



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“DR. ALFREDO NICOLAS USUBILLAGA DEL HIERRO”



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS
DE LOS TALLOS DE *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr.**

Trabajo de Grado presentado como requisito para optar
por el título de Licenciado en Bioanálisis.

Autores:

Nadya Yuderlys Rodríguez Rodríguez

Narlys Viviana Conde Chacón

Tutor: Prof. Yndra Cordero de Rojas

Co-tutor: Prof. Alida Pérez

Mérida, Marzo de 2021

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso por darnos salud y fortaleza para seguir adelante a pesar de las adversidades que vivimos día tras día, por guiarme para no perder mi norte y permitirme llegar hasta el final de mi largo camino para así cumplir una meta más en mi vida.

A mi madre, hermanas y hermano quienes con palabras y acciones me alentaron cada día a continuar y no desistir en mi camino. Gracias totales familia los amo!

A la ilustre Universidad de Los Andes, por mantener sus puertas abiertas para formarnos como profesionales.

A las profesoras Yndra Cordero y Alida Pérez, por su gran aporte como tutoras, por su apoyo, dedicación y optimismo para la realización de este trabajo de investigación.

A la profesora Judith Velasco por su colaboración, consejo y guía. Por ser tan afable, paciente, y siempre mantener esa sonrisa que contagia. Mil gracias!

A nuestros amigos y todas aquellas personas que de una u otra manera nos dieron su apoyo durante la carrera.

Nadya Rodriguez R.

DEDICATORIA

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme bendecido en salud, paciencia, fortaleza y sabiduría para lograr mis objetivos, por su infinita bondad, por hacer realidad este sueño.

A mi madre, Deyanira Chacón, Quien me apoyo siempre, por su esfuerzo y dedicación, experiencias, su paciencia y motivación por inculcarme valores desde niña para alcanzar este gran logro. Gracias Hermosa!

A mi esposo, Abg. Wuilmer Cano, Por tu apoyo y amor constante en aquellos momento donde no tenía ánimos ni aliento, tú me levantaste fuiste y serás mi inspiración. Ser maravilloso digno de admirar, un guerrero de Dios, eres un luchador de la vida. ¡Gracias por creer en mí, te amo!

A las Profesoras, Yndra Cordero de Rojas, y Alida Pérez, por su dedicación, orientación para culminar con éxito nuestro trabajo de grado.

A la Prof. Judit Velazco, maravilloso ser que Dios puso en mi camino para que formara parte de mi formación académica, gracias por orientarnos en nuestro trabajo de grado.

A familiares y amigos, que de una u otra manera aportaron un granito de arena durante mi formación profesional, gracias a mi suegra Ana Sánchez, por sus consejos, apoyo, ánimo y compañía en el transcurso de mi vida.

Narlys Conde Ch.

AGRADECIMIENTOS

A nuestra tutora y co-tutora, Prof. Yndra Cordero de Rojas y Alida Pérez por su paciencia, por brindarnos su confianza y guía para lograr la culminación del último peldaño, para alcanzar el sueño por el que tanto luchamos, gracias por sus conocimientos, dedicación y orientación.

Al Instituto de Investigación “Dr. Alfredo Nicolas Usubillaga del Hierro” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, por abrirnos las puertas para la obtención de los extractos.

A nuestra Ilustre Universidad de Los Andes, por mantener sus puertas siempre abiertas a pesar de los duros momentos y acogernos en sus espacios e impartir en nosotros valores humanos, académicos y profesionales de sus excelentes profesores para nuestra formación durante este largo camino. Siempre estaremos orgullosas de pertenecer a tan prestigiosa casa de estudios.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE ESQUEMAS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación de la Investigación	4
Objetivos de la Investigación	5
Objetivo General	5
Objetivos Específicos	5
Alcances y Limitaciones de la Investigación	6
Alcances de la Investigación	6
Limitaciones de la Investigación	6
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	7
Trabajos Previos	7
Antecedentes Históricos	9
Bases Teóricas	10
Familia Rutaceae	10
Genero <i>Swinglea</i>	12
Especie en estudio <i>Swinglea glutinosa</i>	13
Productos naturales	17
Extractos vegetales	19
Análisis Fitoquímico Preliminar	20
Generalidades de las Bacterias	23
Actividad antibacteriana	33

Definición de Términos	36
Operacionalización de las Variables	37
Hipótesis	39
 CAPITULO III. MARCO METODOLÓGICO	 40
Tipo de Investigación	40
Diseño de Investigación	40
Población y Muestra	41
Sistema de Variables	41
Instrumentos de Recolección de Datos	42
Metodología de la Investigación	42
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
Resultados	48
Discusión	53
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
Conclusiones	55
Recomendaciones	56
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS	57

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura química del Ácido antraquinólico	11
Figura 2. Hojas y tallos de <i>Swinglea glutinosa</i>	13
Figura 3. Estructura química de alcaloides acridonicos	15
Figura 4. Compuestos químicos aislados a partir del extracto de los tallos de <i>S. glutinosa</i>	15
Figura 5. Compuestos químicos aislados del aceite esencial de la corteza de los frutos <i>S. glutinosa</i> .	16
Figura 6. Reacción de Liebermann-Burchard	22
Figura 7. Clasificación de las Bacterias según la composición de su pared celular.	24
Figura 8. Mecanismo de acción bacteriano	31
Figura 9. Extracción por reflujo de los tallos	43
Figura 10. Filtrado y concentración de los extractos de los tallos de <i>Swinglea glutinosa</i>	43

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Swinglea glutinosa</i>	12
Tabla 2. Operacionalización de la Variable Independiente	37
Tabla 3. Operacionalización de la Variable Dependiente	38
Tabla 4. Resultados de la caracterización fitoquímica de los extractos de <i>Swinglea glutinosa</i>	49
Tabla 5. Resultados de la reacción de caracterización fitoquímica de los extractos de <i>Swinglea glutinosa</i>	50
Tabla 6. Resultados de la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos a partir de los tallos.	52

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema 1. Rutas Biosintéticas de los metabolitos secundarios	18
Esquema 2. Clasificación de los antibióticos	30

www.bdigital.ula.ve



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS
DE LOS TALLOS DE *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr.**

Autores:

Nadya Yuderkys Rodríguez Rodríguez

Narlys Viviana Conde Chacón

Tutor: Prof. Yndra Cordero de Rojas

Co-tutor: Prof. Alida Pérez

RESUMEN

El objetivo de esta investigación consistió en confirmar la relación entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de los tallos de *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr. La metodología empleada en la obtención de los extractos fue la extracción por reflujo mediante la utilización de solventes de polaridad creciente (hexano y etanol), así como la determinación de la composición química a través de tamizaje fitoquímico, logrando identificar alcaloides y triterpenos en ambos extractos y compuestos fenólicos, flavonoides y saponinas solo en el extracto de etanol. El estudio de la actividad antibacteriana se realizó por el método de difusión de disco en agar contra cepas bacterias de referencia internacional: *Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC25357), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) y *Enterococcus faecalis* (ATCC29212). El extracto hexanólico (10000 ppm) fue activo contra *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* y *E. faecalis* con halos de inhibición de 13 mm, 12 mm, 9 mm y 7 mm, respectivamente, sin embargo no fue activo frente *E. coli*. En cuanto al extracto etanólico (10000 ppm) presento inhibición contra *P. aeruginosa* (9 mm), *K. pneumoniae* (10 mm), *E. faecalis* (7 mm) y *E. coli* (9 mm), mientras que *S. aureus* fue resistente. Estos resultados evidencian que los extractos de los tallos de *Swinglea glutinosa* poseen actividad antibacteriana frente a patógenos de interés clínico.

