ya que se evaluó la actividad antifúngica de extractos obtenidos a partir de una especie de *Solanum* frente a cepas fúngicas de referencia internacional por medio del método de difusión en pozos de agar (*Kirby Bauer*).

Finalmente se tiene la investigación llevada a cabo por Ramón y Galeano (2020), titulada: "Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos metanólicos de las hojas de plantas del género *Solanum*", el cual tuvo como objetivo: evaluar la actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos metanólicos de diez especies del género *Solanum*. Para su cumplimiento los autores obtuvieron extractos metanólicos de diez especies del género *Solanum* (*S. mammosum*, *S. sensilliflorum*, *S. grandiflorum*, *S. jamaicense*, *S. quitoense*, *S. candidum*, *S. barbeyanum*, *S. hartwegii*, *S. schlechtendalianum* y *S. rugosum*) para posteriormente realizar el tamizaje fitoquímico en el cual determinaron la presencia de fenoles y flavonoides. La actividad antimicrobiana se evaluó usando los microorganismos *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* mediante el método de difusión en discos de agar *Kirby-Bauer* a concentraciones de 20 mg/mL de los extractos.

Los resultados reflejaron efectividad de los extractos solamente frente a *Escherichia coli* (3 mm). Este estudio sirve como antecedente para la presente investigación porque permitió evaluar la actividad antimicrobiana que poseen extractos elaborados con hojas de plantas de especies del género *Solanum*.

Tal y como se observa, existen estudios previos que asocian a los extractos de diferentes partes de las plantas del género *Solanum* con actividades antimicrobianas, por tal motivo, resulta de interés para esta investigación conocer si los extractos de los frutos de la especie *Solanum mammosum*, presentan propiedades antimicrobianas que pudiesen ayudar en la batalla contra los microorganismos.

Antecedentes Históricos

La humanidad ha estado siempre en contacto con la naturaleza, puesto que es de ella que obtiene sus alimentos, refugio y materia prima para transformar y construir cosas, así como también los elementos para cuidar de su salud y bienestar. En este sentido, como lo indican Sabini, Menis y Beoletto, (2019) “Las plantas medicinales han sido utilizadas desde épocas remotas para el tratamiento de numerosas enfermedades. Desde los inicios de la civilización, han ayudado al hombre ofreciendo distintos tipos de medicinas capaces de curar ciertas dolencias gracias a sus compuestos naturales”. No obstante, este cúmulo de conocimientos en cuanto a las propiedades de cada planta medicinal, no se ha obtenido en poco tiempo, por el contrario, la información se ha ido transmitiendo en las distintas culturas y a sus generaciones, a través del tiempo, inicialmente de boca en boca, posteriormente, mediante registros que han servido de base para la medicina tradicional, hoy en día considerada como patrimonio de la humanidad.

Entre las plantas que presentan un uso doméstico dentro de la medicina tradicional se tiene a la *Solanum mammosum*, también conocida como teta de

vaca. Esta es una planta nativa de Sudamérica que se ha extendido a las Antillas y al Caribe. Es una planta anual perenne de la familia de las solanáceas y una pariente cercana del tomate. Su fruto es venenoso, pero ha sido empleado bajo diversos usos, tanto ornamentales como medicinales. Se conoce su aprovechamiento de distintos países de Suramérica como Colombia, Bolivia, Ecuador, República Dominicana y Perú, ejemplo de ello es la etnia Mosekene (pie de monte andino de Bolivia) quienes usan el fruto de esta planta como antimalárico y contra la sarna. Por su parte, en Filipinas el fruto es empleado para tratar la ptisis bulbi, resfríos y pérdida de apetito, mientras que en Cambodia, Laos y Vietnam la planta es usada para inducir narcosis (Muñoz, Sauvain, Bourdy, Rojas y Vargas, 2000).

Bases Teóricas

Familia Solanaceae

Aspectos botánicos de la familia Solanaceae

Las especies se distinguen por ser plantas leñosas o herbáceas, decumbentes o trepadoras, con hojas generalmente alternas, simples o compuestas. Las flores solitarias o numerosas se disponen en cimas, umbelas, racimos o panículas, por lo común son hermafroditas y actinomorfas; el cáliz es gamosépalo, generalmente persistente y en ocasiones acrescente en el fruto, la corola es rotácea a tubular, lobada, estambres, y el ovario es súpero, por lo general con 5 lóculos. El fruto tiene forma de baya o capsula, dehiscente o indehiscente (Sierra, Siquiros, Flores y Moreno 2014).

Distribución geográfica y taxonomía de la familia Solanaceae

Debido a su variedad de formas vegetativas y reproductivas tienen la capacidad de colonizar distintos tipos de habitats. Posen una distribución cosmopolita, con mayor frecuencia en regiones tropicales, subtropicales y templadas. Contiene aproximadamente 96 géneros y 2300 especies. Los géneros con mayor número de especies son: *Solanum* (1,000), *Lycianthes* (200), *Cestrum* (175), *Nicotiana* (95), *Physalis* (80) y *Lycium* (75). Aunque la mayoría de los especialistas en la familia opinan que su centro de origen se ubica en América del Sur, algunos de sus géneros se desarrollaron ampliamente en otros países, de manera que actualmente se mencionan varios centros de diversificación, entre ellos Australia, los Himalaya y México (Sierra, Siquiros, Flores y Moreno 2015). Su taxonomía es la siguiente (Tabla 1):

www.bdigital.ula.ve

Tabla 1. Taxonomía de Solanaceae

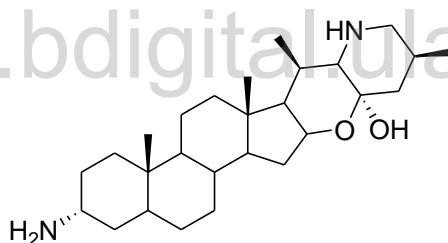
Dominio	Eukarya
Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Eudicotyledoneae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae

Tomado y modificado de Sierra, Siquiros, Flores y Moreno, 2015.

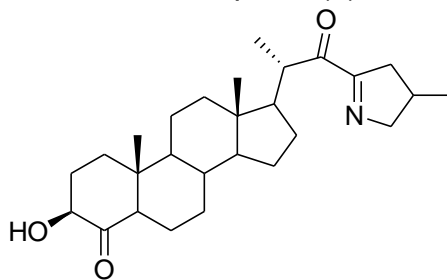
Metabolitos secundarios aislados de la familia Solanaceae

La familia Solanaceae ha sido ampliamente estudiada descubriendo varias moléculas novedosas de alcaloides como: solanocapsina (1), nicotina (2) y solamaladina (3); triterpenos: alfa amirina (4) y dammaranos (5), glicósidos de flavonoides: Kaempferol (6) y saponinas: en raíces, tallos y hojas. De las moléculas antes mencionadas, son los alcaloides a quienes se ha dado una importancia especial ya que éstos han mostrado presentar actividad en todos los casos de estudio realizados (Figura 1) (Knapp, Bohs, Nee, y Spooner, 2004).

Figura 1. Principales componentes químicos reportados en la familia Solanaceae



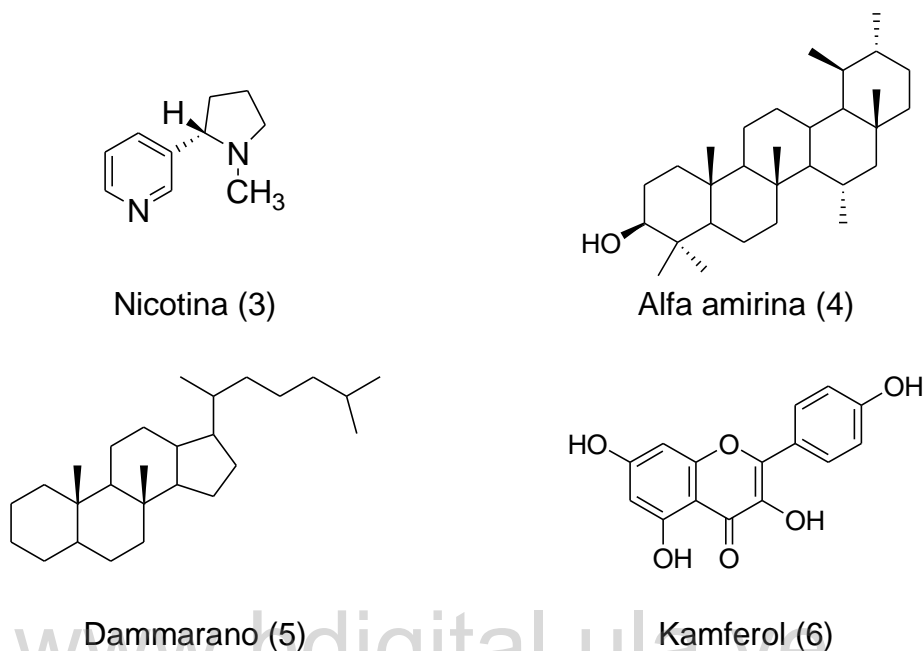
Solanocapsina (1)



Solamaladina (2)

Tomado y modificado de Knapp, Bohs, Nee, y Spooner, 2004.

Figura 1. Principales componentes químicos reportados en la familia Solanaceae (continuación).



Tomado y modificado de Knapp, Bohs, Nee, y Spooner, 2004.

Actividades farmacológicas de la familia Solanaceae

Dentro de las capacidades farmacológicas que poseen destacan efectos sedante y antisialogoga actividad antiinflamatoria, inmunomoduladora, quimiopreventiva del cáncer antioxidante, hipoglucemiante, antialérgica, hepatoprotectora, antivírica, antiparasitaria, anticarcinogénica y propiedades inmunomoduladoras (Knapp, Bohs, Nee, y Spooner, 2004).

Usos etnobotánicos de la familia Solanaceae

Solanaceae, es una de las familias más grandes y extendidas del planeta, incluye especies de importancia en distintos aspectos a nivel alimenticio como

la papa, el tomate y el pimentón; de importancia industrial como el tabaco; de valor ornamental como las potunias y de utilidad a nivel medicinal como toluache y la bellodona (Sierra, Siquiros, Flores y Moreno, 2015).

Género *Solanum*

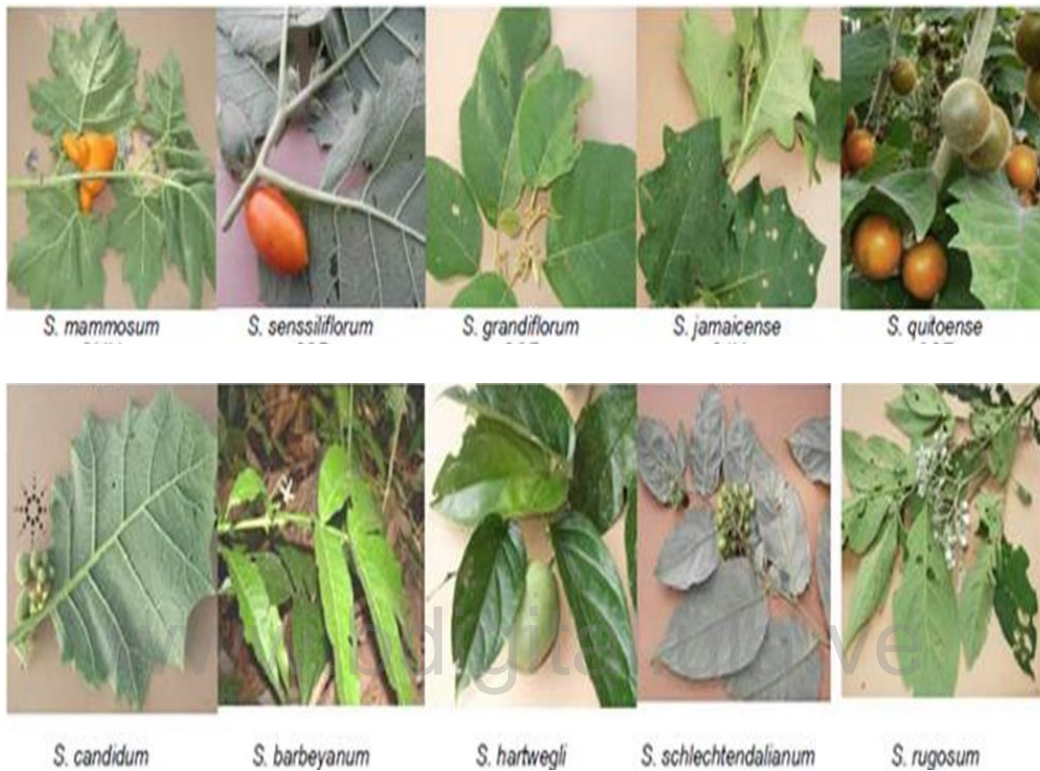
Aspectos botánicos

El género *Solanum*, es uno de los más grandes de la familia de las Solanaceae, posee alrededor de 1700 especies distribuidas en todo el mundo. Incluye plantas herbáceas, arbustivas o trepadoras. En la mayoría de las especies, el tallo es aéreo, circular o angular en sección transversal, las hojas son alternas o apareadas, simples a pinatilobadas o compuestas, pecioladas o sésiles, sin estípulas (Ramón y Galeano, 2020).

Las flores son usualmente hermafroditas, formadas por cuatro ciclos de piezas florales, cada uno compuesto por cinco miembros. El cáliz es acampanado, muchas veces acrescente en el fruto. La corola es rotada, campanulada, estrellada o urceolada. El color de la corola puede ser blanco, verde, amarillo, rosado, o púrpura. Los estambres pueden ser iguales o desiguales, los filamentos son en general cortos e insertos en la base de la corola. Las anteras son basifijas y se abren por poros terminales que muchas veces se expanden a aberturas longitudinales (Ramón y Galeano, 2020).

Requieren polinización por zumbido. El ovario es bi-carpelar, con numerosos óvulos. El estilo está articulado en la base, el estigma es capitado. El fruto es una baya, generalmente globosa y carnosa, algunas veces ovoide o elípsoide, pero ocasionalmente seca, con muchas semillas chatas (Figura 2) (Ramón y Galeano, 2020).

Figura 2. Especies del género *Solanum*

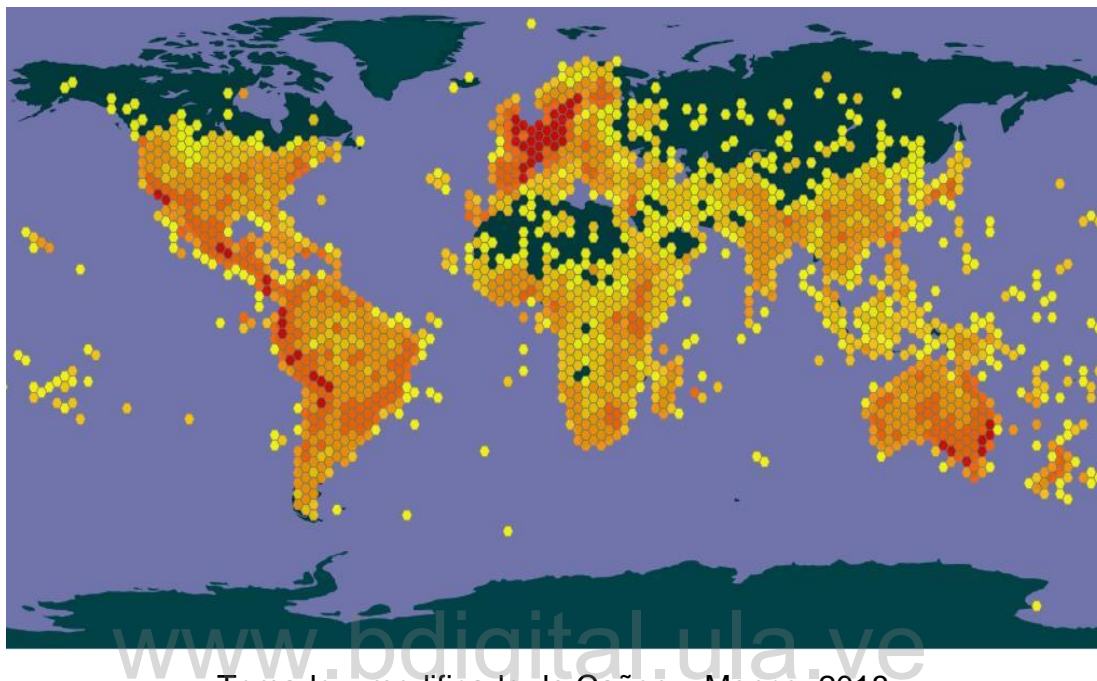


Tomado y modificado de Ramón y Galeano, 2020.

Distribución geográfica y taxonomía del género *Solanum*

Solanum es el género más rico en especies de la familia Solanaceae y uno de los más grandes de las angiospermas, posee distribución mundial, con la mayor concentración de especies en el trópico y subtrópico. No obstante, la mayoría de las especies de *Solanum* son originarias de Sudamérica, especialmente en los Andes. Existen centros secundarios de diversidad y endemismo en Norte América, América Central, el este de Brasil, las Indias Occidentales, Australia, África y Madagascar (Figura 3) (Cañon y Menco, 2018).

Figura 3. Ubicación geográfica del género *Solanum*.



Tomado y modificado de Cañon y Menco, 2018.

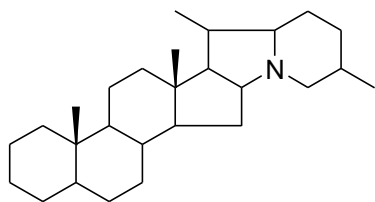
Leyenda: Las zonas de color rojo (mayor presencia) color naranja (presencia media) y amarillo (poca presencia)

Metabolitos secundarios aislados del género *Solanum*

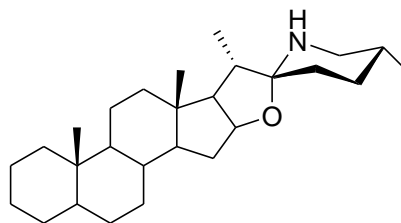
El género *Solanum* ha sido ampliamente estudiado, lo que ha permitido el aislamiento de metabolitos secundarios, como alcaloides esteroidales, saponinas, flavonoides, y aceites esenciales dichos compuestos son interesantes en el ámbito farmacológico por la actividad antimicótica, antiviral, citotóxica y teratogénica que poseen (Pérez y Rojas, 2013).

Dentro de los alcaloides aislados del género *Solanum* destacan: Solanidina (7), Espirosolano (8), Solacongestidina (9) y Jurubidina (10). Del mismo modo en las saponinas resaltan: Solasodósido A (11). Y de los flavonoides: Quercetina (12) y Astragalina (13) (Figura 4).

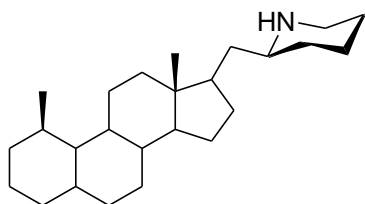
Figura 4. Principales componentes químicos aislados del género *Solanum*



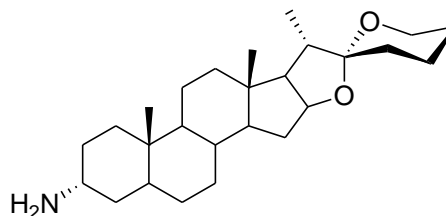
Solanidina (7)



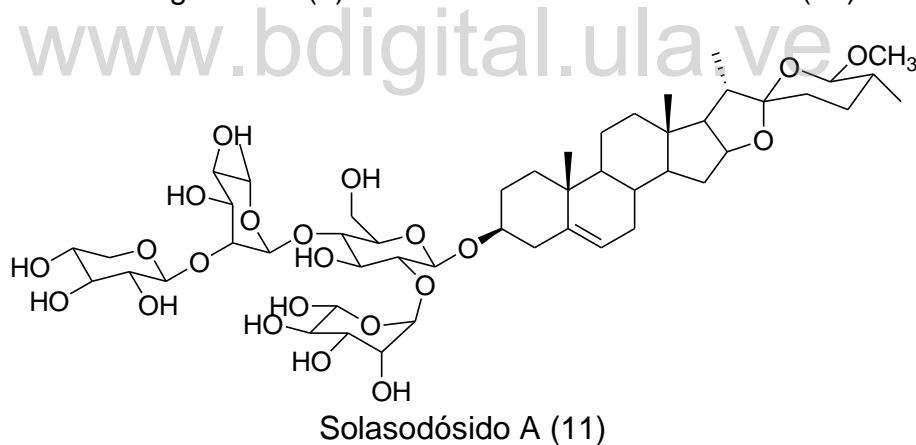
Espirosolano (8)



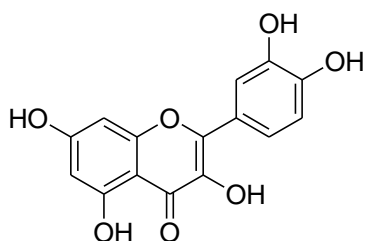
Solacongestidina (9)



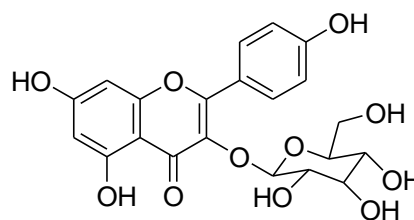
Jurubidina (10)



Solasodósido A (11)



Quercetina (12)



Astragalina (13)

Tomado y modificado de Pérez y Rojas, 2013.