Palabras claves: *Swinglea glutinosa*, fitoquímica, actividad antibacteriana.

INTRODUCCIÓN

Se presume que el uso de las plantas con fines medicinales se remonta al principio de la historia de la humanidad. En el mundo se conocen más de 20.000 especies de plantas, las cuales contienen algún compuesto químico aromático; no obstante, apenas se comercializan unas 200 a 250 especies (Alarcón y cols., 2009).

La medicina natural es de gran importancia en los tratamientos para la salud, pero han sido desplazados y sustituidos por el desarrollo de sustancias sintéticas. Sin embargo, los productos naturales en comparación, mantienen ciertas ventajas ya que no representan un riesgo para la salud de los individuos (Quesada, 2008).

A nivel mundial debido a la automedicación sin prescripción de medicamentos antibióticos, se han visto aumentadas las patologías por hongos y bacterias, ya que estos microorganismos presentan cierta resistencia ante la acción antibacteriana de dichos fármacos, siendo este un problema que con el pasar de los años tiende a aumentar (Alvarado, 2015). Debido a esta problemática en los últimos años se han venido realizando investigaciones que han demostrado el poder antibacteriano de los extractos y aceites esenciales de ciertas plantas, especialmente aquellas extraídas de frutos cítricos, en los cuales se encontraron aceites esenciales de mandarina, naranja y toronja. Estos mostraron tener actividad antibacteriana contra cepas de: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa* entre otras (Martínez, Sulbaran, Ojeda, Ferrer y Nava, 2003).

Desde tiempos remotos las plantas han cumplido un importante papel en el área terapéutica todo gracias a la cantidad de propiedades que estas

poseen. Por esta razón podemos afirmar que en las últimas décadas ha venido tomando mayor importancia su estudio y el desarrollo de técnicas analíticas que permitan la identificación de los principios activos contenidos en las especies vegetales (Lizcano y Vergara, 2008).

Swinglea glutinosa, es un arbusto de la familia Rutaceae, originaria del sur oeste de Asia, fue introducida en algunos países de sur américa, ya que se adapta fácilmente a suelos poco fértiles, el extracto de sus tallos y hojas se ha utilizado como biofungicida para algunas enfermedades de las plantas (Gil, Celis y Cuevas, 2010). En tal sentido, este trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos de los tallos de *Swinglea glutinosa*.

En concordancia con lo antes mencionado, el trabajo de investigación se encuentra estructurado de la siguiente manera: *Capítulo I*: Planteamiento de problema, Justificación e Importancia de la Investigación, Objetivo general, Objetivos específicos, Alcances y Limitaciones. *Capítulo II*: representa los Antecedentes de la Investigación, el Marco teórico. *Capítulo III*: contiene el Marco Metodológico, Tipo de Investigación. *Capítulo IV*: Resultados y Discusión. *Capítulo V*: Conclusiones y Recomendaciones. Finalmente las referencias Bibliohemerográficas.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Según Martínez y col (2003),

Desde que se tiene conocimiento de la historia de la humanidad, se ha reflejado la necesidad del hombre de tener una vida lo más sana posible, en este sentido se aprecia una evolución significativa en la producción de productos farmacéuticos, principalmente en el área que compete a la medicina natural. Es por ello, que se han venido realizando estudios que han demostrado el poder antibacteriano de los extractos y aceites esenciales de ciertas plantas. Donde se han logrado grandes avances, que permitirán a los consumidores llevar una vida sana, alcanzando el control y cura de la mayoría de las enfermedades ocasionadas por microorganismos bacterianos. (s/p)

Es por esta razón que al momento de elegir un antibiótico, se hace necesario considerar una serie de factores como por ejemplo cual es el origen de la infección, el tipo de microorganismo, la acción del fármaco entre otras. Debido a que algunas bacterias ejercen resistencia ante ciertos antibióticos, llegando a convertirse en un tema de gran interés para la salud pública. Ya que, estos microorganismos han sido capaces de evadir su acción. A causa del uso indiscriminado e irracional de los antibacterianos, así

como la automedicación y administración por largos periodos de tiempo de los mismos (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).

En vista que las plantas aportan una gran cantidad de compuestos químicos con carácter antibacteriano, se puede comparar dicha actividad con la que presentan los antibacterianos usados en clínica. Es por ello, que el uso de productos naturales para fines terapéuticos constituye actualmente una alternativa para combatir la resistencia bacteriana, además estas sustancias ofrecen una ventaja debido a que pueden usarse directamente o como base para la síntesis de nuevos principios útiles aplicables en los tratamientos de las infecciones causadas por microorganismos (Domingo y López, 2003).

Descrita la situación del problema en estudio, se ha tomado la decisión de formular la siguiente interrogante: ¿Cuál es la relación entre la actividad antibacteriana y la composición química de los tallos de *Swinglea glutinosa*?

Justificación e Importancia de la Investigación

La resistencia bacteriana es un problema de salud pública que se viene observando a nivel mundial. Debido al uso indiscriminado de los antibióticos, lo cual ha permitido a las bacterias desarrollar mecanismos de resistencia capaces de evadir la acción de estos compuestos (Cabrera y cols., 2007).

Esta problemática ha llevado al aumento del uso de la medicina tradicional para tratar enfermedades ocasionadas por estos microorganismos. Es por ello que se define a las plantas medicinales como “Cualquier especie vegetal que contiene en uno de sus órganos, o en toda la planta, los principios activos responsables de la actividad farmacológica y que se utiliza

con fines terapéuticos o cuyos principios activos puedan servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos” (Osorio, 2014).

En la actualidad existe un profundo interés en el estudio de los principios activos que presentan fuentes no tradicionales como las plantas también llamados metabolitos secundarios, ya que estos se presentan como múltiples alternativas terapéuticas para combatir la multiresistencia adquirida por los microorganismos patógenos (Domingo y López, 2003).

Por este motivo, la presente investigación pretende evaluar la composición química de los extractos de los tallos de la *Swinglea glutinosa* y si estos presentan algún efecto sobre cepas bacterianas de interés microbiológico.

www.bdigitalula.ve

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de los tallos de *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr.

Objetivos Específicos

- Obtener los extractos de los tallos de la *Swinglea glutinosa* a través de la técnica de extracción por reflujo, usando solventes de polaridad creciente como hexano y etanol.
- Identificar cualitativamente mediante pruebas químicas los metabolitos secundarios presentes en los extractos.

- Determinar la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de los tallos de *Swinglea glutinosa* utilizando el método de difusión en agar con discos (Kirby - Bauer).

Alcances y Limitaciones de la investigación

Alcances de la Investigación

El alcance de esta investigación consistió en la confirmación de la relación entre los metabolitos secundarios de los extractos y la actividad antibacteriana de la especie *Swinglea glutinosa*, contra bacterias grampositivas y gramnegativas, para proponer nuevas alternativas terapéuticas que busquen controlar los mecanismos de resistencia de forma eficaz.

www.bdigital.ula.ve

Limitaciones de la Investigación

Algunas de las limitaciones que se presentaron en esta investigación se deben al mal funcionamiento de los servicios básicos (luz, agua, gas e internet). Por otra parte cabe destacar la difícil situación que se viene presentando a nivel país, debido a la devaluación monetaria lo que ha dificultado la adquisición de productos e insumos (reactivos), equipos e instrumentos, esenciales para llevar a cabo los ensayos durante la investigación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Las autoras analizando varios trabajos relacionados con el tema objeto de estudio, determinaron algunos de gran importancia que permitieron establecer el marco teórico.

Trabajos Previos

Calheiros, De Camillis, Ribeiro, Fernández, De Medeiros y Moura, (2020), realizaron un estudio que se tituló: Herramientas analíticas integradas para acceder a acridonas y fenilacrilamidas no relacionadas de *Swinglea glutinosa*. La metodología aplicada fue el tamizaje fitoquímico mediante dos estrategias de replicación rápida (Analysis Target Bruker Daltonic, Bremen, Alemania). Las fracciones obtenidas de los extractos etanólico y hexanólico en tallos y hojas de *S. glutinosa*, arrojaron la presencia de alcaloides acridónicos, fenilacrilamidas y flavonoides. Estos resultados se relacionan con la presente investigación en lo referente a la composición química de la misma especie en estudio.

Murillo, Correa, Cerquera y Méndez, (2018) estudiaron los aceites esenciales de la corteza de los frutos de *S. glutinosa*, estos reportaron dentro de su composición química la presencia de terpenos los cuales mostraron tener un amplio espectro de actividad: realizaron ensayos para actividad

antibacteriana utilizando concentraciones de 250-4000 ug/mL los cuales mostraron la inhibición de 4 bacterias gramnegativas: *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella tiphymory*, *Escherichia coli* y *Erwinia carotovora*, además de una cepa grampositiva: *Staphylococcus aureus*, así mismo determinaron la capacidad antifúngica de los aceites esenciales contra organismos fitopatógenos (*Rhizopus oryzae*, *Penicillum spp.* y *Aspergillus niger*) con valores de concentración de 312-10000 ug/mL, con respecto a la actividad contra *Tripanosoma cruzi*, obtuvieron resultados positivos ya que afectaron la viabilidad del parásito en más de un 80 % utilizando valores de 25-200 ug/mL y finalmente para evaluar la actividad citotóxica de los aceites utilizaron valores de 100-0,02 ug/mL dicho ensayo presentó un elevado efecto citotóxico sobre la línea celular evaluada. La relación que guarda este trabajo con el presente tema, es que se logró determinar la capacidad antibacteriana frente algunas bacterias que fueron usadas en esta investigación.

www.bdigital.ula.ve

González, Araque, Montilva, Velasco y Usubillaga, en el año 2014, llevaron a cabo una investigación titulada Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de frutos de *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr. La metodología aplicada para el análisis de los aceites esenciales fue la cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG-EM) y para la actividad antibacteriana el método de difusión en agar con discos. El estudio arrojó la presencia de 14 compuestos, siendo la mayoría monoterpenos. El aceite esencial inhibió el desarrollo de las bacterias grampositivas *S. aureus* y *E. faecalis* con valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 100 y 400 ug/mL, respectivamente. Además fue activo frente a *E. coli* (CMI= 100 ug/mL) y *K. pneumoniae* (CMI= 200 ug/mL). Este trabajo de investigación guarda relación con el tema, ya que los autores determinaron la composición química del aceite obtenido del fruto de *Swinglea glutinosa* y mostraron actividad antibacteriana frente a diferentes patógenos humanos.

Antecedentes Históricos

El tema de las plantas medicinales es quizá tan antiguo como el hombre mismo, el cual se vio en la necesidad, de experimentar con las diferentes partes de las plantas (hojas, frutos, tallos, raíces, etc.) para conocer el beneficio de sus propiedades farmacológicas, en el tratamiento de diferentes enfermedades. Durante siglos la mayoría de los fármacos ha sido de origen natural, los conocimientos al respecto siempre han estado diseminados, a pesar de la invasión farmacológica mundial, las personas siguen recurriendo a productos naturales para aliviar enfermedades comunes, es por esto que el esfuerzo por regresar a los productos naturales representa un aporte muy significativo ya que son un recurso que debe conocerse, usarse y cuidarse (Núñez, 1982).

Es indudable la importancia de las plantas para la medicina moderna, durante mucho tiempo los preparados naturales y las plantas medicinales fueron el principal, e incluso el único recurso del que disponía el medico; todas las culturas, a lo largo y ancho del planeta y en todos los tiempos, han usado las plantas medicinales como base de su propia medicina, utilizados para el sostén de la salud, así como para la prevención, el diagnostico, y la mejora o el tratamiento de enfermedades (Núñez, 1982).

En tal sentido, *Swinglea glutinosa* es un miembro de la familia Rutaceae, esta especie es de origen asiático, ha sido utilizada como cercos vivos y como planta ornamental. Fue introducida en la América tropical, adaptándose perfectamente a las condiciones geobotánicas (Schrader, Burandt, Dellagrecia. Meepagala y Purcaro, 2009). Desde el punto de vista fitoquímico son pocos los estudios reportados, esta planta ha sido utilizada tradicionalmente en algunos países latinoamericanos por su actividad antiparasitaria, antiviral y citotóxica (Weniger, Valentin, Byung-Hun, Estrada, Lobstein, Maille y Sauvain, 2001).

Bases Teóricas

Familia Rutaceae

La familia Rutaceae abarca un gran número de géneros y especies. De los cuales podemos mencionar: *Citrus*, *Poncirus* y *Fortunella* son los géneros más explotados comercialmente a nivel mundial, sin embargo, hay otros menos abordados, como el género *Swinglea*. Según Swingle y Reece (1967), esta familia se encuentra ubicada en el orden Sapindales, comprende cerca de 140 géneros y más de 1600 especies de varios tamaños distribuidas en zonas templadas y tropicales de ambos hemisferios, siendo estas más numerosas en Sudamérica, Sur África y Australia; incluye formas biológicas arbóreas, arbustivas y herbáceas. Además dentro de esta familia nos encontramos en su mayoría con especies leñosas, caracterizadas por la presencia de glándulas odoríferas que contienen aceites esenciales fuertemente aromáticos, empleados en perfumería (Miranda, 2000).

De acuerdo a su taxonomía, se caracteriza porque tienen las hojas simples, a veces divididas en segmentos muy numerosos o compuestas, en las cuales suelen hallarse bolsitas de esencia, que vistas las hojas a contraluz, aparecen como puntos claros y semejan estar perforadas. Las flores tienen el cáliz y la corola de 4 o 5 piezas y los estambres están comúnmente en un número doble, es decir, 8 o 10, a veces en mayor número y con los filamentos soldados en grupos, como en el género de los naranjos y los limoneros. El pistilo se asienta sobre una especie de disco basal más o menos grueso y el fruto forma de 4 a 5 cavidades, o hasta 10 en los limones y naranjas; puede ser seco y abridero, como en las Rudas y Dictamos, o carnoso e indehiscente como en el género *Citrus*. Otra de las características de las especies de esta familia es que poseen aceites

esenciales en diferentes órganos, en la corteza del tallo, en las hojas, en las flores y en los frutos (Coy, Cuca y Quintero, 2013).