Actividades farmacológicas del género *Solanum*

Este género presenta gran riqueza y diversidad de propiedades farmacológicas; entre ellas, actividad citotóxica, anticancerígena, antiinflamatoria, antiulcerogénica, antimicrobiana y antioxidante (Canon y Menco, 2018).

Especie *Solanum mammosum*

Aspectos bóticos

Solanum mammosum es ampliamente conocida como tintona, teta de vaca o chinchona. Se caracteriza por presentar frutos de color amarillo y es venenoso, la cual, por su toxicidad, antiguamente fue utilizada para fabricar insecticidas. Posee arbustos de unos 50 a 120 cm de alto, ramificado, con ramas espinosas de 7 a 15 mm de largo por 3 a 5 mm de ancho (Alarcón y Lars, 2008). Sus partes presentan las siguientes características:

- **Hojas:** se encuentran densamente pubescentes en el haz y envés, ubicadas en ángulo de 90, simples, con bordes medianamente hendidos, con espinas conspicuas y fuerte sobre las nervaduras en el haz 3-4 espinas en la nervadura central, de 10-15 mm de largo, con ápice acuminado (Figura 5).

Figura 5. Hojas de la especie *Solanum mammosum*



Tomado y modificado de Alarcón y Lars, 2008.

- **Flores:** se detallan dispuestas en racimos paucifloros. Cáliz verdeo-amarillento, con 5 sépalos. Corola con 5 pétalos de color lila, con 5 estambres prominentes, con filamentos cortos, de unos 2 mm de largo y enteras de 11-12 mm (Figura 6).

Figura 6. Flores de la especie *Solanum mammosum*

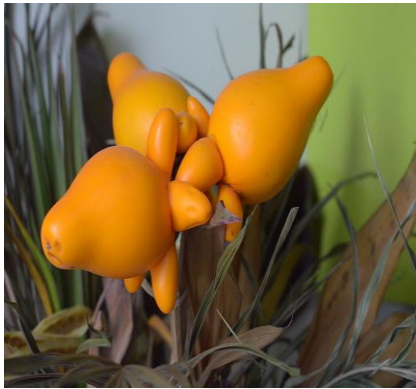


Tomado y modificado de Alarcón y Lars, 2008

- **Frutos:** son bayas de color verde amarillento, amarillo oro en la maduración, de forma cónica, con lóbulos a veces heterogéneos en tamaño

en la parte proximal y con una longitud de 5-6 cm. Los frutos son venenosos, por lo que no se deben de comer (Alarcón y Lars, 2008) (Figura 7).

Figura 7. Frutos de la especie *Solanum mammosum*



Tomado y modificado de Alarcón y Lars, 2008.

Distribución geográfica y taxonomía de la especie *Solanum mammosum*

El hábitat natural de esta planta es el norte de Sudamérica y las Antillas, crece en ecosistemas de bosque pluvial y bosque estacional con precipitaciones entre 1100 y 3400 mm/año, con una temperatura media de 22,5 a 26,5 °C. De igual manera requiere condiciones de alta luminosidad para crecer, en áreas bien drenadas, pues es susceptible a la inundación. Puede crecer cerca o distante de los cuerpos de agua, así como en áreas de pastoreo. Tiende a tolerar condiciones de extrema acidez (menores de 4), alta saturación de aluminio (superior a 60 %), así como bajo nivel de materia orgánica (menos de 2 %). Sin embargo, no tolera suelos de mal drenaje (Huayua y Nina, 2009). Su clasificación taxonómica es la siguiente (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación Taxonómica del *Solanum mammosum*

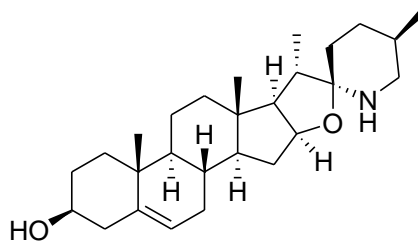
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Solanoideae
Genero	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Solanum mammosum</i>

Tomado y modificado de Alarcón y Lars 2008.

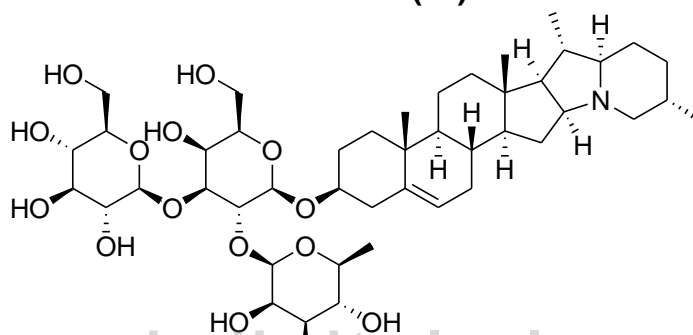
Metabolitos secundarios aislados de *Solanum mammosum*

Estudios realizados han demostrado que los principios activos mayormente reportados en la especie son alcaloides esteroides (Figura 8) como Solasodina, **(14)** Solanina **(15)**, Solamargina **(16)** y Solanidina **(17)** los cuales son los principales componentes químicos que le dan propiedades farmacológicas (Ruiz, 2008).

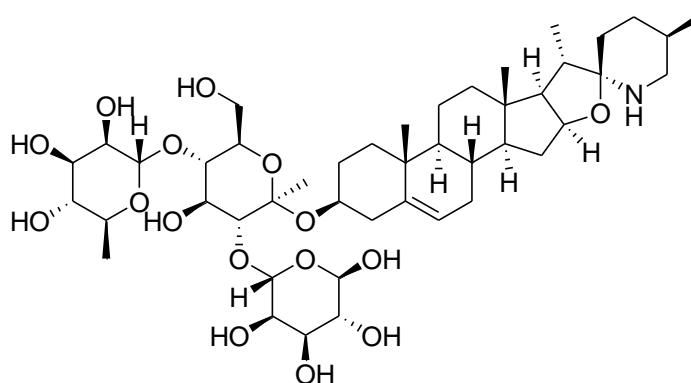
Figura 8. Principales componentes químicos reportados en *Solanum mammosum*



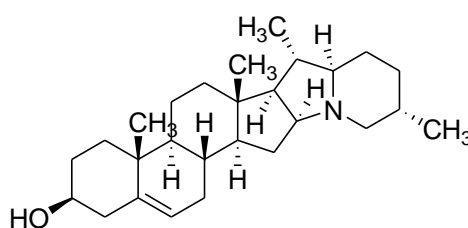
Solasodina (14)



Solanina (15)



Solamargina (16)



Solanidina (17)

Tomado y modificado de Ruiz, 2008.

Actividades farmacológicas de la especie *Solanum mammosum*

Estudios anteriores revelan que *S. mammosum*, presenta actividad diurética, descongestionante, antimicrobiana y antifúngica. El fruto tiene propiedades sedativas y narcóticas produce excitación y delirio, locura, aceleración de latidos, asfixia y en casos extremos, puede producir la muerte, si se ingieren las semi llas (Huayua y Nina, 2008).

Usos etnobotánicos de la especie *Solanum mammosum*

Diversas etnias a lo largo de los continentes han usado el fruto de esta planta como antimalárico, contra la sarna, para el tratamiento de heridas, úlceras, hemorroides, para la sinusitis aguda, resfríos y pérdida de apetito, como un cataplasma contra abscesos y pezones agrietados, mejora problemas de hígado y de muela y hemorragias intestinales. Las hojas tiernas o los cogollos las han utilizan como antiasmático, contra dolores estomacales y para tratar la irritabilidad. Las raíces han servido para en asma y como un estimulante general, en el tratamiento de sífilis y para el lavado de úlceras. Las semillas son usadas como estimulante, pero pueden causar dispepsia y constipación. Las personas de Colombia y Ecuador utilizan la planta como repelente especialmente en contra de cucarachas. En República Dominicana, los extractos de hojas y frutos son usadas para infecciones de boca, cortes en la piel y tomado para perder peso, disminuir la presión sanguínea y elevado colesterol. Los malasios toman la savia de hojas para tratar fiebre. En Sarawak, la fruta fresca es usada para tratar heridas en los ojos de niños. En Cambodia, Laos y Vietnam, la planta es usada para inducir narcosis (Acuña y Garro, 2016).

Productos Naturales

Hacen referencia a los compuestos químicos producidos por la naturaleza (flora, fauna, tierra, microorganismos minerales, entre otros); producto de un proceso metabólico, razón por la cual también reciben el nombre de metabolitos, estos a su vez se clasifican en primarios y secundarios, siendo los primarios los más abundantes e importantes de la naturaleza, responsables de la supervivencia, incluye carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. En cuanto a los metabolitos secundarios se producen en menor concentración, no son indispensables para la vida, pero se ha demostrado que estos pueden tener un sinfín de actividades farmacológicas por ejemplo como sedantes, diuréticos, antimicrobianos, hepatoprotectores entre otros (Lock, 1987).

Clasificación de los metabolismo secundarios

Los metabolitos secundarios son aquellos compuestos biológicos encontrados en las plantas que no parecen ser indispensables para la supervivencia de las mismas, pero que les otorgan distintas propiedades a las especies botánicas tales como la atracción de insectos, la inhibición de la germinación, propiedades antifúngicas o antibacterianas y disuasión de herbívoros. Entre las principales características de estos metabolitos Sánchez y Figueroa (2022) mencionan las siguientes:

- No tienen funciones metabólicas directas aparentes.
- Son importantes para la supervivencia e interacción con el entorno.
- Presentan diferente distribución en el reino vegetal.
- No son clasificados como secundarios basándose en su estructura, ruta biogénica o tipo de distribución.

Estas moléculas no son indispensables para el crecimiento y la reproducción de las plantas, pero cumplen roles muy importantes en el reino vegetal. Además, tradicionalmente han sido empleados por la humanidad con fines medicinales, lo que les otorga un uso farmacológico. Estos compuestos se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros (Sánchez y Figueroa, 2022).

Las cuatro principales clases de ellos son: terpenoides, alcaloides y compuestos nitrogenados relacionados, fenilpropanoides y compuestos fenólicos relacionados y flavonoides (Sánchez y Figueroa, 2022).

Terpenoides: son una vasta y diversa clase de compuestos orgánicos similares a los terpenos. Pueden verse conformados por unidades de 5-carbonos llamados isopreno (pero el precursor es el isopentenil difosfato), ensambladas y modificadas de muchas maneras diferentes, siempre basadas en el esqueleto del isopentano. La mayoría de los terpenoides tiene estructuras multicíclicas, las cuales difieren entre sí no sólo en grupo funcional sino también en su esqueleto básico de carbono. Los monómeros generalmente son referidos como "unidades de isopreno" porque la descomposición por calor de muchos terpenoides da por resultado ese producto y porque en condiciones químicas adecuadas, se puede inducir al isopreno a polimerizarse en múltiplos de 5 carbonos, generando numerosos esqueletos de terpenoides (Sánchez y Figueroa, 2022).

Estos lípidos se encuentran en toda clase de seres vivos, y son biosintetizados en las plantas, donde son importantes en numerosas interacciones bióticas. En las plantas los terpenoides cumplen muchas funciones primarias: algunos pigmentos carotenoides son formados por terpenoides, también forman parte de la clorofila y las hormonas giberelina y

ácido abscísico. Los terpenoides también cumplen una función de aumentar la fijación de algunas proteínas a las membranas celulares, lo que es conocido como isoprenilación. Los esteroides y esterolés son producidos a partir de terpenoides precursores. Los terpenoides de las plantas son extensamente usados por sus cualidades aromáticas. Juegan un rol importante en la medicina tradicional y en los remedios herbolarios, y se están investigando sus posibles efectos antibacterianos y otros usos farmacéuticos. Estos metabolitos se extraen de los tejidos vegetales con éter de petróleo, éter etílico o cloroformo y se separan por cromatografía sobre sílica gel o alúmina con los mismos disolventes (Sánchez y Figueroa, 2022).

Alcaloides: son sustancias orgánicas de origen vegetal con una actividad fisiológica muy intensa en dosis pequeñas. Son compuestos nitrogenados, de carácter básico, de distribución restringida y dotados de propiedades farmacológicas que con frecuencia se presentan combinados con ácidos orgánicos o taninos. Representan entre el 0,1-3 % del peso seco de la planta. Son sustancias más o menos tóxicas que actúan primariamente sobre el sistema nervioso central, tienen un carácter básico, contienen nitrógeno heterocíclico y son sintetizados en plantas partiendo de aminoácidos y derivados inmediatos. Pueden ser sólidos, solubles en alcohol o insolubles en el agua. Se extraen mediante el agua, alcohol, con álcalis y con disolventes orgánicos apolares. Su función es reguladora y protege a la planta contra los insectos y parásitos. Se emplean en estado puro o por quimiosíntesis como drogas vegetales (quinina, morfina). Para la determinación de los alcaloides se realizan las siguientes pruebas: Dragendorff, Mayer, Valser, Reineckato de amonio y cromatografía de capa delgada (Sánchez y Figueroa, 2022).

Fenilpropanoides: Los más importantes son los ácidos cinámicos, tienen la estructura C₆ C₃, que es un anillo aromático unido a una cadena lateral de tres carbonos. Están presentes en la naturaleza en su forma libre, esterificada de amidas o glicosilados. Son los bloques que constituyen a la lignina. Están

relacionados con la regulación del crecimiento vegetal y con la resistencia a las enfermedades. Los fenilpropanoides más comunes son los ácidos hidroxicinámicos, ubicados en las plantas ejemplos de ellos son los ácidos: ferúlico, sinápico, cafeico y *p*-cumárico (Sánchez y Figueroa, 2022).

Flavonoides: Los flavonoides con hidroxilos fenólicos son solubles en soluciones alcalinas, pero algunos altamente hidroxilados se descomponen por acción de las bases fuertes, un hecho que permite reconocerlos y diferenciarlos de otros. Se encuentran ampliamente distribuidos en plantas verdes (especialmente angiosperma) y solo algunos pocos se han detectado en hongos y algas. Se han encontrado en las diferentes partes de las plantas, especialmente en las partes aéreas. Se encuentran en forma libre (también llamados agliconas flavonoides), como glicósidos, como sulfatos y algunas veces como dímeros y polímeros (Sánchez y Figueroa, 2022).

Se les ha atribuido una cantidad de propiedades farmacológicas, incluyendo actividades inhibitoras de enzimas (hidrolasas, ciclooxigenasas, fosfatasa alcalina, cAMP fosfodiesterasas, ATP-asas, liasas, hidroxilasas, transferasas, oxidoreductasas y kinasas), antiinflamatoria, anticancerígena, antibacterial y antiviral (Sánchez y Figueroa, 2022).

Para la determinación de este tipo de metabolitos se pueden realizar gran variedad de pruebas, sin embargo, la más reconocida es la de Shinoda o reacción de la Cianidina que puede complementarse a través de cromatografía de papel y revelando con luz UV (Sánchez y Figueroa, 2022).

Rutas biosintéticas

Es bien sabido que el metabolismo es el conjunto de reacciones y procesos físico-químicos que ocurren en una célula. Estos complejos procesos interrelacionados son la base de la vida a nivel molecular, y permiten las diversas actividades de las células: crecer, reproducirse, mantener sus

estructuras, responder a estímulos, entre otros. El metabolismo se divide en dos procesos conjugados: catabolismo y anabolismo. Las reacciones catabólicas liberan energía; un ejemplo es la glucólisis, un proceso de degradación de compuestos como la glucosa, cuya reacción resulta en la liberación de la energía retenida en sus enlaces químicos. Las reacciones anabólicas, en cambio, utilizan esta energía liberada para recomponer enlaces químicos y construir componentes de las células como lo son las proteínas y los ácidos nucleicos. El catabolismo y el anabolismo son procesos acoplados que hacen al metabolismo en conjunto, puesto que cada uno depende del otro (García, 2004).

Apartir del metabolismo primario se obtienen moléculas simples, las cuales son el punto de partida de las rutas biosintéticas del metabolismo secundario, según lo indica García (2004), se conocen genéricamente tres rutas bioquímicas que los sintetizan y tres familias orgánicamente identificables, a saber.

Ruta del ácido shikímico, se basa en un conjunto de reacciones metabólicas de gran relevancia en la biosíntesis de los tres aminoácidos proteínicos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano, así como una extensa gama de metabolitos secundarios. El ácido shikímico es precursor de diversos intermediarios metabólicos aromáticos, tales como los taninos, el cloranfenicol, el ácido 4-aminobenzoico, los fenilpropanoides, los lignanos, los aminoácidos aromáticos, así como sus derivados: glucósidos cianogénicos aromáticos, aminas biógenas aromáticas, catecolaminas, betalainas, melaninas, bisindoles, los flavonoides, las fenazinas y diversos alcaloides entre los cuales se encuentran los alcaloides tetrahidroisoquinolínicos, los alcaloides del ergot y los morfinaños, entre otros. El intermediario principal es el ácido shikímico, un compuesto originalmente aislado de plantas del género *Illicium*. En compuestos aromáticos derivados del ácido shikímico, las posiciones

oxigenadas son de tipo catecol (orto) o pirogalol (diorto), y en el caso de los fenoles monooxygenados son generalmente p-hidroxí-compuestos

Ruta del ácido mevalónico, es la otra ruta que viene de la conjunción del acetil CoA para dar una familia de compuestos secundarios: Terpénicos.

Ruta de los policétidos (acetogeninas), también por conjunción del acetil CoA vía acetato para dar origen a compuestos Fenólicos.

Extractos Vegetales

Los extractos vegetales son mezclas complejas de metabolitos secundarios, que cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos y propiedades biológicas. Los mismos son preparaciones de consistencia líquida (extractos fluidos y tinturas), semisólida (extractos blandos o densos) o sólida (extractos secos), obtenidos a partir de drogas vegetales o tejidos animales en estado generalmente seco (Ramírez, García, Vizcaíno, Cárdenas, Gutiérrez, Murga y Villagran, 2012)

Técnicas de obtención de los extractos

La extracción puede realizarse a partir de plantas secas, semi secas, frescas o fermentadas. Los métodos de extracción más utilizados son la presión mecánica, maceración, destilación y la extracción con solventes (Hernández, Bautista y Velázquez, 2007). A continuación se mencionan algunas metodologías para la obtención de extractos:

- **Maceración:** es una técnica de extracción sólido/líquido siendo un procedimiento simple y ampliamente utilizado, el cual implica dejar la planta (pulverizada) para remojar en un solvente adecuado en un contenedor cerrado

a temperatura ambiente. El método es adecuado tanto para la extracción inicial como a granel, puede aumentar la velocidad de la extracción realizando agitación ocasional o constante de la preparación (usando agitadores o mezcladores para garantizar una mezcla homogénea). Finalmente, el proceso se detiene cuando se produce un equilibrio alcanzado entre la concentración de metabolitos en el extracto y el material vegetal. Después de la extracción, el material vegetal residual tiene que estar separado del solvente. Esto implica una clarificación por decantación, que generalmente es seguido por un paso de filtración (Pino, Gallado y Pérez, 2018).

- **Infusión:** consiste en colocar partes delicadas de la planta como hojas, flores, sumidades y tallos tiernos en agua hirviendo u otro líquido extractor apropiado para obtener su extracto. Es un método utilizado para plantas sensibles a la degradación térmica (López, 2002).

- **Decocción o digestión:** en este proceso, el material fragmentado disuelto en un solvente convenientemente escogido, se somete a ebullición. Debido a que un calentamiento prolongado de la solución podría conducir a la evaporación total del disolvente, se utiliza un equipo de reflujo que consta de un balón de destilación (que contiene el material a extraer más el disolvente) y un refrigerante. La temperatura elevada del disolvente permite una mejor extracción de los componentes deseados, ya que la solubilidad de la mayoría de las sustancias aumenta con la temperatura. Este método presenta el inconveniente de que muchos compuestos termolábiles, se alteran o descomponen a la temperatura de ebullición del disolvente (López, 2002).

- **Percolación:** es un proceso ampliamente difundido que consiste en colocar el material fragmentado en un recipiente cónico o cilíndrico, haciendo

pasar un disolvente apropiado a través del mismo. El tamaño de las partículas del material a extraer no debe ser menor los 3 mm aproximadamente, dado que el disolvente no percolará. Sin embargo, el material debe estar debidamente compactado de modo que el disolvente eluya con cierta lentitud dando tiempo al mismo a tomar contacto con los tejidos y extraer los componentes deseados. De otra manera el residuo desechado contendrá gran parte del componente de interés. Este método no difiere significativamente de la maceración, aunque requiere el agregado de solvente en forma constante (López, 2002).

• **Extracción por reflujo:** en el proceso de reflujo, el material previamente disuelto en el solvente elegido, se somete a ebullición. Para evitar que un calentamiento excesivo evapore el solvente se utiliza un sistema de reflujo que consiste en enfriar el vapor del solvente con un refrigerante y devolverlo al balón que contiene el material para continuar el proceso, esto además garantiza que no haya pérdidas ni de material ni de solvente durante el proceso de extracción. La temperatura elevada del disolvente permite una mejor extracción de los componentes deseados, ya que la solubilidad de la mayoría de las sustancias aumenta con la temperatura. Este método presenta el inconveniente de que muchos compuestos termolábiles se alteran o descomponen a la temperatura de ebullición del disolvente (López, 2002).

• **Destilación:** este es el método más común para obtener aceites esenciales como resultado de un proceso de eliminación parcial o total del líquido extractor. Puede usarse para obtener aceites de plantas aromáticas, semillas, flores, bayas o frutos, incluso de maderas como el sándalo (López, 2002).

Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico es una herramienta muy valiosa en la investigación para determinar el potencial biológico y farmacológico que poseen algunas plantas, compuestos o productos, siendo comúnmente empleado para identificar las principales familias de metabolitos secundarios presentes en una planta. Según lo indican Castillo, Zavala y Carillo, (2017), se corresponde con “una serie de métodos que han sido desarrollados, y aplicados para detectar de manera preliminar los constituyentes químicos en las plantas” y una vez determinado esto, se pueda orientar la extracción o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. Para su realización, es necesario contar con los solventes apropiados, la aplicación de pruebas de coloración, precipitación, entre otras; las cuales permitirán clasificar cualitativamente las sustancias presentes en un tejido vegetal. De acuerdo con esto, tal y como los señalan los autores, para realizar un análisis fitoquímico se requiere seguir con los siguientes pasos:

- a) Recolección y clasificación botánica de la especie en estudio.
- b) Extracción, separación y purificación de constituyentes químicos.
- c) Determinación estructural y ensayos farmacológicos.

Se estima que este tamizaje se corresponde con las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, dado que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta los cuales permitirán orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. Es necesario que, a partir de este tamizaje, se pueda realizar una evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo, lo que permitirá obtener resultados que sirven como orientación, para posteriormente interpretarse en conjunto

con el "screening" farmacológico (Pujol, Tamargo, Salas, Calzadilla y Acevedo, 2020).

Existen diversas técnicas empleadas en el tamizaje fitoquímico, siendo algunas para evaluar pocos grupos de sustancias en compensación, mientras que otras evalúan la presencia de compuestos de poco interés como ácidos grasos, azúcares reductores, polisacáridos y mucilagos (Salazar y Jaime, 2011).

A continuación se mencionan algunas pruebas para detectar metabolitos secundarios:

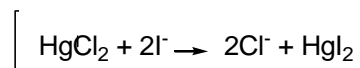
Identificación de alcaloides: la mayoría de los alcaloides, con excepción de los alcaloides de amino cuaternario y N-óxidos de amina, son solubles en solventes orgánicos poco polares, como cloroformo y mezclas de éste, pero pueden formar sales solubles en agua en presencia de ácidos minerales diluidos, como el ácido clorhídrico al 5 %. Esta propiedad ácido-base se aprovecha para su purificación a partir de extractos totales. Luego de este paso inicial se realizan pruebas de precipitación en medio ácido, utilizando para ello sales de metales pesados (Coy, Parra y Cuca, 2014).

Ensayo de Dragendorff: permite conocer la presencia de alcaloides, con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, agregando 3 gotas del reactivo de Dragendorff. Se considera (+) cuando se presenta opalescencia, (++) cuando presenta turbidez definida y (+++) cuando presenta precipitado (Marcano y Hasegawa, 2002).

Ensayo de Mayer y Wagner: sirve para identificar alcaloides, se procede de la forma descrita para el ensayo de Dragendorff, hasta obtener la solución ácida. Si al añadir 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Mayer o

Wagner respectivamente, se observa opalescencia, turbidez definida, precipitado coposo, entonces se considera positiva la presencia de este tipo de metabolito. En el caso de alcaloides cuaternarios y/o aminoácidos libres, estos sólo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia debe observarse la aparición de turbidez definida o precipitado coposo en todos los casos, ya que la aparición de opalescencia puede dar un resultado falso, pues puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias (Figura 9) (Pereira, Vega, Almeida, Morales, 2009).

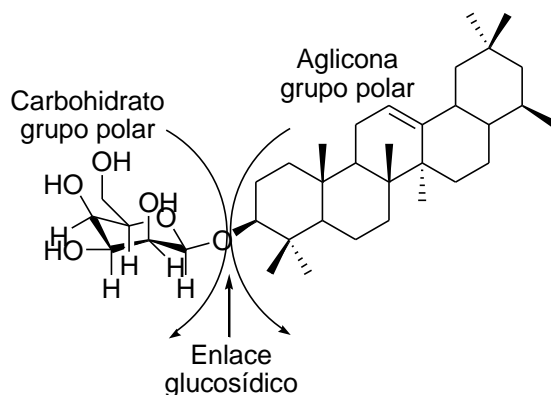
Figura 9. Fundamento químico de la reacción para la identificación de alcaloides



Tomado y modificado de Coy, Parra y Coca, 2014.

Identificación de saponinas: las saponinas son glicósidos cuya aglicona consiste en un núcleo esteroideal o triterpenico; esta característica estructural le confiere un carácter anfótero que les permite actuar como tensoactivos. Aprovechando esta propiedad, la prueba utilizada es la de formación de espuma, que consiste en agitar vigorosamente la solución acuosa, obtenida de la muestra en un tubo de ensayo y observar la espuma formada, la cual es estable durante unos minutos (Figura 10) (Marcano y Hasegawa, 2002).

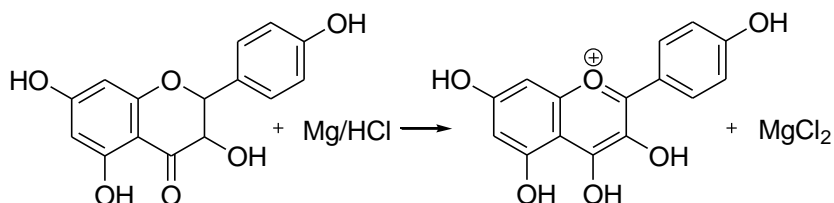
Figura 10. Fundamento químico de la reacción para la identificación de saponinas.



Tomado y modificado de Marciano y Hasegawa, 2002.

Identificación de flavonoides: mediante la prueba de Shinoda se puede reconocer la presencia de flavonoides en un extracto vegetal, puesto que estos al ser tratados con magnesio (Mg) y ácido clorhídrico (HCl) dan complejos coloreados que dependen de la estructura del flavonoide presente. El Mg metálico es oxidado por el HCl dando como productos al hidrogeno molecular (H₂) que es eliminado en forma de gas y al cloruro de magnesio (MgCl₂) que es el que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características: anaranjado para flavonas, rojo para dihidroflavonas, rojo azulado para flavonoles y violeta para dihidroflavonoles y xantonas. Todos los flavonoides dan positivos a esta reacción excepto chalconas, auronas e insoflavonas (Figura 11) (Delporte, 2010).

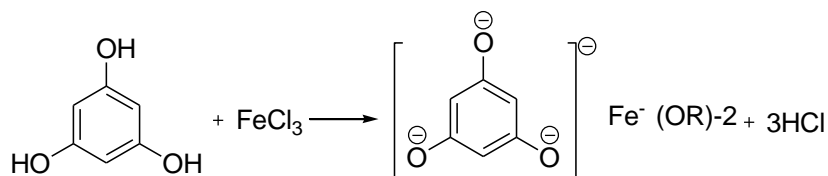
Figura 11. Fundamento químico de la reacción para la identificación de flavonoides



Tomado y modificado de Delporte, 2010.

Identificación de taninos y fenoles: En el caso de taninos, los métodos de detección se basan en la propiedad que tienen para precipitar proteínas haciéndose la reacción más sensible por la solidificación del complejo proteína-tanino; la prueba utilizada para ellos es la precipitación de proteínas con gelatina sal (NaCl), formándose un precipitado. La prueba de cloruro férrico es la más utilizada para fenoles. Si hay desarrollo de color vino será con compuesto fenólico en general, ahora si se forma un precipitado de color verde o azul-verdoso, se debe a la reacción entre el cloruro férrico y los grupos fenólicos del tanino (Figura 12) (Coy, Parra y Cuca, 2014).

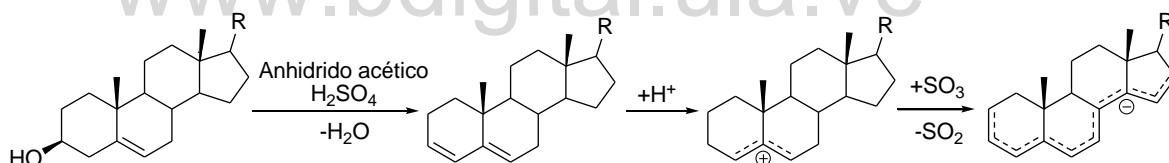
Figura 12. Fundamento químico de la reacción para la identificación de taninos y fenoles.



Tomado y modificado de Coy, Parra y Cuca, 2014.

Identificación de triterpenos/Esteroles: la identificación de estos metabolitos secundarios se realiza con el ensayo de Liebermann-Burchard que consiste en una reacción donde el esteroide se oxida por la presencia del ácido sulfúrico que forma una molécula que contiene un doble enlace adicional. En la etapa inicial de esta prueba ocurre la protonación del grupo OH del esteroide generando una pérdida de agua y obteniéndose el ión carbonio 3,5 colestadieno que constituye la primera parte para la formación de color (Orantes, 2008; Ardila, 2014). Para la identificación de esteroides también se utiliza el ensayo de Vainillina- ácido ortofosfórico el cual detecta el núcleo esteroidal presente en la molécula (Figura 13) (Carvajal, Hata, Sierra y Rueda, 2009).

Figura 13. Fundamento químico de la reacción para la identificación de triterpenos.



Tomado y modificado de Carvajal, Hata, Sierra y Rueda, 2009.

Bacterias

Las bacterias son la forma de vida más antigua en el planeta y corresponden a organismos microscópicos unicelulares. Existe diversidad de tipos de bacterias, las cuales presentan características variadas en cuanto a su forma, constitución y el medio en el que se desenvuelven. Tal y como lo indica Caicedo, Corrales y Trujillo (2021), estos microorganismos “tienen ADN circular de doble cadena y, con la excepción de los micoplasmas, paredes celulares”. Las bacterias pueden vivir fuera de las células, aunque de igual

manera algunos viven dentro de ellas, regularmente son los patógenos intracelulares que pueden crecer, reproducirse y causar enfermedades sólo dentro de las células del huésped. Entre este tipo de patógenos se tienen la *Chlamydia*, especies de *Chlamydomphila* y *Rickettsia* (Campos, Alarcón, Dauria, Delgado y Ferrer, 2017).

Los patógenos facultativos intracelulares pueden vivir y reproducirse dentro o fuera de las células huésped. A modo de ejemplo de estos patógenos se mencionan *Salmonella typhi*, especies de *Brucella*, *Francisella tularensis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Legionella* y especies de *Listeria*, y *Mycobacterium tuberculosis*. Cabe destacar, que muchas bacterias se encuentran habitualmente presentes en el cuerpo humano como microbiota normal en distintas partes del cuerpo, siendo tan sólo unas pocas especies patógenas para el ser humano (Campos y cols, 2017).

Las bacterias se identifican en el laboratorio mediante un proceso de tinción de Gram, la cual es el proceso de coloración más empleado para su distinción. Así se tiene que las bacterias grampositivas retienen el colorante cristal violeta (por lo que adquieren un color azul oscuro) después de la fijación con yodo, la decoloración con alcohol y la contratinción con safranina; por su parte, las bacterias gramnegativas, que no retienen el cristal violeta, aparecen de color rojo. Por otra parte, se tienen las tinciones de Ziehl-Neelsen y de Kinyoun las cuales corresponden a tinciones acidorresistentes, que se usan para identificar principalmente a las micobacterias o las tinciones con fluorocromos (por ejemplo auramina-rodamina) que permiten identificar microorganismos ácido-resistentes aunque requiere de un microscopio fluorescente especial (Carrol, Hobden y Suckanary, 2002). Esta clasificación entre bacterias grampositivas y gramnegativas se detallan a continuación (Tabla 3):

Tabla 3. Clasificación de algunas bacterias según la tinción de Gram.

Grampositivos	Gramnegativos
Cocos	Cocos
<i>Staphylococcus aureus</i> o <i>epidermidis</i>	<i>Neisseria</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Streptococcus</i> beta (grupos A, B, G)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Streptococcus viridans.</i>	<i>Neisseria Branhamella</i>
	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	Bacilos
<i>Enterococos</i>	<i>Salmonella</i> sp.
<i>Pneumococos</i>	<i>Acinetobacter</i> sp.
	<i>Bordetella pertussis</i>
	<i>Brucella</i> sp.
<i>Bacillus anthracis jejuni</i>	<i>Campylobacter</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Enterobacter</i> sp.
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Shigella</i> sp.
	<i>Haemophilus influenzae</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Legionella pneumophila</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>

Tomado y modificado de Carrol, Hobden y Suckanary (2002).

Características de las bacterias a implementar durante el estudio

Para llevar a cabo el presente trabajo se utilizaron bacterias grampositivas como *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*; del mismo modo bacterias gramnegativas como *Pseudomonas aeruginosas*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. A continuación se describen las características:

***Staphylococcus aureus*:** es una bacteria grampositivo, tiene forma de coco y puede aparecer en parejas, en cadenas o en racimos. Su tamaño oscila entre 0,8 y 1,5 micrómetros (μm) de diámetro, es inmóvil y algunas cepas producen una cápsula externa mucoide que aumenta su capacidad para producir infección. En relación a su metabolismo, es anaerobio facultativo, coagulasa positivo, catalasa positiva y oxidasa negativa. Forma parte de la microbiota de la piel desde su descubrimiento por el médico Alexander Ogston en 1880, *Staphylococcus aureus* es considerado un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el ser humano, *S. aureus* es considerado muy virulento, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida. El impacto de las cepas de *S. aureus* sobre la salud es la resistencia que puede presentar a múltiples antibióticos, sobre todo a la meticilina. A través de los años se ha incrementado la tasa de morbilidad y mortalidad a pesar del gran número de antibióticos disponibles que existen (Hurtado, Parte y Brito, 2002).

***Enterococcus faecalis*:** es una bacteria inmóvil, grampositiva, dispuesta en pares o cadenas cortas, anaerobia facultativa, catalasa variable, y fermentador de la glucosa, forman parte de la flora normal del tracto gastrointestinal y del tracto genitourinario femenino. Puede causar infecciones

comprometidas en humanos, especialmente en ambiente de hospital pudiendo incluso ser letal. La existencia de *Enterococcus faecalis* se potencia porque ha tenido la habilidad de adquirir resistencia a prácticamente todos los antibióticos en uso (Pardi, Guilarte, Cardozo y Briseño, 2009).

Klebsiella Pneumoniae: es una bacteria de forma bacilar, gramnegativa, anaerobia facultativa, inmóvil y usualmente encapsulada, crece a 37 °C está ampliamente esparcida en el ambiente hospitalario, en los seres humanos coloniza la nasofaringe y el tracto gastrointestinal, *Klebsiella pneumoniae* manifiesta una alta resistencia a los antibióticos beta-lactámicos, principalmente por la producción de beta-lactamasas y las carbapenemasas; lo importante de esta resistencia radica en que los betalactámicos, potentes bactericidas, son los antibióticos más a menudo prescritos en el mundo: en efecto, constituyen el 50 % del consumo global de este tipo de fármacos (Echeverri y Cataño, 2010).

Pseudomonas aeruginosa: es otro miembro de este grupo de bacilos gramnegativos, son rectos o ligeramente curvos, aerobios, catalasa positiva, y móviles. Destacan por ser patógenos oportunistas que con frecuencia causan infecciones intrahospitalarias, especialmente en pacientes con asistencia respiratoria mecánica, pacientes quemados y aquellos con neutropenia o debilidades crónicas. Pueden infectar muchos sitios anatómicos, y los cuadros suelen ser graves. *Pseudomonas aeruginosa*, es resistente, tanto de manera natural como adquirida, a un gran número de antibióticos como cefalosporinas de primera y segunda generación, tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. Esto se debe a las características de su membrana celular que tiene propiedades excepcionales de impermeabilidad (Briad y Baysse, 2012).

***Escherichia coli*:** son bacilos gramnegativos, no esporulados, productores de indol a partir de triptófano, no utilización de citrato como fuente de carbono y no producción de acetoina, fermentadores de la glucosa y la lactosa con producción de gas. La mayoría de las *Escherichia coli* no causan problemas. Pero, algunos tipos pueden producir enfermedades y causar diarrea. El peor tipo de *E. coli* causa una diarrea hemorrágica y a veces puede causar insuficiencia renal y hasta la muerte. Esto, en general, ocurre en niños y en adultos con sistemas inmunitarios debilitados. Presenta resistencia a betalactámicos y a quinolonas (Peñaloza y Aspiazú, 2021).

Mecanismos de resistencia bacteriana

El ser humano ha venido desarrollando una lucha contra los microorganismos patógenos desde hace muchos años. Es por ello que surgen los antibióticos como herramienta para contrarrestar las afecciones a la salud que pueden ocasionar estos organismos. Sin embargo, así como el hombre, mediante los avances en el ámbito de la salud ha diseñado fármacos para combatirlos, de igual manera las bacterias y hongos han sabido hacer frente a los mismos, adaptándose y generando resistencia a los mismos. En este sentido, Ryan y Ray (2017) señalan que la resistencia a un antibiótico puede ser inherente a una especie bacteriana en particular o adquirirse mediante mutaciones o la transmisión de genes portados por otros microorganismos.

Estos genes codifican diferentes mecanismos para la resistencia. Los genes que codifican la resistencia pueden transmitirse entre 2 células bacterianas por los siguientes mecanismos:

- Transformación (captación de ADN desnudo de otro microorganismo)
- Transducción (infección por un bacteriófago)

Conjugación (intercambio de material genético en forma de plásmidos, que son porciones de ADN extracromosómico que se replican en forma independiente, o transposones, que son partes móviles del ADN cromosómico). Los plásmidos y transposones pueden diseminar rápidamente los genes de resistencia. De acuerdo con esto se tiene que un antibiótico elimina preferentemente a las bacterias no resistentes, pero aumenta así la proporción de bacterias resistentes de la población. Además, se debe tener en cuenta que los fármacos afectan no sólo a las bacterias patógenas, sino también a la microbiota normal, de tal manera que la forma normal resistente puede convertirse en un reservorio de genes de resistencia que posteriormente pueden transmitirse a los patógenos (Ryan y Ray, 2017).

Tipos de resistencia bacteriana

Natural o intrínseca: es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos. En el caso de la resistencia natural todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permiten tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir en caso que se emplee ese antibiótico (Díaz, Salas, Fernandez y Martinez 2007).

Adquirida: constituye un problema en la clínica, se detectan pruebas de sensibilidad y se pone de manifiesto en los fracasos terapéuticos en un paciente infectado con cepas de un microorganismo en otros tiempos sensibles. La aparición de la resistencia en una bacteria se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases de cromosoma) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias (Díaz, Salas, Fernández y Martínez, 2007).

En el primer caso, la resistencia se transmite de forma vertical de generación en generación. En el segundo, la transferencia de genes se realiza

horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético movable como integrones y transposones; esto último no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas. De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos (Ryan y Ray, 2017).

Antibióticos

Estos se definen como “Un grupo amplio y heterogéneo de fármacos químicas producidas por varias especies de microorganismos (bacterias, hongos y actinomicetos) que suprimen el crecimiento de otros microorganismos, y originan su destrucción” (Arco, 2014). Tal nominación también se aplica para definir a los compuestos sintéticos que presentan actividad antibacteriana. Cabe acotar que los mismos presentan diferentes mecanismos de acción, entre los que se destacan los siguientes:

- Inhibición de la síntesis de la pared celular
- Aumento de la permeabilidad de la membrana celular
- Interferencia con la síntesis de las proteínas, el metabolismo de los ácidos nucleicos y otros procesos metabólicos (Arco, 2014).

Una manera de clasificar los antibióticos se asocia a la actividad que tienen los mismos frente a las bacterias grampositivas y gramnegativas, teniendo esto en cuenta se pueden clasificar de la siguiente manera (Tabla 4):

Tabla 4. Clasificación de los antibióticos según su acción sobre los tipos de bacterias

Antibióticos contra grampositivas:	Penicilinas, glicopéptidos, lincosamida, rifampicinas
Antibióticos contra gramnegativas:	Aminoglucósidos, monobactámicos, aminociclitoles, polipéptidos
Antibióticos de amplio espectro:	Cefalosporinas, carbapenémicos, amfenicoles, macrólidos, quinolonas, tetraciclinas.

Tomado y modificado de Cue y Morejon (2008).