Las especies de una misma familia generalmente producen metabolitos secundarios como alcaloides, estos se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, ya que, abundan en tejidos de intensa actividad celular como hojas, raíces, semillas; existen variaciones que van a depender de factores como método de cultivo, condiciones del suelo, madurez, variaciones estacionales etc (Marcano y Hasegawa, 2002).

A nivel farmacológico existen variedades de plantas que se utilizan con fines medicinales, gracias a los principios activos presentes en la gran mayoría de estas, estudios han confirmado que los aceites y extractos obtenidos de mandarina, naranja y toronja mostraron tener actividad antibacteriana contra cepas bacterianas de: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella* spp., entre otras (Dabbah, Edwards y Motas, 1970).

La familia Rutaceae se caracteriza por la presencia de diferentes tipos de metabolitos secundarios dentro de su ruta biosintética. En los cuales se destacan alcaloides provenientes del ácido antraquinólico (figura 1) (Waterman, 2007).

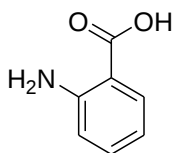


Figura 1. Estructura química del Ácido Antraquinólico

Entre otros metabolitos encontrados dentro de esta familia destacan las cumarinas, cromanos, flavonoides, lignanos, limonoides, terpenos, aceites esenciales, así como otros productos de menor importancia para la familia, debido a los escasos reportes que se tienen de estos, como son ácido

benzoico y sus derivados, cinámico, etc., y arilcetonas (Coy, Cuca y Quintero, 2013). Dichos principios activos han presentado un amplio espectro de actividades biológicas, estudios mostraron que los alcaloides acridónicos presentan actividad contra *P. falciparum* (Weniger y cols., 2001), también se le atribuye a estos compuestos acción antiviral (Kawaii y cols., 1999), así como efecto citotóxico sobre líneas celulares cancerosas (Chaya, Terauchi, Yamagata, Kinjo y Okabe, 2004).

Género *Swinglea*

Este género posee una sola especie: *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr. (Jiménez, Pérez, Hernández, Fuentes y Velásquez, 2015). A continuación en la tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica de la *S. glutinosa*:

Reino: Plantae	
Phyllum: Magnoliophyta	
Clase: Magnoliopsida	
Orden: Sapindales	
Familia: Rutaceae	
Género: <i>Swinglea</i>	
Especie: <i>Swinglea glutinosa</i> (Blanco) Merr.	
Variedad: Merr	
Nombre Botánico: <i>Swinglea glutinosa</i> Merr.	

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Swinglea glutinosa*, según la página Trópicos.org.com

Especie *Swinglea glutinosa*

Es un arbusto nativo del sur oeste de Asia, introducido y cultivado en Colombia para hacer cercas vivas, aunque esta planta no es autóctona, se ha adaptado muy bien a las condiciones geobotánicas del país. Es un pequeño arbusto no maderable perteneciente a la familia Rutaceae, posee una copa semicircular, presentando un porte medio entre 6 y 8 m de altura y un diámetro promedio de 6 y 7 m, con grandes espinas, follaje de color verde brillante y abundante, compacto, con flores blancas, su fruto presenta un tamaño promedio entre 10 y 12 cm de largo, el cual no es comestible (Swingle y Reece, 1967), sus hojas son trifoliadas, alternas, lanceoladas emarginadas, brillosas, siendo la central grande, espinas finamente pubescentes una o dos por axilas de las hojas especialmente en brotes jóvenes vigorosos, los brotes florales frecuentemente sin espinas (figura 2) (Jiménez y cols., 2015).



Figura 2. *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr.

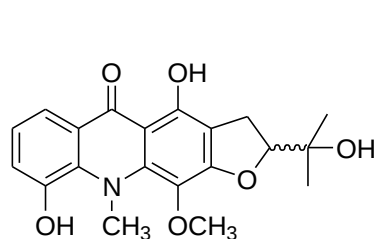
Fuente: Conde y Rodríguez (2020).

Se han reportado estudios que indican que los extractos de tallos, hojas y flores de la *S. glutinosa* han sido empleados como biofungicidas y como herbicidas para las plantas arvenses, mostrando actividad a diferentes concentraciones 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 y 5,0 % v/v demostrando que el extracto de *Swinglea* inhibió la germinación y disminuyó la longitud radicular de las arvenses cuando se aplicó en las semillas a la concentración más baja (0,5%) (Gil y cols., 2010).

Por otra parte, hay diversas investigaciones relacionadas con el aislamiento de metabolitos secundarios a partir de los extractos metanólicos obtenidos de la corteza de los tallos de *S. glutinosa*, en los cuales se han obtenido alcaloides de tipo acridónicos, los cuales han sido ensayados sobre cepas de *Plasmodium falciparum*, reportándose actividad inhibitoria protozoaria, así como actividad citotóxica sobre líneas celulares HeLa (Weniger, Valentin, Byung-Hun, Estrada, Lobstein, Maille y Sauvain, 2001).

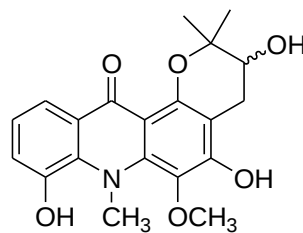
De igual modo, en otro estudio realizado con el extracto metanólico de los tallos de *S. glutinosa* se aislaron e identificaron compuestos acridónicos, los cuales fueron evaluados contra cepas *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei rhodesiense* y *Leishmania donovani*, dichos estudios se llevaron a cabo para determinar el grado de toxicidad de las sustancias activas contra estos parásitos. Ninguno de los ensayos mostro actividad contra *L. donovani*, obteniéndose resultados positivos para el resto de los parásitos observados. Este hecho también fue reportado por Weniger y cols, demostrando que estos compuestos poseen un amplio espectro de actividad biológica. A continuación en la figura 3 se muestran algunos alcaloides acridónicos aislados de los tallos de *S. glutinosa* e identificados como 2,3-dihidro-4,9-dihidroxi-2-(2-hidroxipropan-2-il)-11-metoxi-10-metilfuro[3,2-β]-acridin-5(10H)-ona (**1**) y 3,4-dihidro-3,5,8-trihidroxi-6-metoxi-2,2,7-trimetil-2H-pirano[2,3-α]-acridin-12(7H)-ona (**2**) (Dos santos, Vieira, Da Silva, Fernandes, Rattray y Croft, 2009).

Figura 3. Alcaloides acridónicos aislados de tallos de *S. glutinosa*



1

2,3-dihidro-4,9-dihidroxi-2-(2-hidroxipropan-2-il)-11-metoxi-10-metilfuro[3,2-b]acridin-5(10H)-ona

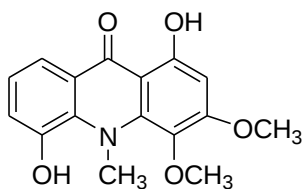


2

3,4-dihidro-3,5,8-trihidroxi-6-metoxi-2,2,7-trimetil-2H-pirano[2,3-a]acridin-12(7H)-ona

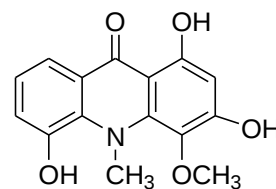
Estudios más recientes han reportado la presencia de alcaloides acridónicos (**3,4**), fenilacrilamidas (**5-8**), y flavonoides (**9**) los cuales han sido aislados e identificados a partir del extracto hexanóico de los tallos de *S. glutinosa* (Calheiro, De Camillis, Ribeiro, Fernandes, De Medeiros y Moura, 2020). A continuación en la figura 4 se mencionan algunos compuestos identificados en la especie *S. glutinosa*.