Hongos

Tortora, Funke y Case (2007) definen a los hongos como seres vivos eucariotas, más cercanos evolutivamente a los animales que a las plantas y que poseen las siguientes características: carecen de movilidad y sentidos, como las plantas, pero a diferencia de ellas no poseen una nutrición autótrofa (fotosíntesis o quimiosíntesis), sino que consumen materia orgánica disponible (nutrición heterótrofa), a diferencia de los animales, no pueden ingerir el alimento, sino que deben absorberlo (Tortora, Funke y Case, 2007).

Las células de los hongos poseen una pared celular (al igual que las células vegetales), pero en lugar de estar compuesta de celulosa, está compuesta de quitina, la misma sustancia que emplean muchos animales para sus cubiertas y caparazones; pueden ser unicelulares y microscópicos, o pluricelulares y macroscópicos, dependiendo de la especie, y habitar hábitats muy distintos, terrestres o submarinos, o también parasitar los cuerpos de plantas y animales (Tortora, Funke y Case, 2007).

Generalmente ocupan un nicho ecológico descomponedor, o sea, detritófago, ayudan a descomponer la materia orgánica de desecho; Sirven de alimento a numerosas especies de animales, incluidos los seres humanos

además se caracterizan por que su forma de reproducción es por medio de esporas, de manera sexual o asexual (Tortora, Funke y Case, 2007)

Clasificación de los hongos

En los últimos treinta años se ha despertado un gran interés por el estudio de la clasificación de los hongos debido, principalmente, al número creciente de patógenos oportunistas. Actualmente, los métodos tradicionales para la identificación y clasificación de estos microorganismos se basan en criterios morfológicos y en las características de las estructuras de reproducción (Tortora, Funke y Case, 2007).

Según su morfología los hongos se clasifican en tres grupos: macromicetos, los cuales son setas, formados por talo y sombrero; levaduras siendo estos organismos unicelulares, redondeados u ovales, que producen brotes (blastosporos o blastoconidios) y mohos: los cuales son organismos multicelulares, con paredes, rígidas, paralelas, ramificados, tabicados, mayores de 1 μm de diámetro. Mientras que de acuerdo a su forma de reproducción los hongos pueden ser asexual o sexual y en ambos casos, las esporas son las estructuras, responsables de dispersar la progenie la diferencia es que la reproducción asexual es mucho mas rápida, mientras que la sexual ocurre pocas veces. La reproducción sexual es producir esporas que germinan bajo condiciones favorables para producir el estado reproductivo asexual directamente, o poco después de la germinación (Tortora, Funke y Case 2007).

Para poder evaluar la actividad antimicrobiana de los frutos de *Solanum mammosum*, se utilizaron cepas del género *Cándida*, específicamente *Candida albicans* y *Candida krusei*.

Candida albicans: suele presentarse de distintas morfologías como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras con paredes finas, también se

han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levaduras que permanecen unidas entre sí. Forma parte de la microbiota oral, vaginal y del tracto gastrointestinal de los humanos; no es patógena por naturaleza, pero todo depende del estado inmunológico del paciente, en inmunocomprometido es responsable de producir micosis, mientras que en personas inmunocompetentes se comporta de forma inofensiva. Los medicamentos usados para combatir dichas micosis son los azoles (Fluconazol®, Itraconazol®, Ketoconazol®, Miconazol®, etc.), sin embargo en la actualidad se observa una disminución en la efectividad de estos antimicóticos, debido a que las cepas de *C. albicans* han desarrollado mecanismos de resistencia frente a los mismos (López, Dzul, Lugo, Arias y Zabala, 2016).

***Candida krusei*:** es un hongo levaduriforme, son cilíndricas, de hasta 25 mm de largo. Las colonias separadas exceden con frecuencia los 5 mm de diámetro. este hongo generalmente aislado en paciente generalmente inmunocomprometidos. Anteriormente se pensaba que estaba presente en limitadas infecciones, pero en los últimos años se relaciona con endocarditis, infecciones oculares, accesos intra-abdominales y funguemias, siendo el responsable del 1-2 % de todas las infecciones reportadas por el género *Candida*; es así como ha tomado mayor relevancia con su creciente participación en infecciones oportunistas especialmente en paciente con leucemias, diabetes mellitus y aquellos con tratamientos de quimioterapias e inmunosupresores (Jiang, Jones y Shekar, 2006).

Mecanismos de resistencia de los hongos

La resistencia es un cambio de sensibilidad o susceptibilidad al antifúngico que puede medirse *in vitro* por métodos de laboratorio apropiados. Los

mecanismos de resistencia antifúngica se clasifican en dos categorías, resistencia microbiológica y resistencia clínica. La resistencia microbiológica se define como el crecimiento del microorganismo a dosis normales del antifúngico, sin embargo, éste puede ser inhibido a una concentración más alta. La resistencia clínica se define como el crecimiento del microorganismo a pesar de la administración de un agente antifúngico lo que se asocia con una alta probabilidad de falla terapéutica. En otras palabras, el patógeno no se puede inhibir a dosificaciones normales, pero sí a concentraciones más altas, las cuales podrían ser no seguras para el paciente (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002).

Los mecanismos de resistencia antifúngica pueden ser primarios y secundarios y dependen de las características intrínsecas o adquiridas de los patógenos fúngicos. Varios mecanismos conducen a una resistencia adquirida a azoles, siendo el más común la inducción de bombas de eflujo codificadas por los genes MDR o CDR, y la adquisición de mutaciones puntuales en el gen que codifica para la enzima blanco de estos fármacos (gen ERG11). Si hay sobreexpresión de bombas de eflujo y mutaciones de ERG11, el nivel de resistencia al voriconazol y al fluconazol es mucho más alto (efecto aditivo). La resistencia adquirida de especies de *Candida* a equinocandinas es típicamente mediada por mutaciones en los genes FKS que codifican para la subunidad mayor de la enzima blanco de estos antifúngicos (1,3- β -O glucan sintetasa). En hongos filamentosos como *Aspergillus*, la resistencia a azoles está primariamente asociada a mutaciones de gen Cyp51A, mientras que la resistencia a equinocandinas a mutaciones en el gen FKS1 (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002).

Antifúngico

El concepto de agente antifúngico o antimicótico engloba cualquier sustancia capaz de producir una alteración tal de las estructuras de una célula fúngica que consiga inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, directa o indirectamente (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002). La clasificación se realiza según criterios convencionales que atienden a su estructura en: polienos, azoles, alilaminas, entre otros. De acuerdo con su origen en sustancias producidas por organismos vivos o derivados de síntesis química; de acuerdo con su espectro de acción en: amplio o restringido y de acuerdo con el sitio de acción: en membrana celular, pared fúngica y ARN (Tabla 5) (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002).

Tabla 5. Clasificación de los antimicóticos según su mecanismo y espectro de acción.

Familia	Mecanismo	Espectro
Polienos	Union al ergosterol de membrana, formación de poros y alteración de la permeabilidad de la membrana, estrés oxidativo y muerte celular.	Amplio: <i>Candida</i> spp., <i>Cryptococcus</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp., dermatofitos <i>Sporothrix</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., hongos dimórficos.
Pirimidinas	Inhiben la síntesis de ácidos nucleicos.	Activo: frente a <i>Candida</i> spp. y <i>Cryptococcus</i> spp.
Quinocardinas	Bloqueo no competitivo de 1,3-β-Dglucano sintasa	Activo frente a <i>Candida</i> spp. y <i>Aspergillus</i> spp.
Azoles	Inhibición de la 14-α-demetilasa	Amplio: para levaduras
Alilaminas	Inhibición de la síntesis de escualeno	Activo: frente a Dermatófitos

Tomada y modificada de Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002.

Actividad antimicrobiana

Se refiere a la capacidad propia de una sustancia o compuesto químico de inhibir, e impedir el crecimiento y proliferación de una población de microorganismos (hongos y/o bacterias), con la finalidad de impedir su acción patógena. Se puede medir de forma cualitativo mediante pruebas *in vitro* (Cuenca y Ruiz, 2009).

Métodos usados para evaluar la actividad antimicrobiana

Existen diferentes métodos de laboratorio que pueden ser usados para determinar *in vitro* la susceptibilidad de bacterias y hongos 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 (Hacek, Dressel y Peterson, 1999).

Los ensayos de sensibilidad deben estar estandarizados y sujetos a procesos de control que aseguren su reproducibilidad. Los métodos para evaluar la actividad de extractos sobre bacterias y hongos suelen ser similares, variando la preparación del inóculo, medio de cultivo, temperatura y el tiempo de incubación (Cowan, 1999).

Método de difusión

La técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer en 1996, como método de *Kirby-Bauer*, el cual consiste en un método de difusión en disco o en pozo que fue estandarizado y es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS (1997), de Estados Unidos. El fundamento de esta determinación es establecer, en forma

cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos. 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 y sobre la cual se deposita un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro o se siembra un pozo con una cantidad conocida del antimicrobiano en estudio (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), la cual es definida como la concentración más baja de sustancia que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de incubar por 24 horas, y la (CMB) como la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento de un organismo después de subcultivar en un medio libre del compuesto evaluado, estas variables son una herramienta para investigar nuevos antimicrobianos (Ramírez y Marín, 2009).

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 de las microplacas y la CMI es determinada después de la incubación. Los métodos de microdilución en caldo son una técnica útil para determinar CMI, en un gran número de muestras. La ventaja sobre los métodos de difusión radica en un aumento de la sensibilidad para cantidades pequeñas, lo cual es importante cuando se trabaja con productos naturales, además permite diferenciar entre un efecto bactericida o bacteriostático (Ramírez y Marín, 2009).

En el método de dilución en agar, las cajas se siembran por profundidad con una determinada concentración de extracto vegetal, luego se inoculan con el microorganismo en estudio y se incuban por 24 horas, después de ésta, se examina si el microorganismo crece o no en cada una de las cajas, la principal desventaja es la cantidad necesaria de muestra a evaluar (Ramírez y Marín, 2009).

Definición Operacional de Términos

Cepa

En microbiología, es una población de microorganismos de una sola especie descendientes de una única célula o que provienen de una determinada muestra en particular, la que usualmente es propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias. De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especímenes bacterianos que comparten, al menos, una característica o variante genética (Tortora, Funke y Case, 2007).

Fitoquímicos

Los fitoquímicos, son elementos químicos obtenidos de plantas y que se han identificado como elementos activos para la prevención de enfermedades, puesto que estos elementos regulan los procesos corporales vitales para conservar la salud y ayudan a atacar las enfermedades (Gasaly, Riveros y Gotteland, 2020).

Etnobotánica

La etnobotánica es el campo científico que estudia las interrelaciones que se establecen entre el hombre y las plantas, a través del tiempo y en diferentes ambientes (Jones, 1941).

Agar

Es un polisacárido complejo proveniente de un alga marina que se utiliza como agente para producir la solidificación en los medios de cultivo (Tortora, Funke y Case, 2007).

Taxonomía

Este término se refiere a la ciencia de la clasificación que se aplica en la biología para la ordenación sistemática y jerarquizada de los grupos animales y vegetales (Villafañe, 1997).

Halo de inhibición

Zona alrededor de un disco de antibiótico o antifúngico, en el que no se produce crecimiento del microorganismos previamente inoculado en una placa de agar (Cercenado y Saveedra, 2009).

Operacionalización de las Variables

Las variables de un evento de estudio se operacionalizaron con la finalidad de identificar los elementos y datos empíricos que expresan su presencia (Hurtado, 2010).

En esta investigación se midieron las variables independientes y dependientes. Los indicadores derivaron de las bases teóricas. El proceso de operacionalización de las variables garantizó que los objetivos propuestos fueran alcanzados (Tabla 6 y 7).

Tabla 6. Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antimicrobiana de los extractos de los frutos de *Solanum mammosum*.

1.Variable	2.Tipo de variable	3.Definición Conceptual ¿Qué es?
Actividad antimicrobiana de los extractos de los frutos de <i>Solanum mammosum</i> .	Independiente Cuantitativa Discreta	Actividad antimicrobiana, es la propiedad de ciertas sustancias que forman un compuesto, o que se hallan en una muestra capaces de eliminar agentes bacterianos y/o fúngicos produciendo la inhibición de su crecimiento sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que las porta (Tortora, Funke y Case, 2007).
4.Definición operacional ¿Cómo se mide?	5.Dimensiones	6.Indicador
-Método de difusión en agar (Kirby-Bauer).	Cepas grampositivas: - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 - <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 Cepas gramnegativas: - <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 - <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357 Cepas de <i>Candida</i> : <i>Candida albicans</i> CDC B385 <i>Candida krusei</i> ATCC 6258	-Sensible -Sensibilidad intermedia -Resistente -Presencia o ausencia de halos de inhibición expresados en milímetros (mm) frente a cepas a ensayar.

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Tabla 7. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de los frutos de *Solanum mammosum*

1.Variable	2.Tipo de variable	3.Definición Conceptual ¿Qué es?
Composición química de los frutos de <i>Solanum mammosum</i> .	Independiente Cualitativa Discreta	Metabolito secundario: propio de una especie, se le conoce también como producto químico y que no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza (Marcano y Hasegawa, 2002).
4.Definición operacional ¿Cómo se mide?	5.Dimensiones	6.Indicador
Pruebas químicas cualitativas también conocidas como Tamizaje fitoquímico.	Para las pruebas químicas cualitativas puede haber presencia y ausencia de: Alcaloides. Esteroles/Triterpenos. Saponinas. Compuestos fenólicos simples. Taninos. Flavonoides. Quinonas y Antraquinonas. Glicosidos cardiotónicos. Cumarinas. Sesquiterpenlactonas.	Alcaloides: la aparición de turbidez o precipitados. Esteroles y/o triterpenos: coloración azul o verde para esteroides; coloración es rosa, rojo, magenta o violeta para triterpenos. Formación de abundante espuma, para saponinas . Compuestos fenólicos: coloración de azul a negro. Taninos: precipitado blanco. Flavonoides: coloración naranja a rojo, para flavonas; si es rojo flavonoles y magenta flavononas . antraquinonas y quinonas: una coloración roja. Glicosidos cardiotónicos: coloración púrpura o violácea. Cumarinas: La presencia de fluorescencia azul-violeta. Las coloraciones roja, violeta o rosa para sesquiterpenlactonas .

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

HIPÓTESIS

Estudios previos reportan que el género *Solanum* posee diversos metabolitos secundarios biológicamente activos por lo que es de esperar que los extractos de los frutos de *Solanum mammosum* presenten metabolitos secundarios similares y actividad antimicrobiana frente a diversas cepas de referencia internacional.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de Investigación

El objetivo de este estudio fue confirmar la relación entre la composición química y la actividad antimicrobiana de los frutos de *Solanum mammosum* en cepas de referencia internacional. De acuerdo con esto, la investigación fue de tipo confirmatoria, dado que se buscó la relación causa-efecto, respondiendo como causa la composición química del *Solanum mammosum* y como efecto la actividad antimicrobiana.

Diseño de Investigación

La presente investigación presentó un diseño de campo, debido a que los frutos del *S. mammosum* se recolectaron en el sector la recta de Pampanito II, en el Municipio Pampam del estado Trujillo. Además, fué una investigación de tipo experimental porque los frutos fueron trabajados en el Laboratorio de "Productos Naturales" del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes. De igual manera se correspondió con un diseño transeccional, en vista de que los datos se recolectaran en un momento único según la unidad de investigación.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

La población es definida por Hurtado (2010) “como el conjunto de elementos, seres o eventos concordantes entre sí en cuanto a una serie de características, de la cuales se desea obtener alguna información” En este caso, la unidad de investigación es la especie *Solanum mammosum*.

Selección del Tamaño de la Muestra

La “n” muestral está representada por 570 gramos de frutos de la especie en estudio *Solanum mammosum*. El tipo de muestra utilizada fue no probabilística, puesto que la elección de los elementos no dependió de la probabilidad, sino de causas relacionadas con las características de la investigación (Hernández, Fernandez y Baptista, 2010).

Sistema de variables

Las variables de esta investigación fueron sistematizadas en dependiente, la cual está representada por la actividad antimicrobiana y depende de los metabolitos secundarios presentes en los extractos obtenidos a partir de la especie en estudio; e independiente que corresponde a la composición química de los frutos del *Solanum mammosum*.

Instrumento de Recolección de Datos

La fase de recolección de datos consiste en la manera en que el investigador percibe y registra el fenómeno estudiado. En este sentido, para el

presente trabajo se empleó la observación estructurada, la cual es definida por Hurtado (2010) “como una técnica de recolección de datos que permite acumular y sistematizar información sobre un hecho o fenómeno social que tiene relación con el problema que motiva la investigación”. De acuerdo con esto, se registró en tablas y fotografías la presencia o ausencia de los diferentes fitocompuestos en los extractos de los frutos, así como también reportó la presencia de los halos de inhibición en las pruebas de actividad antimicrobiana, pudiendo clasificar a los microorganismos como sensibles, intermedios o resistentes.

Procedimientos de la Investigación

Es necesario que el investigador describa a detalle, cada uno de los pasos que se llevaron a cabo durante la investigación, esta descripción permite no solo verificar que el procedimiento utilizado cumplió con los requerimientos metodológicos del proceso de investigación, sino además hará posible que otros investigadores puedan apoyarse en la información para investigaciones similares en otros contextos (Esquema 1) (Hurtado, 2010). A continuación se describe el procedimiento mediante el cual se llevó a cabo la presente investigación:

Recolección de la muestra

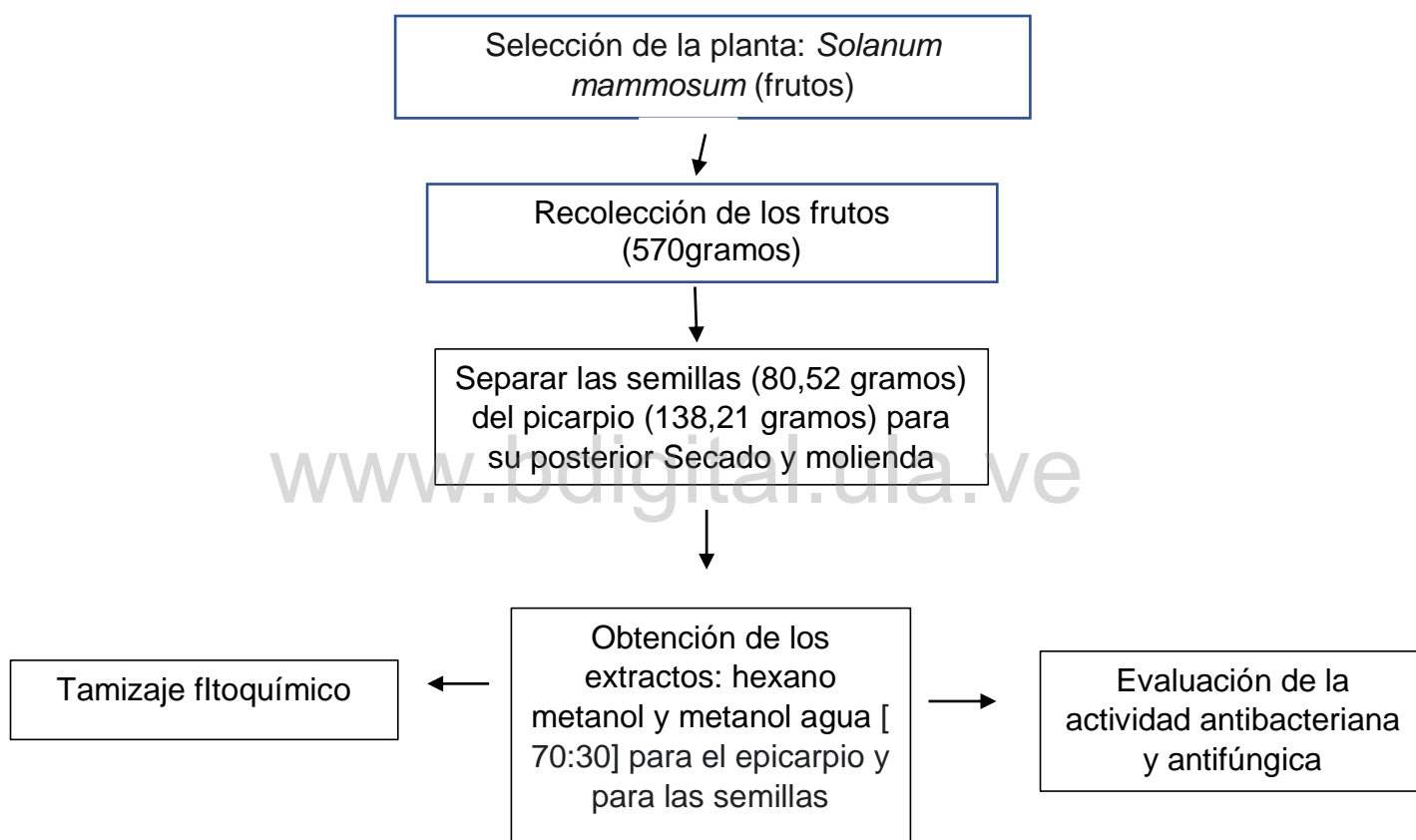
Los frutos de *Solanum mammosum* se recolectaron en el sector la Recta de Pampanito II, Municipio Pampan, Estado Trujillo.

Secado del material vegetal

Se procesó la semilla y el epicarpio del fruto de forma separada, se cortaron en trozos pequeños, para luego colocarlos en la estufa a 40 °C hasta completa

sequedad, posteriormente fueron molidos y se obtuvo 138,21 gramos de epicarpio y 80,52 gramos de semillas (Esquema 1).

Esquema 1. Procedimiento empleado para la separación e identificación de los componentes de los frutos de *Solanum mammosum*



Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Obtención de los extractos

Luego de la obtención de la planta, se llevó a cabo la preparación de los diferentes extractos orgánicos mediante la técnica de extracción por reflujo a una temperatura suave que oscila alrededor de los 40°C a 60°C.

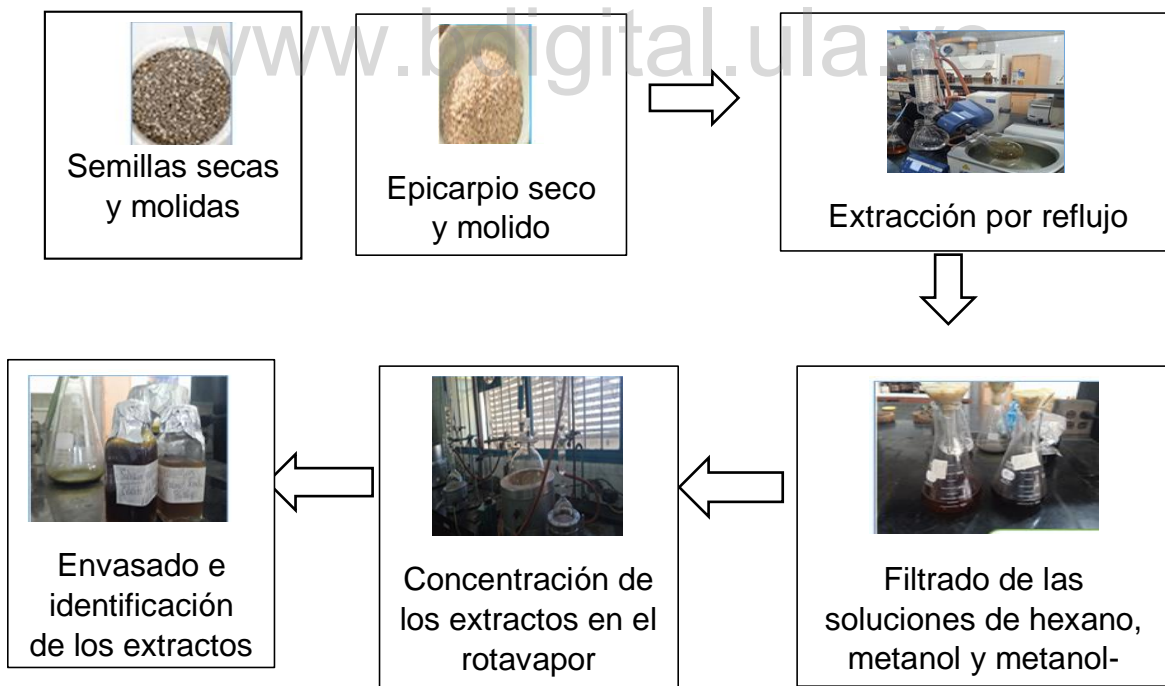
Preparación de los extractos de Hexano: se realizaron dos preparados de extractos de hexano, el primero fue realizado con las semillas de los frutos de *S. mammosum*, para lo cual se colocaron 50,52 gramos de las semillas previamente secadas y molidas, en un balón aforado con 500 mL de hexano destilado (solvente orgánico apolar), lo mismo se realizó con el segundo preparado para lo cual se utilizó 138,21 gramos de epicarpio. Cada preparación se llevó a cabo mediante la técnica de extracción por reflujo a una temperatura de 40 °C por 1 hora, usando como disolvente hexano, al tener cada extracto líquido se dejó enfriar y posteriormente se filtró en una fiola con la ayuda de un embudo cubierto con papel de filtro. Luego se colocó el balón en el rotavapor a 80 rpm y 50°C para recuperar el hexano, esto se produce a presión reducida, lo que permite que el punto de ebullición de los disolventes sea menor que a presión atmosférica, ocurre la evaporación de solventes seguida de una condensación de los vapores, donde el disolvente pasa de líquido a vapor y de nuevo a líquido. Lo que quedó en el balón concentrado en la primera preparación fue el extracto de hexano de las semillas de los frutos y en el segundo preparado quedó el extracto de epicarpio, cada preparación se trasvasó a un frasco de vidrio color ámbar previamente pesado, colocándolo en la estufa para dejarlo secar totalmente, obteniendo 3,82 gramos del extracto de hexano de semillas con un rendimiento de 4,75 % y 9,73 gramos de extracto de epicarpio con un rendimiento de 7,04 % (Esquema 2).

Preparación de los extractos de metanol: en la elaboración de estos extractos se trabajaron las semillas y epicarpio de los frutos también por separado, mezclamos cada material vegetal con 500 mL de etanol (solvente polar), realizando el calentamiento por 1 hora y filtración del extracto líquido de la misma manera que en el procedimiento anterior (hexano), obteniendo 2,61 gramos del extracto de metanol de semillas con un rendimiento de 3,24% y

7,75 gramos del extracto de metanol de epicarpio con un rendimiento de 5,6% (Esquema 2).

Preparación de los extractos de metanol-agua (70:30): para la preparación de estos extractos se utilizó una proporción 70% de metanol y 30% de agua. Se siguió la misma metodología que en la obtención de los extractos de hexano y metanol para finalmente obtener 7,36 gramos de extracto de metanol-agua (70:30) de semillas con un rendimiento de 5,41% y 20,06 gramos de extracto de metanol-agua de epicarpio con 14,51% de rendimiento.

Esquema 2. Procedimiento para la obtención de los extractos de hexano, metanol y metanol-agua (70:30) de los frutos de *Solanum mammosum*.



Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Identificación de los metabolitos secundarios

El Tamizaje Fitoquímico o “Screening” Fitoquímico, permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta, mediante reacciones de coloración y precipitación (Salazar y Jaime, 2011).

Determinación de alcaloides

En este ensayo se utilizaron los reactivos de: Dragendorff, Mayer y Wagner, en tres tubos se disolvió una porción de la muestra de los extractos en 2 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 10 %, se llevó a calentamiento en baño de María por quince minutos, se dejó enfriar y luego se filtró la muestra. Posteriormente se dividió el filtrado en 3 tubos de ensayo identificados para cada reactivo. Seguidamente se adicionaron a los respectivos tubo 2 a 3 gotas de sales de metales pesados como el ioduro de potasio (reactivo de Dragendorff), el ioduro de potasio y mercurio (reactivo de Mayer) y la sal del reactivo de Wagner. Se considera como positiva las pruebas que formen un precipitado naranja a rojo (Wagner), precipitado blanco a naranja (Mayer) y precipitado blanco a naranja (Dragendorff) (Ochoa y Sarmiento, 2018).

Determinación de triterpenos y esteroides

Se realizó mediante el ensayo de Liebermann Bouchard, en 2 tubos de ensayo se disolvió una porción de los extractos con diclorometano y se mezcló con 0,5 mL de anhídrido acético, se adicionó cuidadosamente por la pared de cada tubo 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Un ensayo positivo se tiene por un cambio de color: rosado-azul muy rápido; verde intenso, visible, aunque rápido; verde oscuro-negro al final de la reacción. A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado

tiene cantidades importantes de estos compuestos. Esta reacción también se emplea para diferenciar las estructuras esteroidales de las triterpénicas, las primeras producen coloraciones que van desde azul a azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura (Calvopiña, 2010).

Determinación de compuestos fenólicos

Se diluyó una pequeña cantidad de los extractos en agua y se agregaron unas gotas de solución de cloruro férrico al 5 % (FeCl_3), la coloración verde-negra indica la positividad de la prueba en el extracto de etanol (García, Cruz, Alarcón, Nieto y Gallegos, 2019).

Determinación de saponinas

En el tubo de ensayo se colocó una porción de los extractos y 1-2 mL de agua, agitándose vigorosamente por 1 minuto para observar la altura de la espuma. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido, si es < 5 mm indica que la prueba es negativa, si es de 5-10 mm se considera positiva, > 15 mm indica un alto contenido de saponinas (García, Cruz, Alarcón Nieto y Gallegos, 2019).

Determinación de taninos

En un tubo de ensayo se colocaron de 1-2 mg de los extractos y se disolvieron con 3 mL de agua, luego se adicionaron 2 mL de solución de gelatina al 1 %; la formación de un precipitado blanco indica la presencia de taninos (García, Cruz, Alarcón Nieto y Gallegos, 2019).

Determinación de flavonoides

• **Reacción de Shinoda:** se disolvieron 2 mL de los extractos de metanol y metanol-agua (70:30), se colocaron trozos de magnesio metálico

cuidadosamente y posteriormente se adicionaron 2 gotas de HCl concentrado por las paredes del tubo,; la formación de una coloración naranja a rojo indica la presencia de flavonas, si es rojo flavonoles y si es magenta flavononas (García, Cruz, Alarcón Nieto y Gallegos, 2019).

• **Hidróxido de sodio al 10 %:** se adicionaron 0,5 mL de NaOH; la formación de una coloración de amarillo a rojo indica la presencia de xantonas y flavonas, de café a naranja flavonoles; de purpura a rojizo chalconas y azul de antocianidas. En el ensayo se observó una coloración de naranja a café en el tubo con los extracto de metanol y metanol-agua (70:30) (García, Cruz, Alarcón Nieto y Gallegos, 2019).

Determinación de cumarinas

Se disolvió una alícuota de los extractos en 1 mL de etanol y se agregaron dos gotas de hidróxido de amonio concentrado, luego se observaron en cámara de luz ultravioleta a 365 nm; es positiva la prueba cuando presenta una fluorescencia azul-violeta y la ausencia de la misma indica la negatividad (Marcano y Hasegawa, 2002).

Determinación de antraquinonas

Se disolvió 1-2 mg de los extractos en 3 mL de etanol, se adicionó una gota de hidróxido de amonio concentrado, la ausencia de una coloración roja indica la negatividad de la prueba (Marcano y Hasegawa, 2002).

Determinación de quinonas/antraquinonas

Se colocó de 1-2 mg de los extractos vegetales en una cápsula de porcelana, se agregó 1 gota de ácido sulfúrico concentrado a la porción de los extractos. La ausencia de una coloración roja indica la positividad para quinonas (Marcano y Hasegawa, 2002).

Determinación de lactonas sesquiterpénicas

Se agregó una porción del extracto a un tubo de ensayo, se disolvió una porción del extracto en etanol, luego se adicionó una gota de hidróxido de potasio 2 N en metanol. Se calentó la mezcla a ebullición de 1 a 2 minutos, se dejó enfriar y se llevó a pH de 1 con ácido clorhídrico 0,5 N. Se adicionó una gota de cloruro férrico al 1 %. Las coloraciones roja, violeta o rosa indican que la prueba es positiva para este metabolito (García, Cruz, Alarcón Nieto y Gallegos, 2019).

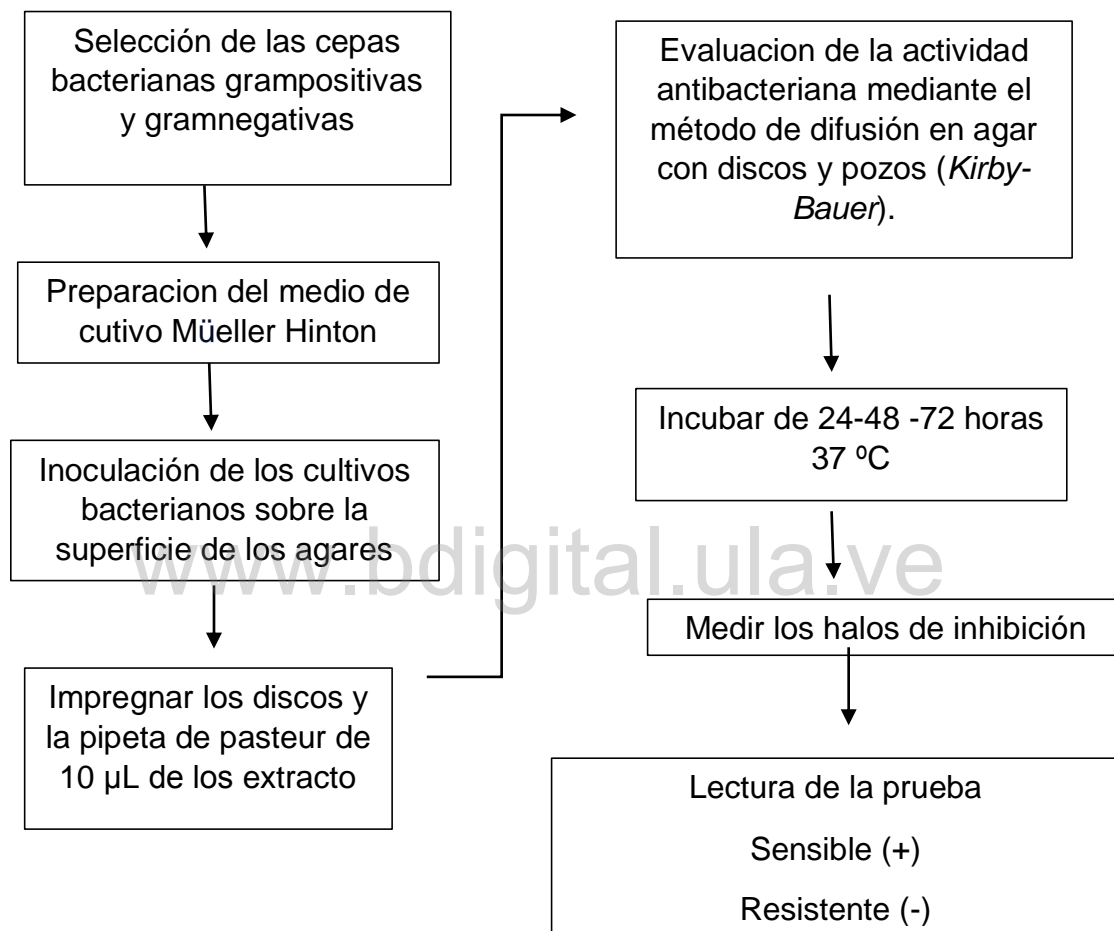
Determinación de glucósidos cardiotónicos

Este ensayo permite reconocer la presencia de glucósidos cardiotónicos. Se mezcló una alícuota de los extracto con 1 mL del reactivo de Keller-killani, dejando reposar de 5 a 10 minutos. La positividad de la prueba indica la presencia de una coloración violácea (García, Cruz, Alarcón Nieto y Gallegos, 2019).

Determinación de la Actividad Antibacteriana por el Método de Difusión en Agar con Discos y con Pozos (*Kirby-Bauer*)

La determinación de la actividad antibacteriana, se realizó por el método de difusión en agar con discos y pozos (*Kirby-Bauer*), originalmente descrito por Bauer, Kirby, Sherris y Turck (1966), bajo la asesoría de las Profesoras Yndra Cordero e Ysbelia Obregón, y el auxiliar de Laboratorio TSU. José Emilio Salazar, en el Laboratorio de Actinomicetos, adscrito al IIFFB (Esquema 3).

Esquema 3. Procedimiento para determinar la actividad antibacteriana de los extractos de los frutos de *Solanum mammosum* por los método de difusión en agar con discos y con pozos (*Kirby-Bauer*)



Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Bacterias Estudiadas

Para este estudio se seleccionaron cinco especies de bacterias: dos especies grampositivas y tres gramnegativas, de referencia internacional de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC por sus siglas en inglés), las cuales fueron obtenidas del cepario del Laboratorio de Microbiología, de la

Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes (ULA), a cargo de la Licenciada Yacneli Infante (Tabla 8).

Tabla 8. Cepas de referencia internacional de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC)

Bacterias Gram positivas (ATCC)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
Bacterias Gram negativas (ATCC)	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 23357
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853

Fuente: Cordero y Obregón, 2024.

Preparación de las muestras

Se pesó 10 mg de los extracto y se disolvió en 1 mL de dimetilsulfoxido (DMSO) para obtener una solución de una concentración de 10000 ppm (10 mg/mL).

Preparación de los discos

Se utilizaron discos de papel filtro Whatmann N° 1 de 6 mm de diámetro, los cuales se esterilizaron bajo luz ultravioleta (LUV), por 24 horas. Posteriormente se impregnaron con 10 µL de los extractos en estudio, Dimetilsulfóxido (DMSO como control negativo), se usaron discos de antibióticos comerciales como controles positivos con el fin de medir la sensibilidad de los microorganismos a estudiar. En este caso se utilizó Ampicilina® 10 µg, Eritromicina® 15 µg y Piperacilina® 100 µg

Preparación de los inóculos bacterianos

El inóculo bacteriano se preparó con la ayuda de un asa estéril, tomándose de esta manera, una pequeña cantidad de colonias, a partir de un cultivo fresco y purificado de cada cepa bacteriana repicada en agar Müeller-Hinton, para luego ser suspendidas en tubos, previamente estériles, que contienen 5 mL de una solución salina fisiológica estéril de Cloruro de Sodio (NaCl) al 0,85 %, hasta que alcance una turbidez equivalente al patrón de Mac Farlán Nº 0,5 (10^{6-8} UFC/mL).

Inoculación de las placas y determinación de la actividad antibacteriana

Se realizó la inoculación de las placas de agar Müeller-Hinton, tomando un inóculo de cada bacteria con un hisopo estéril impregnado por la placa, rotando la misma sin dejar ningún espacio libre, hasta lograr una siembra uniforme, se dejó secar. Luego se procedió a desarrollar la actividad mediante el método de difusión en discos, para lo cual se colocaron en forma equidistante los discos de papel, los cuales fueron impregnados con 10 µL de la solución en estudio, de igual forma se realizó la actividad mediante el método de difusión en pozo pero utilizando una pipeta de pasteur para abrir los pozos en el agar de forma uniforme de un diámetro de 6 mm y así garantizar que se utilicen 10 µL del extracto, adicionalmente se colocaron los respectivos controles tanto positivo (Ampicilina®, Eritomicina® y Piperacilina®) como negativo (dimetilsulfóxido). Las placas se dejaron en la nevera a 4 °C aproximadamente durante 30 minutos (pre-incubación) luego se llevaron las placas de petri a la estufa durante 24 horas a 37 °C en posición invertida, en atmósfera aeróbica

Lectura de las placas

Luego de ser incubadas cada una de las placas, por un lapso de tiempo de 24 horas, se realizó la lectura de las mismas con una regla milimétrica. donde se consideró un resultado positivo o sensible (presencia de actividad

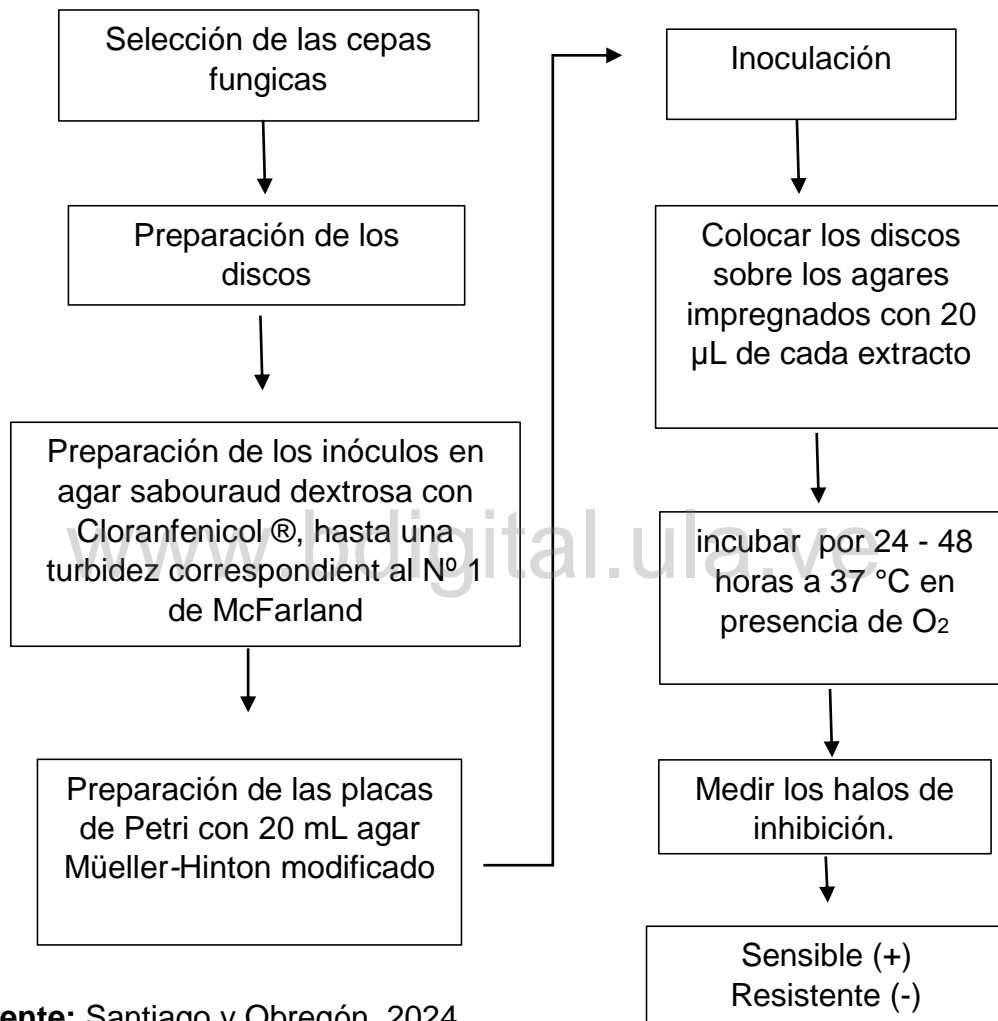
antibacteriana) cuando se observó un halo de inhibición alrededor del disco y de los pozos, y se tomó como resultado negativo o resistente (sin actividad antibacteriana) la ausencia de dicho halo. El diámetro de la zona de inhibición producto de la actividad antibacteriana de las muestras en estudio se expresó en milímetros (mm).