Figura 4. Compuestos químicos aislados a partir del extracto de los tallos de *S. glutinosa*



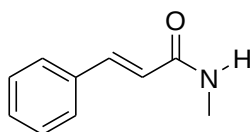
3

Citruscinina-I



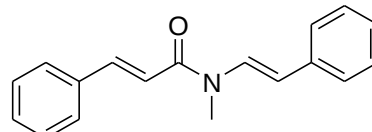
4

Citruscinina-II



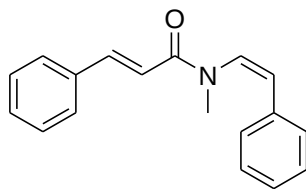
5

(E)-N-metilcinnamamida [(E)-N-metilfenilacrilamida]



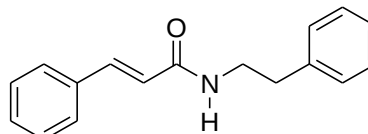
6

Lansamida I



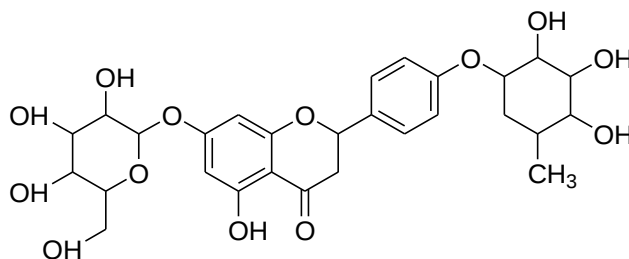
7

Lansiumamida B



8

N-(2-pheniletil)cinnamamida

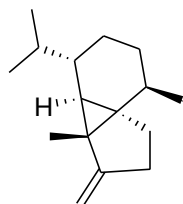


9

5-hidroxi-7-[3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]-oxi-2-[4-(3,4,5-trihidroxi-6-metoxoxan-2-il)oxifenil]cromen-4-ona

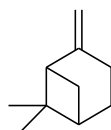
www.bdigital.ula.ve

Díaz, Arrázola, Ortega y Gaviria, (2005) identificaron 14 componentes en los aceites esenciales obtenidos de la corteza de los frutos de *S. glutinosa* entre los que destacaron según su orden de abundancia β -cubebeno (**10**), β -pineno (**11**), elixeno (**12**), β -cariofileno (**13**), β -felandreno (**14**), α -pineno (**15**), D-limoneno (**16**) y anisol (**17**) (figura 5). Algunas estructuras de los compuestos aislados se pueden observar a continuación:



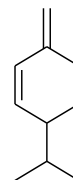
β – cubebeno

10



β – Pineno

11



β -Felandreno

14

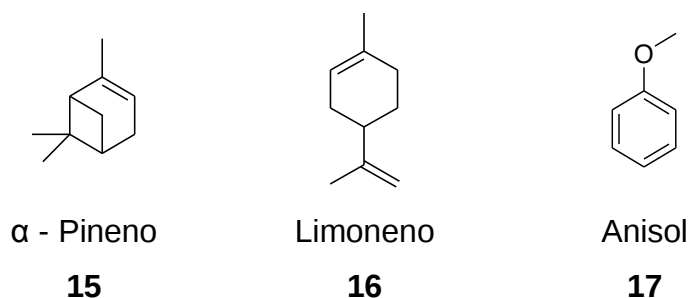


Figura 5. Compuestos químicos aislados a partir de la corteza de los frutos *S. glutinosa*.

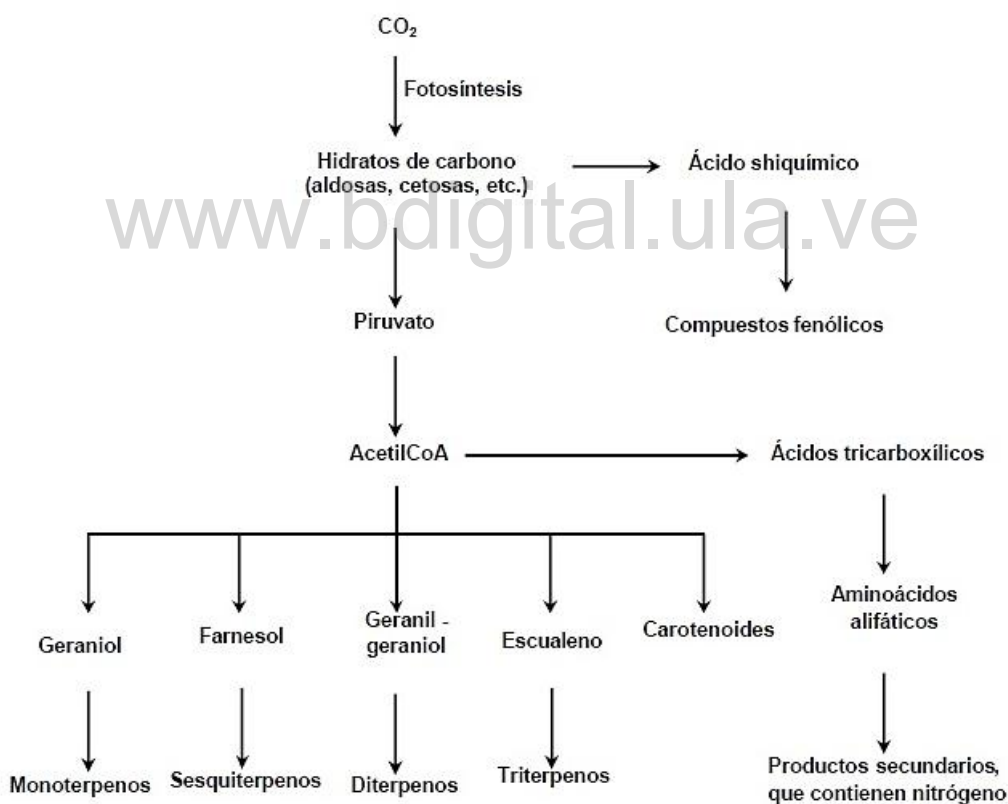
Productos Naturales

Desde la antigüedad el ser humano ya utilizaba los extractos de las plantas para fines terapéuticos, a las cuales se le atribuían propiedades curativas, conocimientos que fueron transmitidos de generación en generación a lo largo del tiempo, lo que nos ha permitido elaborar nuevas estrategias en los tratamientos terapéuticos. Los seres vivos son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos químicos que se definen como “productos naturales o metabolitos secundarios”, son aquellos que en la mayoría de los casos no tienen mayor importancia o utilidad para el ser que lo sintetiza, a diferencia de los metabolitos primarios que presentan una utilidad definida y que son comunes para los seres vivos como: carbohidratos, lípidos y las proteínas. Es por ello que la Fitoquímica comprende el estudio de estos metabolitos secundarios de origen vegetal, los cuales muchas veces presentan propiedades biológicas y se destacan por la diversidad de usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, perfumes entre otros (Marcano y Hasegawa, 2002). Se clasifican en:

Metabolitos primarios: son aquellos compuestos sintetizados por las plantas y que son básicos para su metabolismo, por consiguiente no forman parte en la transformación bioquímicas comunes (Albornoz, 1980).