Determinación de la Actividad Antifúngica por el Método de Difusión en agar con Disco (*Kirby-Bauer*)

La investigación se realizó por el método de difusión en agar con discos frente cepas de referencia internacional. En el laboratorio de Micología “Dr Corrado Capretti” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la asesoría de los Profesores Clara Díaz, Alexander Moreno y el Auxiliar de Laboratorio Emilio Salazar (Esquema 4).

www.bdigital.ula.ve

Esquema 4. Procedimiento para determinar la actividad antifúngica de los extractos de los frutos de *Solanum mammosum* por el método de difusión en agar con disco (*Kirby-Bauer*).



Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Cepas de referencia internacional Fúngicas

Candida albicans (CDC B-385) y *Candida krusei* (ATCC 6258).

Preparación de la muestra

Se pesó 10 mg de los extracto y se disolvió en 1 mL de dimetilsulfoxido (DMSO) para obtener una solución de una concentración de 10000 ppm (10 mg/mL).

Preparación de los discos

Los discos de papel de filtro de 2 mm de grosor por 6 mm de diámetro se organizaron en placas de Petri y se esterilizaron bajo luz ultravioleta (LUV), durante 90 minutos previos al ensayo. Posteriormente se impregnaron con 20 µL del extracto puro minutos antes del ensayo.

Preparación de los Inóculos fúngicos

Los inóculos se prepararon a partir de un cultivo fresco, en agar sabouraud dextrosa con Cloranfenicol®, hasta que se logró una turbidez correspondiente para las levaduras del patrón de McFarland N° 1 (3×10^8 UFC/mL, UFC: unidades formadoras de colonias) (Narváez, Gómez, Martínez, 2008).

Preparación de las placas de Petri e inoculación

Se agregaron 20 mL agar Mueller-Hinton modificado (HIMEDIA®) suplementado con 2 % p/v de glucosa y azul de metileno (0,05 µg/mL), se mezclaron y se dejaron solidificar 15 min a temperatura ambiente, y se les añadió el inóculo preparado anteriormente de cada cepa fúngica de referencia, luego se le colocaron en la superficie del agar los discos impregnados con el extracto (20 µL) y los antifúngicos de referencia como controles positivos y Dimetilsulfóxido (DMSO) como control negativo.

Lectura de placas

El agar Müller-Hinton modificado previamente inoculado se incubó en una estufa por 24 - 48 horas a 37 °C en presencia de oxígeno. Posteriormente, se procedió a la medición de los halos de inhibición alrededor de los discos, expresando los datos en mm.

Diseño de Análisis

Los enfoques que se utilizaron para el análisis de los datos fueron cuantitativos y cualitativos. El enfoque cuantitativo fue utilizado en la recolección y el análisis de datos para contestar preguntas de investigación y probar hipótesis establecidas previamente; en éste estudio, los datos de esta naturaleza estuvieron dados por la actividad antibacteriana y antifúngica mediante la medición de la ausencia y presencia de los halos de inhibición. Por otro lado, el enfoque cualitativo estuvo basado en métodos de recolección de datos sin medición numéricas, utilizando las descripciones y observaciones, este enfoque estuvo dado por el ensayo fitoquímico y sus diferentes pruebas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

Se recolectaron 570 gramos de frutos de *Solanum mammosum*, los cuales fueron sometidos a secado y molienda, obteniéndose un peso de 138,21 gramos de epicarpio y 80,52 gramos de semillas, este material vegetal se llevó a extracción por reflujo, con disolventes de distintas polaridades para obtener tres extractos de las semillas: hexano (3,82 gramos), metanol (2,61 gramos) y metanol-agua (70:30) (4,36 gramos). Y tres extractos del epicarpio: hexano (9,73 gramos) metanol (7,75 gramos) y metanol-agua (70:30) (20,6 gramos). Posteriormente, se calculó el porcentaje de rendimiento de cada uno de los extractos (Tabla 9).

Tabla 9. Porcentaje de rendimiento de los extractos vegetales de los frutos de *Solanum mammosum*.

Parte de la planta	Peso (g)	Extractos	Peso del extracto (g)	Rendimiento de los extractos (%)
Semillas secas y molida	80,52	Hexano	3,83	4,75
		Metanol	2,61	3,24
		Metanol-agua (70:30)	4,36	5,41
Epicarpio seco y molido	138,21	Hexano	9,73	7,04
		Metanol	7,75	5,6
		Metanol-agua (70:30)	20,06	14,51

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Estudio fitoquímico preliminar

Los seis extractos obtenidos a partir de los frutos de *Solanum mammosum*, fueron sometidos a las distintas pruebas químicas preestablecidas para conocer los grupos de metabolitos secundarios presentes en las muestras; siendo de forma cualitativa la revelación de cada uno de los componentes por fenómenos químicos de reacción como: viraje de color, precipitados, turbidez del medio y fluorescencia por exposición a la luz UV; logrando determinar en los extractos de semillas de los frutos de *S. mammosum* la presencia de alcaloides, triterpenos y esteroides, flavonoides, lactonas, quinonas y glucósidos cardiotónicos así como también la ausencia de compuestos fenólicos, saponinas, taninos, cumarinas y antraquinonas. Del mismo modo se analizaron los extractos del epicarpio de los frutos y se comprobó la presencia

de alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides con la ausencia de los demás metabolitos estudiados (Tabla 10)

Tabla 10. Resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum*.

	Semillas			Epicarpio		
Pruebas Químicas	ESHe	ESMe	ESMeA (70:30)	EEHe	EEMe	EEMeA (70:30)
Alcaloides						
Dragendorff	ND	+	+	ND	+	+
Mayer	ND	+	+	ND	+	+
Wagner	ND	-	-	ND	-	-
Triterpenos/esteroides	++	+	-	++	-	-
Liebermann/Bauchard's	V	V/R	-	V/R	-	-
Compuestos fenólicos	ND	-	-	ND	++	++
Saponinas	ND	-	-	ND	-	+
Taninos	-	-	-	-	-	-

Leyenda: Negativo: (-), Positivo: (+), Moderado: (++) , No determinado: (N/D), Extracto de semillas de hexano: (ESHe), Extracto de las semilla de metanol: (ESMe), Extracto de las semilla metanol-agua(70:30): (ESMeA(70:30)). Extracto del epicarpio de hexano: (EEHe), Extracto del epicarpio de metanol: (EEMe). Extracto del epicarpio metanol-agua (70:30): (EEMeA (70:30)) Verde/Rojo: (V/R)

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Tabla 11. Resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas del fruto de *Solanum mammosum* (continuación).

	Semillas			Epicarpio		
Pruebas Químicas	ESHe	ESMe	ESMeA (70:30)	EEHe	EEMe	EEMeA (70:30)
Flavonoides						
Shinoda	-	-	-	-	++	++
NaOH 10 %	-	++	++	-	++	++
Cumarinas	ND	-	-	ND	-	-
Antraquinonas	ND	-	-	ND	-	-
Lactonas sesquiterpénicas	+	+	+	+	-	-
Quinonas	+	+	-	-	-	-
Glucósidos cardiotónicos	ND	-	+	ND	-	-

Leyenda: Negativo: (-), Positivo: (+), Moderado: (++), No determinado: (N/D), Extracto de las semillas de hexano: (ESHe), Extracto de las semilla de metanol: (ESMe), Extracto de las semilla metanol-agua (70:30): (ESMeA (70:30)). Extracto del epicarpio de hexano: (EEHe), Extracto de epicarpio de metanol: (EEMe). Extracto de epicarpio metanol-agua (70:30): (ESMeA (70:30)).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.


Tabla 11. Reporte de resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y del epicarpio de los fruto de *Solanum mammosum*.

PRUEBA	REPORTE
	
<p>Pruebas: Dragendorff, Mayer y Wagner.</p> <p>Metabolitos determinados: Alcaloides.</p> <p>Reporte: Positivo para D2, D3, D5, D6, M2, M3, M5 y M6. Negativos para W2, W3, W5 y W6.</p>	

Leyenda: prueba de Dragendorff: extracto de lassemilla metanol: **(D2)**, extracto de las semilla metanol-agua: **(D3)**, extracto del epicarpio metanol: **(D5)**, extracto del epicarepio metanol-agua (70:30): **(D6)**. **Prueba de Mayer:** extracto de las semilla metanol: **(M2)**, extracto de las semilla metanol-agua (70:30): **(M3)**, extracto del epicarpio metanol: **(M5)**, extracto del epicarepio metanol-agua: **(M6)**. **Prueba de Wagner:** extracto de las semilla metanol: **(W2)**, extracto de las semilla metanol-agua (70:30): **(W3)**, extracto del epicarpio metanol: **(W5)**, extracto del epicarepio metanol-agua (70:30): **(W6)**.

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Tabla 11. Reporte de resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum*. **(Continuación).**

PRUEBA	REPORTE
	<p>Prueba: Lieberman-Burchard. Metabolito determinado: Triterpenos/Esteroles</p> <p>Reporte: positivo para Esteroles (ESHe), positivo para triterpenos y esteroides (ESMe y EEHe), Negativo para Triterpenos y Esteroides (ESMeA, EEme y EEmeA).</p>

Leyenda: Extracto de las semilla de hexano: (**ESHe**), Extracto de las semilla de metanol: (**ESMe**), Extracto del epicarpio de hexano: (**EEHe**), Extracto del epicarpio de metanol: (**EEMe**), Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30): (**EEmeA (70:30)**), Extracto de las semilla de metanol-agua (70:30): (**ESMeA (70:30)**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Tabla 11. Reporte de resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y del epicarpio de los fruto de *Solanum mammosum*. **(Continuación).**

PRUEBA	REPORTE
	<p>Prueba: FeCl₃</p> <p>Metabolito determinado:</p> <p>Compuestos fenólicos.</p> <p>Reporte: moderado para todos los extractos.</p>
	<p>Prueba: Espuma</p> <p>Metabolito determinado:</p> <p>Saponinas</p> <p>Reporte: negativo para todos los extractos.</p>

Leyenda: Extracto de semilla de metanol: **(ESMe)**, Extracto de semilla de metanol-agua (70:30):**(ESMeA)**. Extracto de epicarpio de metanol: **(EMe)**, Extracto de epicarpio de metanol-agua (70:30): **(EMeA)**.

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Tabla 11. Reporte de resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y epicarpio de los fruto de *Solanum mammosum*. **(Continuación).**

PRUEBA	REPORTE
	<p>Prueba: Gelatina.</p> <p>Metabolito determinado:</p> <p>Taninos.</p> <p>Reporte: negativo para todos los extractos.</p>
	<p>Prueba: Shinoda</p> <p>Metabolito determinado:</p> <p>Flavonoides</p> <p>Reporte:.</p>

Leyenda: Negativo para los extractos: **(ESHe, ESMa, ESMaA y EEHe)** Moderado para los demás extractos

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.


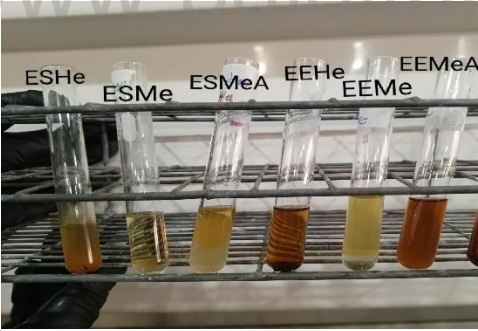
Tabla 11. Reporte de resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y del epicarpio de los fruto de *Solanum mammosum* **(Continuación).**

PRUEBA	REPORTE
	<p>Prueba: NaOH 10%</p> <p>Metabolito determinado:</p> <p>Flavonoides</p> <p>Reporte: negativo para ESHe, EEHe y moderado para los demás extractos.</p>
	<p>Prueba: fluorescencia UV</p> <p>Metabolito determinado:</p> <p>Cumarinas</p> <p>Reporte: negativo para todos los extractos.</p>

Leyenda: Extracto de las semilla de hexano: **(ESHe)**, Extracto de las semilla de metanol: **(ESMe)**, Extracto de las semilla de metanol-agua (70:30): **(ESMeA)**, Extracto del epicarpio de hexano: **(EEHe)**, Extracto del epicarpio de metanol: **(EEMe)**, Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30): **(EEMeA)**.

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.


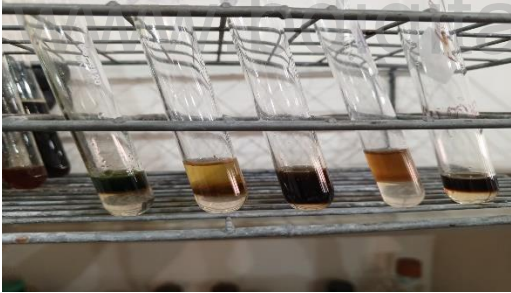
Tabla 11. Reporte de resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y del epicarpio de los fruto de *Solanum mammosum* **(Continuación).**

PRUEBA	REPORTE
	<p>Prueba: NH₄OH []</p> <p>Metabolito determinado: Antraquinonas.</p> <p>Reporte: negativo para todos los extractos</p>
	<p>Metabolito determinado: Lactonas sesquiterpénicas</p> <p>Reporte: positivo para ESHe, ESMe, ESMeA y EEHe. negativo para los demás extractos.</p>

Leyenda: Extracto de las semilla de hexano: **(ESHe)**, Extracto de las semilla de metanol: **(ESMe)**, Extracto de las semilla de metanol-agua (70:30): **(ESMeA)**, Extracto del epicarpio de hexano: **(EEHe)**, Extracto del epicarpio de metanol: **(EEMe)**, Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30): **(EEMeA)**.

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Tabla 11. Reporte de resultados ilustrados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos obtenidos de las semillas y del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum* **(Continuación).**

PRUEBA	REPORTE
	<p>Prueba: H₂SO₄</p> <p>Metabolito determinado: Quinonas</p> <p>Reporte: Positivo para (ESHe, ESMe) negativo para los demás extractos.</p>
	<p>Prueba: Test Keller-Killani</p> <p>Metabolito determinado: Glucósidos cardiotónicos</p> <p>Reporte: negativo para todos los extractos.</p>

Leyenda: Extracto de las semilla de hexano: **(ESHe)**, Extracto de las semilla de metanol: **(ESMe)**, Extracto de las semilla de metanol-agua (70:30): **(ESMeA)**, Extracto del epicarpio de hexano: **(EEHe)**, Extracto del epicarpio de metanol: **(EEMe)**, Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30): **(EEMeA)**,

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Evaluación de la Actividad Antibacteriana

Se determinó a través del método de difusión en agar con disco (*Kirby-Bauer*), en los extractos de hexano, metanol y metanol-agua (70:30), de las semillas y epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum*, a una concentración de 10 mg/mL, frente a las diferentes cepas bacterianas ATCC: dos especies grampositivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), y tres especies gramnegativas (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

Los resultados de la actividad antibacteriana con el método de difusión en agar con discos demostraron que los extractos de semillas y epicarpio de los frutos no fueron efectivos frente a microorganismos grampositivos, a excepción del extracto de metanol-agua (70:30) de semillas que demostró actividad frente a *Enterococcus faecalis* (7 mm). Los demás extractos tanto de semillas como epicarpio, demostraron efectividad en casi todos los microorganismos gramnegativos con halos de inhibición de 7 mm (Tablas 12 y 13)

De igual manera se evaluó la actividad antibacteriana, con el método de difusión en agar con pozos, y se demostró mayor actividad en los extractos ensayados, en comparación con el método de difusión en agar con discos, especialmente con los extractos de metanol de semilla y epicarpio frente a *Klebsiella pneumoniae* donde se alcanzaron halos de inhibición de 24 mm y 25 mm respectivamente, y frente a *Staphylococcus aureus* que presentó con el extracto de semillas de hexano un halo 14 mm y con los demás extractos halos entre 7-8 mm (Tabla 14 y 15).

Tabla 12. Resultados obtenidos para la determinación de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con discos y con pozo de los extractos de las semilla de los frutos de *Solanum mammosum*.

	Halos de inhibición en milímetros (mm)									
	Bacterias Gram positivas				Bacterias Gram negativas					
Muestras ensayadas 10mg/MI	S. aureus ATCC 25923		E. faecalis ATCC 29212		E. coli ATCC 25922		P. aeruginosa ATCC 27853		K. pneumoniae ATCC 23357	
Método de difusión	Disco	Pozo	Disco	Pozo	Disco	Pozo	Disco	Pozo	Disco	Pozo
ESHe	-	14	-	-	-	-	7	7	7	9
ESMe	-	7	-	-	-	7	7	7	-	24
ESMeA (70:30)	-	7	-	-	7	8	7	7	7	-
DMSO (C-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexano (C-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eritromicina ® (15 µg)	32		-		-		-			
Ampicilina ® (10 µg)	-		32		-		-		-	
Piperacilina ® (100 µg)	-		-		27		27		27	
Leyenda: Extracto de las semillas de hexano: (ESHe), Extracto de las semilla de metanol: (ESMe), Extracto de las semilla de metanol-agua (70:30): (ESMeA), milímetros: (mm), Dimetilsulfóxido: (DMSO), Control negativo: (C-) y hexano: (C-)										

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

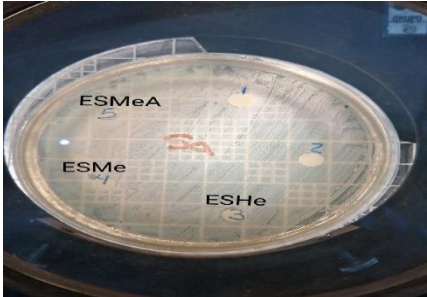
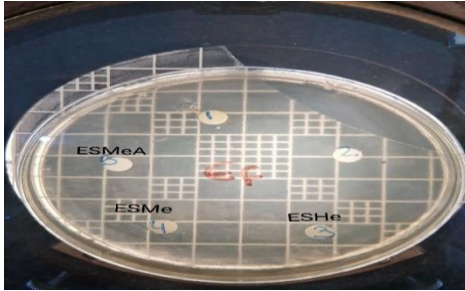
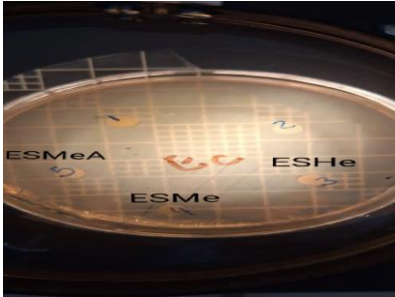
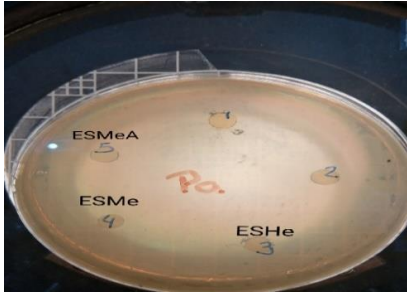
Tabla 13. Resultados obtenidos para la determinación de la actividad antibacteriana por el método de difusión con discos y con pozos de los extractos del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum*.

	Halos de inhibición en milímetros (mm)									
	Bacterias Gram positivas				Bacterias Gram negativas					
Muestras ensayadas 10mg/mL	<i>S. aureus</i> ATCC 25923		<i>E. faecalis</i> ATCC 29212		<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853		<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357	
Método de difusión	Disco	Pozo	Disco	Pozo	Disco	Pozo	Disco	Pozo	Disco	Pozo
ESHe	-	8	-	-	7	8	-	7	7	7
ESMe	-	7	-	-	7	9	--	7	7	25
ESMeA (70:30)	-	7	7	-	8	9	7	7	7	10
DMSO (C-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexano (C-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eritromicina ® (15 µg)	32		-		-		-		-	
Ampicilina ® (10 µg)	-		32		-		-		-	
Piperacilina ® (100 µg)	-		-		27		27		27	

Leyenda: Extracto de las semillas de hexano: **(ESHe)**, Extracto de las semilla de metanol: **(ESMe)**, Extracto de las semilla de metanol-agua (70:30): **(ESMeA)**, milímetros: **(mm)**, Dimetilsulfóxido: **(DMSO)**, Control negativo: **(C-)** y hexano: **(C-)**

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

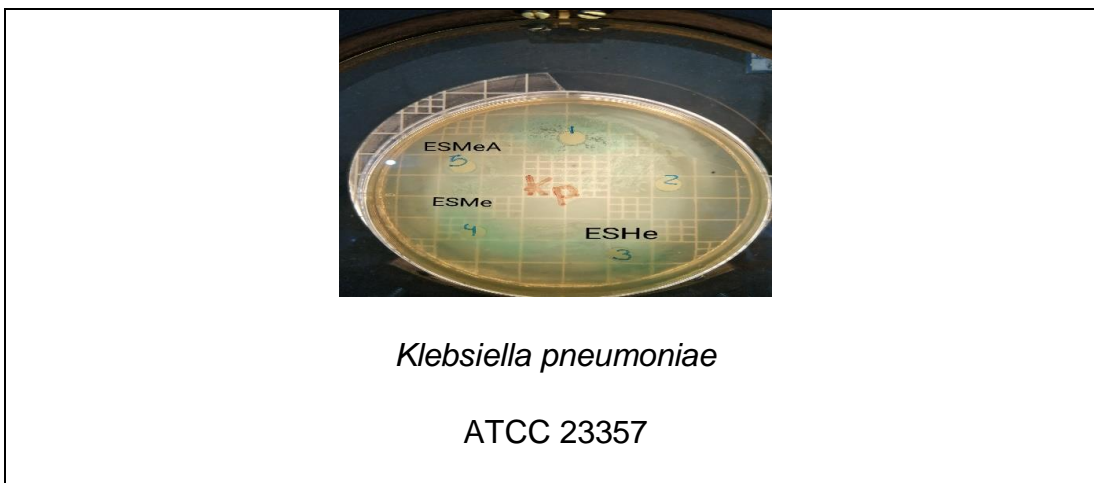
Tabla 14. Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en disco de los extractos de las semillas de los frutos de *Solanum mammosum*.

Prueba: difusión en disco en agar (Kirby-Bauer)	
 <p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</p>	 <p><i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 2921</p>
 <p><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>	 <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.</p>

Leyenda: Discos N° 3: Extracto de las semilla de hexano (**ESHe**), Disco N° 4 Extracto de las semilla de metanol (**ESMe**), Disco N° 5: Extracto de las semillas de metanol-agua (70:30) (**ESMeA**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

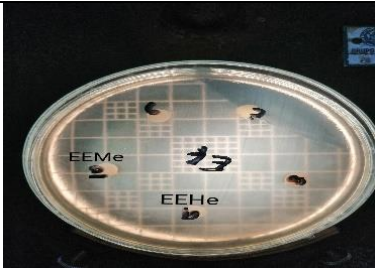
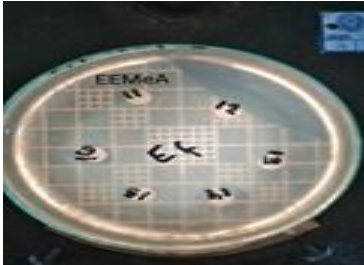
Tabla 14. Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con disco de los extractos de las semillas de los frutos de *Solanum mammosum* (**continuación**).



Leyenda: Disco N° 3: Extracto de las semillas de hexano (**ESHe**), Disco N° 4: Extracto de las semilla de metanol (**ESMe**), Disco N° 5: Extracto de las semilla de metanol-agua (70:30) (**ESMeA**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Tabla 15. Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con disco de los extractos del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum*.

Prueba: difusión en en agar con discos (Kirby-Bauer)	
<div>   </div> <div> <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 </div>	
<div>   </div> <div> <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 </div>	

Leyenda: Disco N° 9: Extracto del epicarpio de hexano (**EEHe**), Disco N° 10: Extracto del epicarpio de metanol (**EEMe**), Disco N° 11: Extracto del epicarpio de metanol-agua [70:30] (**ESMeA**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

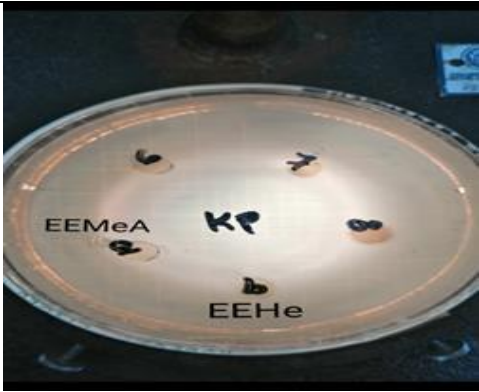
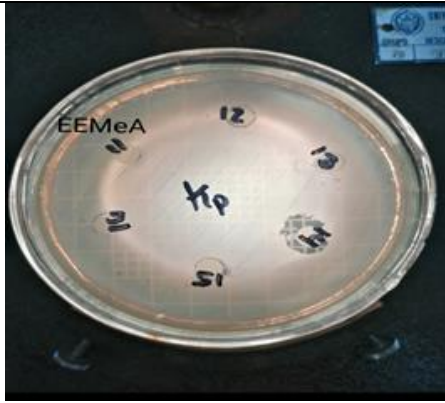
Tabla 15. Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con disco de los extractos del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum* **(continuación).**

Prueba: difusión en disco en agar (Kirby-Bauer)	
<div>   </div> <div> <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 </div>	
<div>   </div> <div> <i>Pseudomonas aeruginosas</i> ATCC 27853. </div>	

Leyenda: Disco N° 9: Extracto del epicarpio de hexano (**EEHe**), Disco N° 10: Extracto de epicarpio de metanol (**EEMe**), Disco N° 11: Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30) (**ESMeA**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

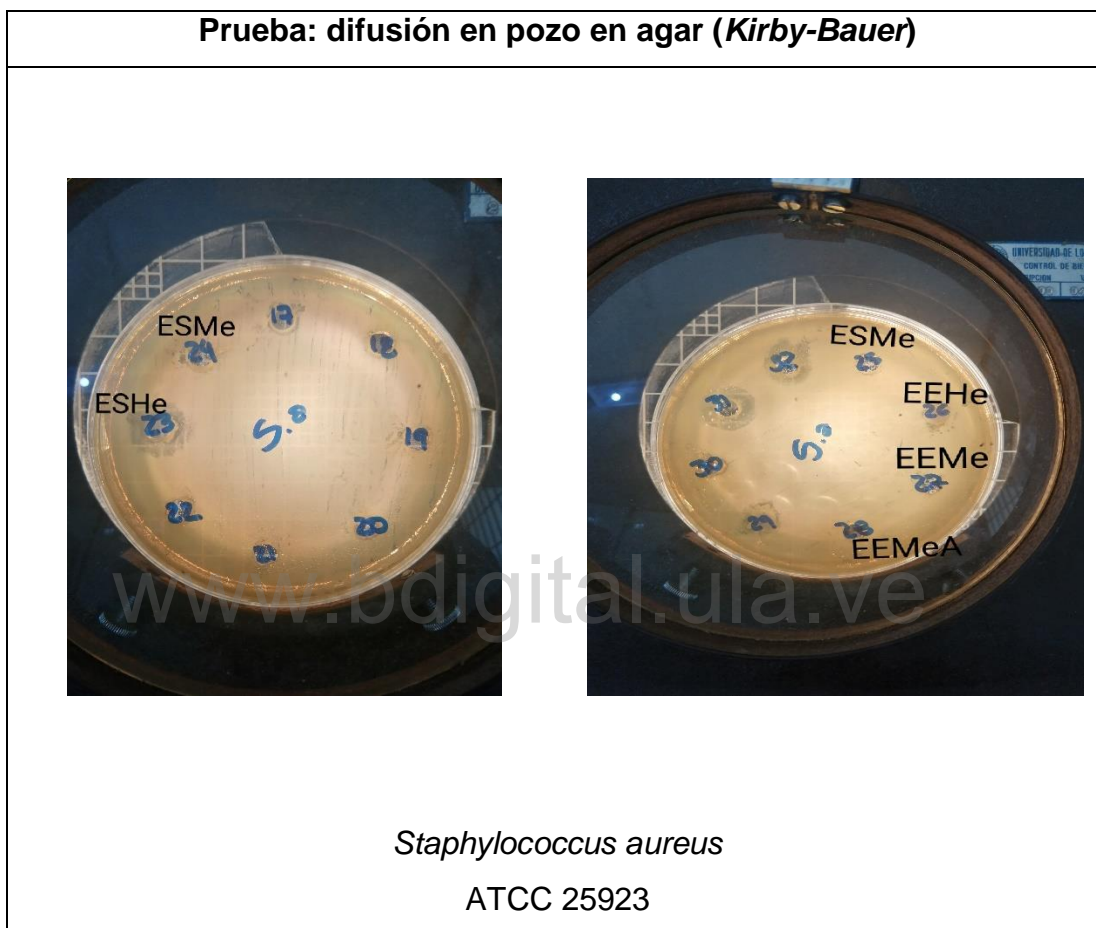
Tabla 15. Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con discos de los extractos del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum* (continuación).

	
<div> <div>Klebsiella pneumoniae</div> <div>ATCC 23357</div> <div>www.bdigital.ula.ve</div> </div>	

Leyenda: Disco N° 9: Extracto del epicarpio de hexano (**EEHe**), Disco N° 10: Extracto del epicarpio de metanol (**EEMe**), Disco N° 11: Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30) (**EEMeA**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

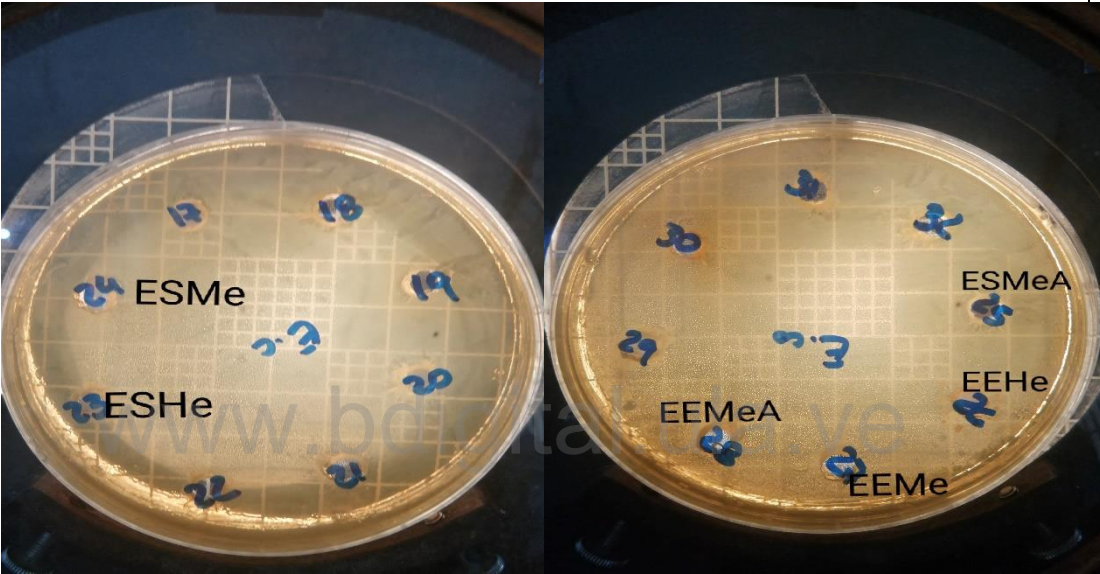
Tabla 16. Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión agar con pozo de los extractos de las semillas y del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum*.



Leyenda: Pozo N° 23 Extracto de las semillas de hexano (**ESHe**), Pozo N° 24: Extracto de las semillas de metanol (**ESMe**), Pozo N° 25: Extracto de las semillas de metanol-agua (70:30) (**ESMeA**), Pozo N° 26: Extracto del epicarpio de hexano (**EEHe**), Pozo N° 27: Extracto del epicarpio de metanol (**EEMe**), Pozo N° 28: Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30): (**EEMeA**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

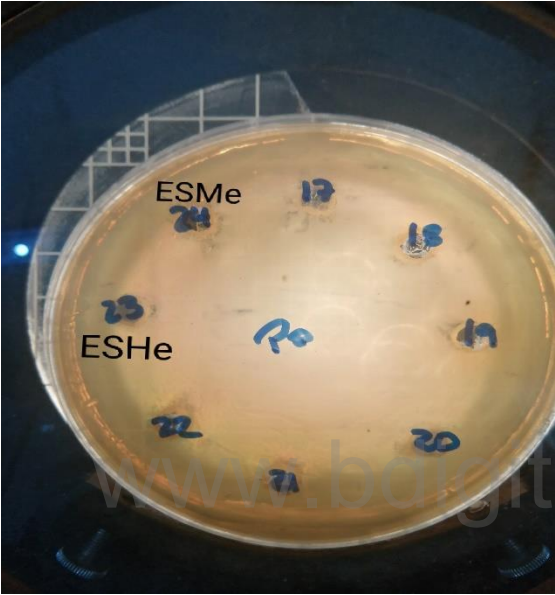
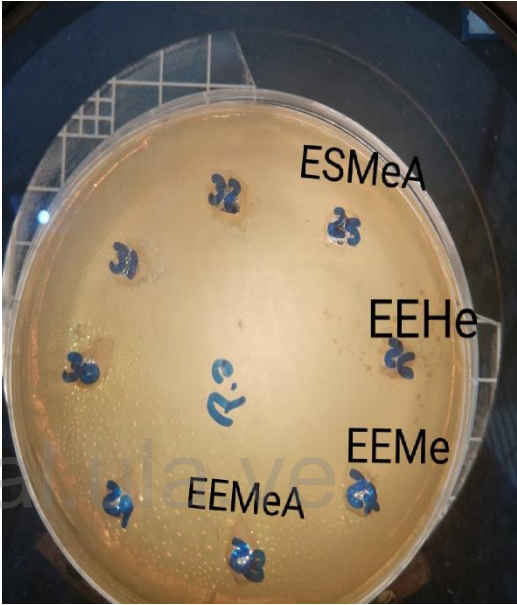
Tabla 16. Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con pozos de los extractos de las semillas y del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum* **(Continuación).**

Prueba: difusión en pozo en agar (<i>Kirby-Bauer</i>)

<p><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>

Leyenda: Pozo N° 23 Extracto de semilla de hexano (**ESHe**), Pozo N° 24: Extracto de semilla de metanol (**ESMe**), Pozo N° 25: Extracto de las semilla de metanol-agua (70:30) (**ESMeA**), Pozo N° 26: Extracto del epicarpio de hexano (**EEHe**), Pozo N° 27: Extracto del epicarpio de metanol (**EEMe**), Pozo N° 28: Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30): (**EEMeA**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Tabla 16. Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con pozos de los extractos de semillas y epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum* **(Continuación).**

Prueba: difusión en disco en agar (Kirby-Bauer)	
<div>   </div>	
<p><i>Pseudomonas aeruginosas</i> ATCC 27853.</p>	

Leyenda: Disco N° 23 Extracto de semilla de hexano (**ESHe**), Disco N° 24: Extracto de semilla de metanol (**ESMe**), Disco N° 25: Extracto de semilla de metanol-agua (70:30) (**ESMeA**), Disco N° 26: Extracto de epicarpio de hexano (**EEHe**), Disco N° 27: Extracto de epicarpio de metanol (**EEMe**), Disco N° 28: Extracto de epicarpio de metanol-agua (70:30): (**EEMeA**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Evaluación de la actividad antifúngica

Se determinó a través del método de difusión en agar con disco (*Kirby Bauer*) con los extractos preparados del epicarpio y las semillas de los frutos de *S. mammosum*, correspondiente a los solventes hexano, metanol y metanol-agua (70:30) en concentraciones de 10 mg/mL y se probó su efecto frente a cepas de *Candida albicans* CDC B-385 y *Candida krusei* ATCC 6258.

Los resultados de la actividad antifúngica demuestran poca efectividad de los extractos ensayados frente a las dos cepas fúngicas estudiadas, a excepción del extracto de semillas de hexano en *Candida albicans* (7 mm) (Tablas 17 y 18):

www.bdigital.ula.ve

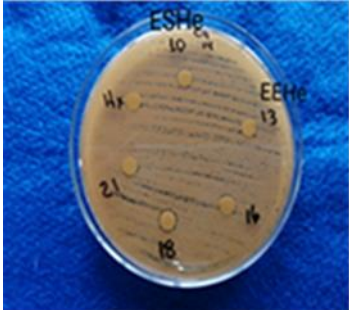

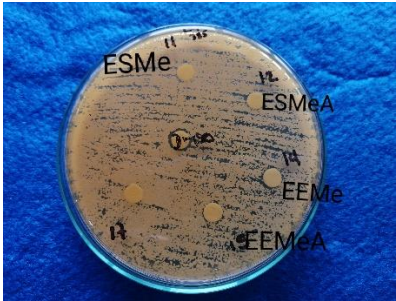

Tabla 17. Resultados obtenidos para la determinación de la actividad antifúngica de los extractos de las semillas y del epicarpio de los frutos de *solanum mammosum*

Halos de inhibición en milímetros (mm) de hongos ATCC					
Muestras ensayadas [] 10 mg/mL	<i>Candida albicans</i> CDC B- 385	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	Muestras ensayadas [] 10 mg/mL	<i>Candida a albicans</i> s CDC B-385	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258
ESHe	7	-	EEHe	-	-
ESMe	-	-	EEMe	-	-
ESMeA	-	-	EEMeA	-	-
DMSO (C-)	-	-	DMSO (C-)	-	-
Hexano (C-)	-	-	Hexano (C-)	-	-
Fluconazol ®	50	-	Fluconazol ®	50	-
Voriconazol ®	-	20	Voriconazol ®	-	20

Leyenda: Extracto de las semilla de hexano: **(ESHe)**, Extracto de las semilla de metanol: **(ESMe)**, Extracto de las semilla de metanol-agua (70:30): **(ESMeA)**, Extracto del epicarpio de hexano: **(EEHe)**, Extracto del epicarpio de metanol: **(EEMe)**, Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30): **(EEMeA)** y hexano: **(C-)**., 2024.

Fuente: Santiago y Obregón

Tabla 18. Reporte de los resultados ilustrados de la actividad antifúngica de los extractos de las semillas y del epicarpio de los frutos de *Solanum mammosum*.

Prueba: difusión en disco en agar (Kirby-Bauer)	
<p><i>Candida albicans</i> CDC B -385</p> 	<p><i>Candida krusei</i> ATCC 6258</p> 
<p><i>Candida albicans</i> CDC B-385</p> 	<p><i>Candida krusei</i> ATCC 6258</p> 

Leyenda: Disco N° 10: Extracto de las semilla de hexano (**ESHe**), Disco N° 11: extracto de las semilla de metanol (**ESMe**) Disco N° 12: extracto de las semilla de metanol-agua (70:30) (**ESMeA**), Disco N° 13: Extracto del epicarpio de hexano (**EEHe**), Disco N° 14: Extracto del epicarpio de metanol (**EEMe**), Disco N° 15: Extracto del epicarpio de metanol-agua (70:30): (**EEMeA**).

Fuente: Santiago y Obregón, 2024.

Discusiones

En el presente trabajo se lograron obtener seis extractos: tres para semillas (hexano, metanol y metanol-agua (70:30)) y tres para epicarpio (hexano, metanol y metanol-agua (70:30)), los cuales evidenciaron a través de las pruebas químicas cualitativas la presencia de algunos metabolitos secundarios como: alcaloides, triterpenos, esteroides, compuestos fenólicos y flavonoides, lactonas, quinonas y glucósidos cardiotónicos, además de la ausencia de saponinas y taninos

Posteriormente se llevó a cabo la evaluación de la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar con discos y pozos (*Kirby-Bauer*).

Los resultados de la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con discos de los extractos ensayados no demostraron actividad frente a ninguno de los microorganismos grampositivos y en los gramnegativos los halos de inhibición obtenidos no superaron los 8 mm. Mientras que por el método de difusión en agar con pozos se determinó una actividad notable del extracto de hexano de las semillas frente a la bacteria grampositiva *Staphylococcus aureus* (14 mm), y contra gramnegativas el extracto de metanol de las semillas y del epicarpio presentó gran actividad frente a la cepa *Klebsiella pneumoniae* con halos de inhibición de 24 mm y 25 mm, respectivamente. En cuanto al análisis de las cepas fúngicas se determinó que de los seis extractos ensayados solo el de hexano de semillas presentó actividad frente a *Candida albicans* (7 mm) los demás extractos no presentaron actividad a la concentración empleada en el estudio (10 mg/mL).