Metabolitos secundarios: son propios de una especie, se le conoce también como productos químicos y en la mayoría de los casos no tienen utilidad aparente para el ser que lo sintetiza (Marcano y Hasegawa, 2002).

Las rutas biosintéticas se dividen en tres grande grupos: Compuestos que tienen nitrógeno, terpenos y sustancias fenólicas (esquema 1). Se muestran las diferentes rutas de los metabolitos secundarios (Valdés y Balbín, 2000).



Esquema 1. Biosíntesis de los metabolitos secundarios.

Fuente: Valdés y Balbín, 2000

Algunas plantas producen metabolitos secundarios mediante rutas biosintéticas mixtas como es el caso de compuestos fenólicos conteniendo unidades terpénicas en su estructura los cuales provienen de la ruta del ácido shikímico y de la ruta del ácido mevalónico, respectivamente, mientras los terpenoides derivan del isopentenil difosfato por medio de la ruta del ácido mevalónico (Valdés y Balbín, 2000).

Extractos vegetales

Durante la elaboración de medicamentos a base de material vegetal es necesario tomar en cuenta que existen diferentes métodos para extraer los principios activos presentes en las plantas, los cuales necesitan de un líquido extractivo (etanol, hexano, éter) que va a depender del procedimiento técnico y de la naturaleza química del principio activo. A continuación se mencionan algunos métodos de extracción y fraccionamiento (Marcano y Hasegawa, 2002):

La elección del método ideal dependerá fundamentalmente de nuestro objetivo de estudio en la planta.

1. Métodos fríos de extracción y purificación, si se desea aislar materiales sensibles al calor.
2. Para el aislamiento de sustancias para comprobar la actividad biológica es necesario realizar la extracción del material vegetal en agua o con una solución isotónica de (0,9% NaCl).
3. Si se desconoce la naturaleza química de las sustancias que se desea aislar se realizan extracciones y fraccionamientos “Gruesos” y las técnicas se van a seleccionar dependiendo de las observaciones

sobre la marcha, algunos métodos de extracción ya conocidos los podemos agrupar:

- Percolación en frío o en caliente
- Extracción por digestión o reflujo
- Extracción continua o Soxhlet

Los solventes a utilizar pueden ser soluciones diluidas de ácidos o de bases, solventes orgánicos de bajo punto de ebullición (alcohol, acetato de etilo) y baja reactividad (Marcano y Hasegawa, 2002).

El método utilizado en esta investigación fue la extracción por digestión, su fundamento según Domínguez (1973) consiste en una maceración realizada a una temperatura media que oscila alrededor de los 50 o 60° C. Al aumentar progresivamente la temperatura se consigue un mayor rendimiento de la extracción, puesto que disminuye la viscosidad del solvente lo que hace que éste pueda ingresar más rápidamente al interior de las células y así extraer los principios activos.

Análisis fitoquímico preliminar

Comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal y la metodología que se sigue depende de los objetivos de tales estudios. Dentro de estos ensayos se incluyen ciertas etapas tales como; pruebas químicas de campo, en las cuales se recomienda un “kit de pruebas” durante la recolección, ya que permite hacer los exámenes en muestras recién cosechadas. Los resultados en el campo no son reproducibles en el laboratorio, cuando el material vegetal no es fresco, como consecuencia de la descomposición promovida por enzimas presentes en el vegetal y pruebas químicas de laboratorio, son pruebas rápidas de laboratorio, las cuales permiten decidir cuál es la mejor estrategia de separación (Marcano y

Hasegawa, 2002). Entre los metabolitos que se identifican a partir de estas pruebas tenemos:

- a. **Alcaloides:** debido a la basicidad de los alcaloides, ellos tienen la propiedad de formar precipitados con soluciones de varios ácidos de metales pesados, como silicotúngstico, cloroplatínico, fosfomolibdico, por lo cual su presencia en los extractos de plantas puede determinarse mediante los siguientes ensayos:
 - Ensayo de Dragendorff: determina la presencia de alcaloides y aminas terciarias y los alcaloides se detecta por la formación de un precipitado naranja rojizo cuando se le adiciona el reactivo a una solución ácida de alcaloides. Este precipitado es un compuesto de coordinación que está formado por tres moléculas de alcaloides en coordinación electrostática con el bismuto del reactivo de Dragendorff (Quiñones, 2012).
 - Ensayo de Wagner: parte del iodo-ioduro de potasio, reacciona con el alcaloide para formar el ioduro doble de alcaloide dando como resultado positivo un precipitado color café (Quiñones, 2012).
 - Ensayo de Mayer: este reactivo precipita la mayoría de los alcaloides en medio ácido, favoreciendo la formación de precipitados cristalinos de color blanco, cuando el Yoduro de potasio reacciona con el cloruro de mercurio forma un precipitado rojo de yoduro de mercurio, el cual es soluble en exceso de iones de yoduro dando la formación de un anión complejo incoloro. (Domínguez, 1973).
- b. **Compuestos fenólicos:** se identifican por la prueba con FeCl_3 (1%), el ion cloruro ataca al hidrógeno del grupo hidróxido provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenóxido al Fe^{+3} , formando un

complejo coloreado. Los fenoles dan prueba positiva al cambiar el color a negro verdoso o azulado (Marcano y Hasegawa, 2002).

- c. **Saponinas:** son un grupo de glicósidos que se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de esta; por lo tanto, al agitar sus soluciones, se forma una espuma abundante y estable en el tiempo (Domínguez, 1973).
- d. **Esteroles:** se determinan mediante la prueba de Liebermann-Burchard, que consiste en una reacción donde el esteroide se oxida por la presencia de 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, habiendo una pérdida de agua y obteniéndose el ion carbonio 3,5 colestadieno que constituye la primera parte para la formación del color, la evidencia de colores azul, verde, rojo, los que cambian con el tiempo se consideran prueba positiva, como se observa en la figura 6 (Domínguez, 1973).

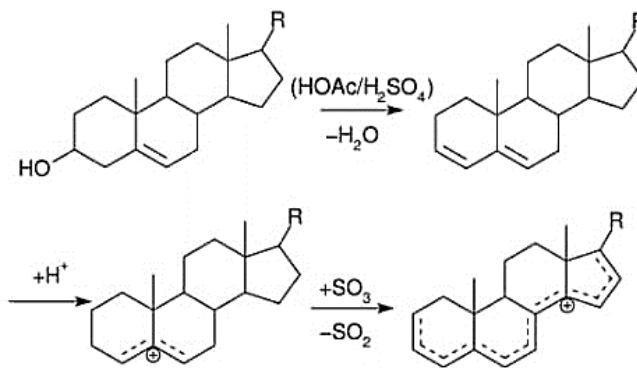


Figura 6. Reacción de Liebermann-Burchard

- e. **Flavonoides:** la identificación se realiza por medio de la prueba de Shinoda; en la cual la reacción del magnesio y unas pocas gotas de ácido clorhídrico concentrado, reducen el flavonoide generando un producto coloreado que va del rojo anaranjado al violeta (Domínguez, 1973).
- f. **Cumarinas:** se realiza la prueba con NH_4OH , que se fundamenta en la apertura y solubilización en medio básico. La mayoría de las cumarinas poseen fluorescencia azul cuando se les expone a la luz ultravioleta (UV) (Domínguez, 1973).
- g. **Taninos:** se determinan mediante la prueba de la gelatina que consiste en la formación de un precipitado ya que los taninos tienen la propiedad de reaccionar con las proteínas formando compuestos insolubles (Domínguez, 1973).
- h. **Quinonas:** se identifican por medio de la prueba de NH_4OH concentrado, se fundamenta en la hidrólisis de los enlaces glicosídicos y se produce una oxidación de las antronas y las antranoles hasta antraquinonas generando la formación de complejos color rojo (Domínguez, 1973).

Generalidades de las Bacterias

Son microorganismos procariotas universalmente distribuidas, algunas de gran importancia médica o industrial, entre las características principales tenemos:

- Pueden tener forma esférica, bacilar o espiral, son unicelulares
- Se reproducen asexualmente por fisión binaria.

- Pueden ser fotosintéticas o no.
- Pueden ser inmóviles o móviles mediante flagelos (Barrios, 1988).

Las bacterias se clasifican principalmente basándose en las características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y tintoriales, esta última proviene de la reacción a la coloración de Gram, prueba ampliamente empleada para diferenciar a estos microorganismos. Según las características tintoriales se pueden dividir en dos grupos. Dichas diferencias se pueden observar en la figura 7 (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009)

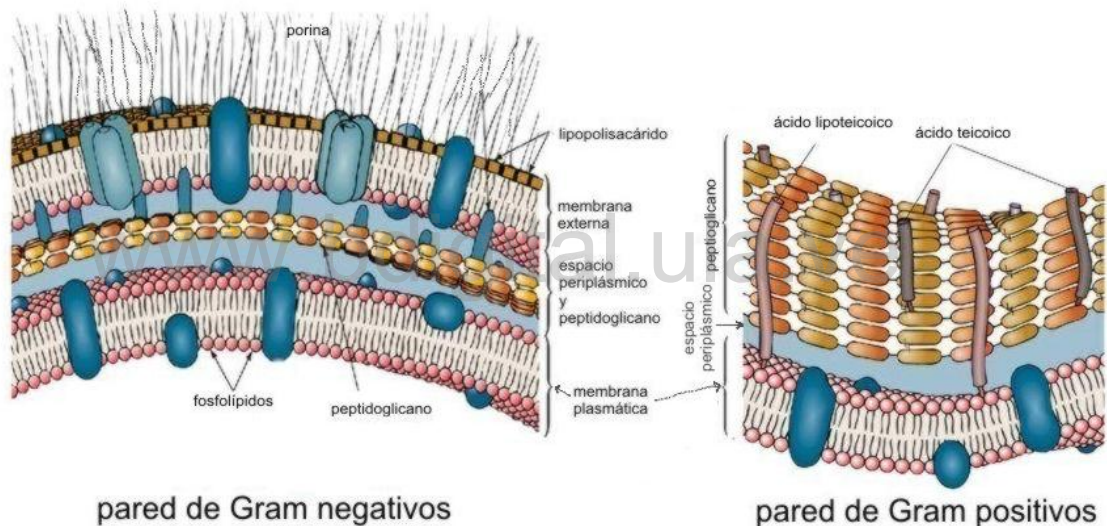


Figura 7. Clasificación de las Bacterias según la composición de su pared celular.

Fuente: Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009

Bacterias grampositivas

La mayoría de las bacterias grampositivas están compuestas por varias capas de peptidoglicano o mureina que conforman una estructura gruesa y rígida. Además, la pared de las bacterias grampositivas contiene ácidos teicoicos, que están compuestos principalmente por un alcohol y fosfatos (Tortora, Funk y Casel, 2007).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus es un coco grampositivo grande (1 micra de diámetro) que crece en colonias similares a racimos de uvas, tienen una estructura grampositiva típica, en cuanto a su pared celular, son no flagelados, no móviles y no forman esporas, se desarrollan mejor en condiciones aeróbicas, pero son anaerobios facultativos y producen catalasa. (Kenneth y Ray, 2011). El género *Staphylococcus* figura entre las bacterias patógenas más importantes para el ser humano y son habitantes normales de las vías respiratorias superiores, la piel, el intestino y la vagina. Pueden dividirse en cepas patógenas y relativamente no patógenas, basándose en la síntesis de la enzima coagulasa (Prescott, Harley y Klein, 1999).

Enterococcus faecalis

Son cocos pequeños de 0,8 a 1 micra de diámetro, con disposición variable desde cocos en cadenas, hasta aislados o en diplococos, la mayoría son capsulados, no forman esporas y raramente producen pigmentos, no tienen cilios. Se pueden clasificar basándose en su poder de fermentación,

forma de agruparse o su acción hemolítica; así bien, *Enterococcus faecalis* se clasifica como no hemolítico. Esta especie se encuentra en las heces humanas, productos lácteos y puede producir endocarditis lenta y enfermedades gastrointestinales (Paraje y Paraje, 1976).

Bacterias gramnegativas

La pared de las bacterias gramnegativas está compuesta por una capa de peptidoglicano fina y una membrana externa. El peptidoglicano está unido a la lipoproteína de la membrana externa y se encuentra en el periplasma, una sustancia gelatinosa localizada entre la membrana externa y la membrana plasmática. La pared celular de las bacterias gramnegativas no contiene ácidos teicoicos y el hecho de que contenga una escasa cantidad de peptidoglicano aumenta su susceptibilidad a la ruptura mecánica (Tortora y cols., 2007).

Escherichia coli

Uno de los principales agente causantes de diarreas es *E. coli*, esta bacteria circula en la población residente, normalmente sin causar síntomas a causa de la inmunidad proporcionada por la exposición previa a ésta (Prescott y cols., 1999).

Según Murray, Rosenthal y Pfaller, (2009), son bacilos cortos gramnegativos, anaerobios facultativos, móviles o inmóviles, fermentadores y oxidasa negativo. Existen diferentes especies, en las cuales la *Escherichia coli* es la más frecuente. Se asocia con una variedad de enfermedades como septicemia, infecciones del tracto urinario, meningitis y gastroenteritis.

Klebsiella pneumoniae

Generalmente se presenta como cocobacilos, rodeados de una capsula grande, son inmóviles y no esporulados. Están especialmente asociados a procesos respiratorios, pudiendo ocasionar faringitis, sinusitis, pleuresías y ciertos tipos de neumonías graves; también pueden originar infecciones genitourinarias, meningitis, peritonitis, diarreas en niños y septicemias. Su importancia clínica radica en su gran resistencia a los antibióticos (Paraje y Paraje, 1976).

Pseudomonas aeruginosa

Es un bacilo chico de 1 a 2 micras, generalmente recto, no forma espora ni capsula, es móvil por poseer un flagelo terminal. Se caracterizan por producir uno o más pigmentos como la piocianina y el pigmento eritrogénico. Las infecciones por *Pseudomonas* adquieren cada vez más importancia, especialmente en ambiente hospitalario. *Pseudomonas aeruginosa* es de escasa virulencia en personas sanas, pero en personas inmunosuprimidas las infecciones se producen con facilidad; El problema de las infecciones por *Pseudomonas* es cada vez más alarmante, en especial si se tiene en cuenta su alta resistencia a los antibióticos (Paraje y Paraje, 1976).