Los resultados de estas variables se correlacionan con lo determinado en estudios anteriores de otras especies del mismo género (*Solanum*), como se menciona a continuación:

En el estudio realizado por Ramírez, Pérez, Obregón, Rojas, Aparicio, Cordero y De Lima (2024), titulado: Actividad antibacteriana y antioxidante de

los frutos de *Solanum hirtum* Vahl de Venezuela. Los resultados del análisis fitoquímico revelaron al igual que en este estudio la presencia de metabolitos secundarios en los que destacan alcaloides, terpenoides, esteroides, fenoles y flavonoides. De igual manera se coincidió en el método para la evaluación de la actividad antibacteriana (método de difusión en agar con disco *Kirby-Bauer*. Los resultados de la actividad antibacteriana mostraron que el extracto de diclorometano (10mg/mL), mostró actividad contra *S. aureus* (7,0 mm) y *K. pneumoniae* (9,0 mm) y el extracto metanólico (10mg/mL), contra *P. aeruginosa* (7,0 mm), *S. aureus* (8,0 mm) y *K. pneumoniae* (9,0 mm). La diferencia notable entre el estudio realizado por los autores, y la presente investigación es que los halos de inhibición que alcanzaron fueron mayores, ya que con los extractos de epicarpio y de semillas de los frutos de *S. mammosum* no se lograron halos de inhibición mayores a 7 mm a excepción del extracto de epicarpio de metanol-agua (70:30) en *Escherichia coli* (8 mm). Esto permite asumir que la actividad antibacteriana se ve bastante desigual de acuerdo al tipo de extracto utilizado, comprendiéndose así que los autores del trabajo de *Solanum hirtum* Vahl, pudieron haber conseguido mayor efectividad frente a las cepas bacterianas por la utilización de otros solventes (diclorometano).

De igual forma, se encontró similitud de este estudio con el que realizaron Mendoza, Fuertes y Jahaira (2022), en el cual se demostró que el extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers contiene metabolitos secundarios como alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides, lo cual coincide con lo hallado en esta investigación. Sin embargo, dichos autores obtuvieron resultados diferentes en el análisis de su actividad antifúngica realizada mediante el método de difusión en agar con pozos, puesto que el extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers arrojó resultados de sensibilidad a una concentración de 25 mg/mL frente a *Candida albicans*, mientras que en la presente investigación los extractos tanto de semillas como epicarpio de los frutos de *S. mammosum* no mostraron actividad frente

Candida albicans y *Candida krusei* por el método de difusión en agar con disco a una concentración de 10 mg/mL a excepción del extracto de hexano de semillas que frente a *Candida albicans* presentó un halo de inhibición de 7,00 mm esto pudiera deberse a la presencia de los metabolitos secundarios presentes esteroides, lactonas y quinonas. Las causas por la que en este estudio no se evidenció una actividad favorable frente a las cepas fúngicas estudiadas comparado con el de Mendoza, Fuentes y Jahura, puede deberse a dos variables: la primera relacionada a que la concentración de los extractos utilizada en esta investigación pudo haber sido inferior a la necesaria para actuar inhibiendo a los microorganismos utilizados en el ensayo, y la segunda variable se corresponde con el tipo de técnica utilizada para evaluar la actividad antifúngica, debido a que en el método por difusión en discos de agar los metabolitos secundarios de interés y capaces de conferirle esta bioactividad pudieron quedar retenidos en el papel de filtro impidiendo difundir en el medio de cultivo inoculado con la cepa (Ramírez y Marín, 2009)..

Finalmente en el estudio realizado por Ramón y Galeano (2020), se evaluó la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar con disco *Kirby-Bauer*, utilizando extractos de metanol realizados con hojas del género *Solanum* los cuales fueron evaluados frente a cepas bacterianas que también se utilizaron en el presente estudio: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 70603), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Escherichia coli* (ATCC 25922), los discos fueron impregnados a una concentración de 20 mg/mL y los resultados que arrojaron alta sensibilidad, según tabla de medición específica y de referencia internacional utilizadas por los autores. La causa a la cual se puede deber el hecho de que los autores hayan determinado altos halos de inhibición puede deberse al igual que en el estudio de Mendoza, Fuentes y Jahura a la alta concentración utilizada del extracto.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En los extractos de hexano, metanol y metanol-agua (70:30) del epicarpio y semillas de los frutos de *Solanum mammosum*, se identificaron mediante el análisis fitoquímico la presencia de metabolitos secundarios, destacándose en los extractos de semillas y epicarpio la presencia de alcaloides, terpenos y esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides, lactonas y quinonas en el mismo sentido, hubo ausencia en todos los extractos de saponinas, cumarinas, antraquinonas, glucosidos cardiotónicos y taninos.

La evaluación de la actividad antibacteriana fue realizada por los métodos de difusión en agar con discos y con pozos de agar de *Kirby-Bauer*.

Mediante método de difusión en agar con discos, no se determinó actividad con ninguno de los extractos de las semillas de los frutos de *S. mammosum* frente a microorganismos grampositivos, no obstante si fue posible determinar efectividad frente microorganismos gramnegativos, con halos de inhibición no mayores a 7 mm. Por otro lado en la evaluación de los extractos del epicarpio de los frutos de igual manera se determinó efectividad contra microorganismos gramnegativos, y además contra un grampositivo (*Enterococcus faecalis* 7 mm).

Con el método de difusión en agar con pozos se determinó gran actividad con los extractos de epicarpio y semillas de los frutos de *S. mammosum* frente al microorganismo grampositivo *Staphylococcus aureus*, sin embargo no hubo inhibición del crecimiento con ninguno de los extractos ensayados frente a *Enterococcus faecalis*. De igual manera se determinó

efectividad de todos los extractos frente a bacterias gramnegativas logrando altos halos de inhibición, especialmente frente a *Klebsiella pneumoniae* (25 mm)

la actividad antifúngica se evaluó únicamente por el método de difusión en agar con discos *Kirby-Bauer*, y los resultados no arrojaron efectividad de los extractos frente a las cepas fúngicas estudiadas excepto el extracto de semillas de hexano en *Candida albicans* (7mm).

De esta manera se concluye que el método de evaluación antimicrobiana mas efectivo es el método de difusión en agar con pozo *Kirby-Bauer* esto debido a que la técnica con sensidiscos presenta como desventaja la composición del papel filtro Whatman el cual se compone de celulosa (uniones b-(1-4) de monómeros de glucosa), los cuales tienen muchos grupos hidroxilos libres presentes en cada glucosa, haciendo que la superficie del disco sea hidrofílica interviniendo directamente con algunos compuestos catiónicos de los productos naturales absorbiéndolos en la superficie del disco e impidiendo la difusión de estos en el agar, los compuestos apolares pueden no ser influenciados por dichos grupos hidroxilos y difundir fácilmente en el agar. Esto puede explicar en parte la más alta sensibilidad detectada cuando el método se utiliza directamente en pozo (Ramirez y Marin, 2009).

Recomendaciones

Analizar la actividad antifúngica de los extractos del epicarpio y pulpa de los frutos de *Solanum mammosum* empleando el método de difusión en agar con pozos (*Kirby-Bauer*).

Evaluar la composición química y la actividad antimicrobiana de otras partes de la planta como: flores, tallos y raíces.

Evaluar la actividad antioxidante con extractos de epicarpio y semillas de los frutos de *Solanum mammosum*.

Llevar a cabo la obtención de extractos vegetales del epicarpio y semillas de los frutos de *Solanum mammosum* empleando solventes y métodos de extracción distintos a los usados en esta investigación.

Se evidencio que es necesario la utilización de concentraciones elevadas de los extractos para poder producir la inhibición de crecimiento en las cepas ensayadas, especialmente en las cepas fúngicas

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Acuña, P., y Garro, J. (2016). Potencial de producción del Pichichio (*Solanum mammosum* L.) en el Caribe de Costa Rica. *Alcances Tecnológicos*, 11(1), 67-70.
- Alarcón, D., y Lars, P. (2008). *Plantas útiles del Ecuador*. Quito, Ecuador: Editorial Herbario QCA y Herbario AAU.
- Almoulah, N., y Voynikoy, L. (2017). Antibacterial, antiproliferative and antioxidant activity of leaf extracts of selected Solanaceae species. *South African Journal of Botany*, 112(3), 368–374.
- Arco, J. (2014). Antibióticos: situación actual. *Revista Vitae*, 28(5), 29-33.
- Arias, F. (2006). El Proyecto de Investigación. Introducción a la metodología científica. 5ta Editorial Episteme, C.A., Caracas-Venezuela.
- Barrera, C., Cuca, L., y Parra, J. (2014). Características químicas del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (rutaceae). *Revista de la Universidad Militar de Granada*. Colombia 4(4),12-22.
- Bauer, A., Kirby W., Sherris J., y Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(1), 493-496.
- Bisso, A. (2018). Resistencia a los antimicrobianos. *Revista Social Perú Medicina Interna*, 31(2), 50-59.
- Briad, Y., y Baysse, C. (2002). The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista de Biología tropical*, 84 (5), 499-510.
- Buitrago, T., y Menco, M (2018). Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Solanum crinitipes* Dunal (Solanaceae) y evaluación de uso como agente antimicrobiano (trabajo de investigación). Universidad de Ciencias aplicadas y ambientales, Colombia.

- Caicedo. L., Corrales. L., y Trujillo. D. (2021). Las bacterias su nutrición y crecimiento. *Revista Nova*, 19(36), 22-17.
- Calvopiña, G. (2010). *Determinación de la actividad antibacteriana de las hojas de Kalanchoe pinnata* (Trabajo de investigación). Universidad de Granma, Latacunga, Ecuador.
- Campos, R., Alarcón, T., Dauria, G., Delgado, S., y Ferrer, M. (2012). Microbiota en la salud humana. *Revista Peruana de Biología*, 36(4), 241-245.
- Cañon, T., y Menco, A. (2018). Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Solanum crinitipes* Dunal. (Trabajo de investigación). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Colombia.
- Carrol, K., Hobdeny, J., y Suckanary, J. (2002). Clasificación de las bacterias. En Jawets., M.(Ed), *Microbiología Médica*. Ciudad de México, México: Lange.
- Carvajal, L., Hata Y., Sierra, N., y Rueda D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Colombia forestal*, 12(1), 161-170.
- Castillo, G., Zavala, D., y Carrillo, M. (2017). Analisis fitoquímico una herramienta para develar el potencial biológico y farmacológico de las plantas. *Tlatemoani revista academica de investigación*, 8(24), 1-2.
- Cercenado, E., y Saveedra, J. (2009). El antibiograma. Interpretación del antibiograma: conceptos generales. *Revista Argentina de Microbiología*, 1(4), 214-215.
- Cervantes, E., García, R., y Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(1), 2-6.
- Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-82.

- Cue, M. y Morejon, M. (2008). Clasificación de los antibióticos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 14(4), 12-2.
- Cuenca, M., y Ruiz I. (2009). Antifúngicos para uso sistémico. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Cl*, 27(6), 353-358.
- Delporte, C. (2010). Farmacognosia, trabajos prácticos. Departamento de Farmacología y Toxicología. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.
- Díaz, M., Salas, C., Fernández, M., y Martínez A. (2007). Características clínicas y Epidemiológicas de las infecciones por *Enterococcus* sp. en niños. *Revista Cubana de Pediatría*, 79 (1), 20-18.
- Echeverri, L., y Cataño J. (2010). *Klasiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: Epidemiología y Resistencia. *Revista Iatreia*, 23 (3), 5-3.
- Gacto, M. (2015). Cien años de avances en ciencias de la vida. *Revista Universitaria de divulgación científica*, 34 (3), 91-103.
- Gasaly, N., Riveros, K., y Gotteland, M. (2020). Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Revista chilena de nutrición*, 47(2), 317-327.
- García, E. (2004). Los Bioelementos Básicos de la Vida. *Revista de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 1(2), 3-5.
- García, R., Cruz, F., Alarcón, F., 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 Champoton, Campeche, México. *Revista de Polibotánica*, 48 (1), 151-168.
- Gonzalez, A. (2004). *Obtención de los aceites esenciales y extractos etanólicos de Plantas Amazónicas*. (Trabajo de investigación). Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- Grayer R., y Harborne, J. (1994). A Survey of Antibacterial Compounds from Higher Plants. *Phytochemistry*, 37(1), 19-42.

- Gregori, B. (2005). Estructura y actividad de los antifúngicos. *Rev. Cubana Farmacología*, 39(2), 1-2.
- Guerra, E. (2005). *Obtención caracterización y evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tintas de rizoma y de la fronda de calahuaca (Phlebodeium pseudoaureum) a nivel de laboratorio.* (trabajo de investigación). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- 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), 18-81.
- Hernandez, A., Bautista, S., y Velazquez, M. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotec*, 30(2), 119-123.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, M. (2010). Metodología de la Investigación. México: McGraw Hill.
- Horna, G., Silva, M., Vicente, W., y Tamariz, J. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de Ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Revista Médica Herediana*, 16(1), 69-81.
- Huayhua, K., y Nina., S. (2009). Acción antimicrobiana del própolis de *Apis mellifera* L. y de *Solanum mammosum* L (teta de vaca) contra microorganismos de la cavidad oral (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*). *Science Citation Index*, 10 (8), 14-32.
- Hurtado, J. (2010) Metodología de la investigación. Guía para la comprensión holística de la ciencia. 4ta.ed. Caracas: Ediciones Quirón.
- Hurtado, M., Parte, M., y Brito, A. (2002). *Staphylococcus aureus*: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección

- estafilocócica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 22(2), 2-5.
- Jiang, K., Jones, P., y Shekar, R. (2006). Severe soft tissue abscess caused by *Candida krusei*. *Revista Practica de infectología Clínica*, 14(3), 166-167.
- Jones, V. (1941). The nature and state of Ethnobotany. *Chronica botanica*, 6 (1), 219-22.
- Knapp, S., Bohs, L., Nee, M., y Spooner, D. (2004). Solanaceae a model for linking genomics with biodiversity.. *National Center for Biotechnology information*, 50 (39), 285-291.
- Lock, O. (1987). Productos Naturales: importancia y Pespectivas. *Revista de Quimica*, 1(1), 1-6.
- López, K., Dzul, K., Lugo, C., Arias, J., y Zabala, J. (2016). Mecanismo de resistencia antifúngica de los Azoles en *Candida albicans*. Una Revisión. *Revista Biomédica*, 27(3), 127-136.
- Lopez, M. (2002). Formas de administración más habituales de plantas medicinales. *Revista farmacia y sociedad*, 21(2), 122-125.
- Mandal, G. (1994). Introducción a las enfermedades microbianas. *Tratado de Medicina interna*, 2 (20), 23-4.
- Mandell, G. (Ed.). (1994). *Introducción a las enfermedades microbianas. En: J. B. Wyngaarden. tratado de medicina interna*. Ciudad de México, México: Interamericana Mc Graw Hill.
- Marcano, D., y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica orgánica Caracas Venezuela: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela*. Caracas, Venezuela: Fondo Editorial CDCH-UCV
- Marcano, D., y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica Orgánica*. Caracas, Venezuela: Revista Venezolana de Estudios Internacionales.

- Martín E., Péman F., y Rubio M. (2001). *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica*. Bilbao, España: Editorial: Revista Iberoamericana de Micología Asociación Española de Micología.
- Mellado, E., Cuenca, C., y Rodríguez, J. (2002). Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los Hongos filamentosos a los antifúngicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 20 (10), 523-530.
- Mendoza, J. Fuentes, C., y Jahuira, M. (2022). Análisis fitoquímico preliminar y actividad antifúngica In vitro del extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers. Colectadas en la localidad Obraje Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 39 (3), 119-145.
- Montaño, N. Sandoval, A. Camargo, S., y Sánchez, J. (2010). Los microorganismos: pequeños gigantes. *Revista Ciencia y cultura*, 17(77), 15-23.
- Muñoz, V., Sauvain, M., Bourdy, G., Callapa, J., Rojas, I., y Vargas, L. (2000). The search for natural bioactive compounds through a multidisciplinary approach in Bolivia. Part II. Antimalarial activity of some plants used by Mosetene Indians *Ethnopharmacol.* 69(2):139-155.
- Narváez S., Gómez L., y Martínez, M. (2008). Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos aislados a partir de sedimentos del Caribe Colombiano. *Revista científica Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 37(1), 61-75.
- Navarro, R., y Baltazar, S. (2022). Efecto antibacteriano *invitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. knapp sobre bacterias gramnegativas. (Trabajo de investigación). Universidad Maria Auxiliadora, Perú.

- Observatorio salud y medio ambiente (2022). La resistencia a los fármacos antimicrobianos desde la perspectiva “One Health”. *ECODES*. 15(1) 22-25
- Ochoa, L., y Sarmiento, A. (2018). Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (L.f.) DC (*Melastomataceae*) y evaluación de su actividad biológica (Trabajo de pregrado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogotá, Colombia.
- Pangelly, A. (1996) *the constituents of Medicinal plants*. U.K. Cabi Publishing,
- Pardi, G., Guilarte, C., Cardozo, E., Briseño, E. (2009). Detección de enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta Odontologica Venezolana*, Volumen 47(1), 2-3
- Peñaloza, L., y Aspiazú, H. (2021). Mecanismos de resistencia de *Escherichia coli* en América Latina. *Revista de Investigación en Salud*, 4(11), 12-8.
- Pereira, S., Vega, D., Almeida, M. y Morales, G. (2009). Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la *Trichilia hirta* L. *Revista Química Viva*, 3 (8), 6.
- Pérez, A. y Rojas, L. (2013). *Farmacología y Fitoquímica del Género Solanum* (*Solanaceae*). Mérida, Venezuela: editorial académica española.
- Picazo, J. (2010). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Documento en línea.
- Pino, M., Gallado, I., y Perez, M. (2018). Estudio experimental de las etapas de maceración y fermentación para la obtención de cerveza a partir de malta de sorgo. *Revista Centro Azúcar*, 45(3), 1-6.
- Quired (2004). Origen y aplicación de los productos naturales. Universidad de Granada. Facultad de ciencias. Departamento de química orgánica (en red)
- Ramirez, J. Garcia, C. Vizcaino, J. Cardenas, J. Gutierrez, F. Murga, H. y Villagran, S. (2012). ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes?

Revista De Divulgación Científica Y Tecnológica De La Universidad Veracruzana, 25 (2) ,19-33.

- Ramírez, L., y Marín, D. (2009). Metodología para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica*,15(42), 1-2.
- Ramirez, R., Pérez, A., Obregón, Y., Cordero, Y., Rojas, L., Aparicio, R., y De Lima W. (2024). Actividad antibacteriana y antioxidante de los frutos de *Solanum hirtum* Vahl de Venezuela. *Research Article*, 1(12),1
- Ramón, J., y Galeano, P. (2020). Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos metanólicos de hojas de plantas del género *Solanum*. *Información Tecnológica* 31 (5), 2-14.
- Ringuelet, J., y Viña, S. (2013). *Productos Naturales Vegetales*. Buenos Aires, Argentina: Editorial de la Universidad de la Planta.
- Ruiz, D. (2008). Validación farmacológica de la actividad antiinflamatoria de las infusiones acuosas de las hojas de *Acalypha guatemalensis* (hierba del cáncer), *Solanum mammosum* (chichitas) y *Rauvolfia tetraphylla* L. (chalchupa). (Trabajo de investigación). Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Ryan, K., y Ray, G. (2011). *Microbiología Médica*. Madrid, España: McGraw-Hill Interamericana de España S.L
- Sabini, M., Menis, F., y Beoletto, V. (2019). Historia de las plantas medicinales. En Reinoso, E., Olivia M y Pavicichi, E. (Eds.), *Una Farmacia en el Monte* (pp.18-29). Córdoba, España: Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba.
- Salazar. F., y Jaime, M. (2011). Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de laurelillo [*Cordia inermis* (Mill.) I. M. Johnst.]. (Trabajo de investigación). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Nicaragua.
- Sanchez, F. y Figueroa, G. (2022). *Fitoquímica*. Ciudad de México, México: Comité Editorial de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

- Sierra, J., Siquiros, M., Flores, E., y Moreno, O. (2015). Riqueza y distribución de la familia Solanaceae en el estado de Aguas Calientes, México. *Botanical Sciences*, 93(1), 31-3.
- Sierra, M. (2017). Resistencia antimicrobiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Medicas*. 16(3) 3-5
- Tortora, G., Berdell, R., Funke, B., y Case, C., (2007). Introducción a la microbiología. 9na Edición. Editorial Médica Panamericana.
- Vilchez, H., Olortegui, A., y Alvia, C. (2023). Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Solanum sessiliflorum* Dunal (cocona) sobre *Streptococcus mutans*. *Revista cubana de medicina militar*. 52(1), 1-3.
- Vélez, M., Campos, R., y Sánchez, H. (2014). Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 17 (3), 489-499.
- Villafañe, H. (1997) Taxonomía: Clasificación de los seres vivos. *Revista de la Facultad de Odontología U de A*. 8(2), 28-29.
- Wen, L., Haddad, M., Fernández, I., Espinosa, G., Ruiz, C., Neyra, E., Bustamante, B., y Rojas, R. Actividad antifúngica de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional peruana. Aislamiento de 3' formil – 95 2',4',6' – trihidroxidihidrochalcona, principio activo de *Psidium acutangulum*. *Rev Soc Quím Perú*, 77 (3), 2.