Resistencia a los antimicrobianos

Los microorganismos resistentes son inmunes a los efectos de los antimicrobianos, como los antibióticos, de modo que los tratamientos habituales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten y pueden transmitirse a otras personas, la resistencia es una consecuencia del uso de los antimicrobianos, y en particular de su abuso, y surge por mutación del microorganismo o adquisición de genes de resistencia (Jawetz, Melnick y Adelberg, 2011).

Existen numerosos mecanismos a través de los cuales el microorganismo adquiere resistencia a los fármacos:

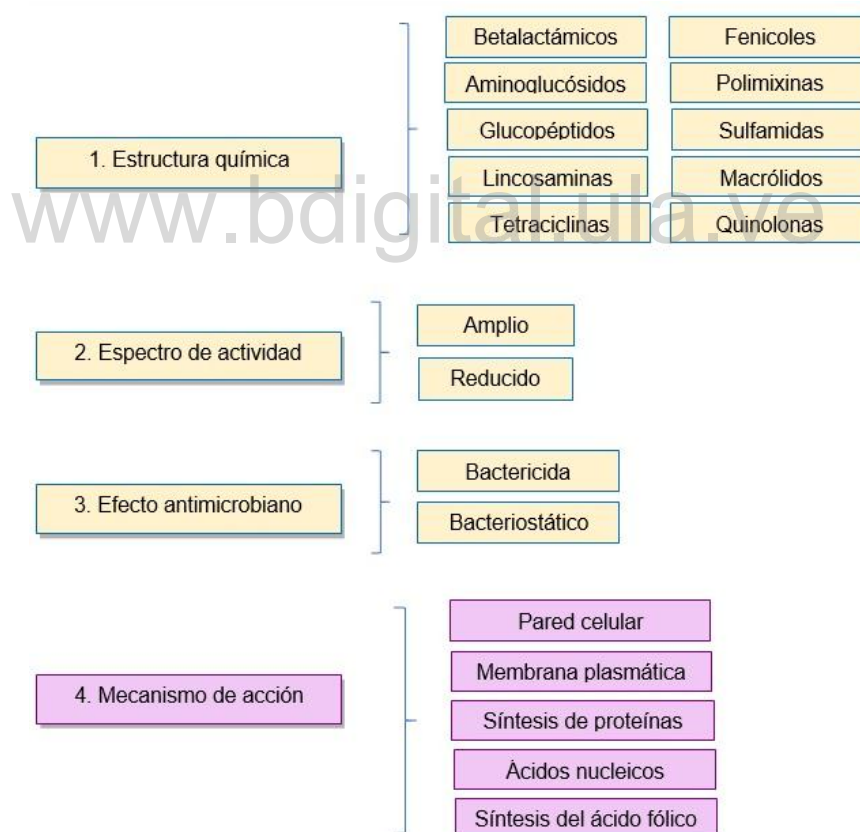
- Los microorganismos producen una enzima que destruye al fármaco activo.
- Los microorganismos cambian su permeabilidad al fármaco.
- Modificación del sitio de unión del antimicrobiano se traduce en una pérdida de la afinidad y por tanto lo imposibilita para realizar la destrucción del microorganismo. Esta mutación se puede dar a nivel de los ribosomas
- Alteración de la vía metabólica se da en bacterias resistentes a sulfonamidas no requieren del PABA para la síntesis del ácido fólico.
- Inactivación o modificación, el principal mecanismo de inactivación es la hidrólisis, como sucede con las betalactamasas y los betalactámicos, pero también pueden ocurrir modificaciones no hidrolíticas tales como las acetilaciones, adenilaciones o fosforilaciones inactivantes de aminoglucósidos (Jawetz y cols., 2011).

La resistencia puede tener origen genético, puede ser cromosómica y está dada por una mutación espontánea que regula la sensibilidad a un determinado antimicrobiano, las bacterias contienen elementos genéticos extra cromosómicos llamados plásmidos estos regulan la formación de enzimas para la destrucción de antimicrobianos. La resistencia cruzada, los microorganismos que son resistentes a ciertos fármacos y son resistentes a otros fármacos por que comparten un mecanismo de acción común (Jawetz y cols., 2011).

www.bdigital.ula.ve

Antibióticos

Son compuestos relativamente sencillos producidos por bacterias u hongos que atacan específicamente a las bacterias. Interfieren en algún paso del metabolismo donde encuentran un blanco adecuado (Sánchez, 2006). Es decir suprimen el crecimiento de otros microorganismos o los destruyen. Además estos poseen un espectro de actividad, el cual se encuentra relacionado con la diversidad de microorganismos sensibles a la acción de un determinado antibiótico. De acuerdo con este, los antibióticos se pueden dividir en antibiótico de amplio espectro y antibiótico de espectro reducido. Su clasificación se muestra a continuación en el esquema 2:



Esquema 2. Clasificación de los Antibióticos.

Fuente: Sánchez, 2006

Mecanismos de acción de los antibióticos

Es el mecanismo por el cual un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana (figura 8). Se dividen en inhibidores de la síntesis de la pared celular, inhibidores de la función de la membrana celular, inhibidores de la síntesis proteica, inhibidores de la síntesis de ácido nucleico (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

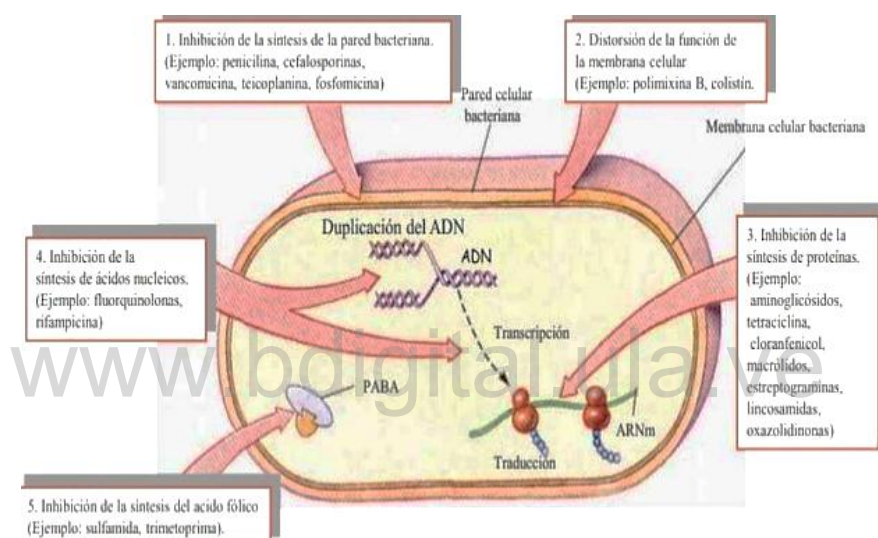


Figura 8. Mecanismo de acción bacteriano.

Fuente: <https://es.slideshare.net/HansJc/mecanismo-de-accion-de-los-antibioticos>

Inhibición de la síntesis de la pared celular: Su mecanismo de acción se encuentra en su anillo betalactámico, conocida como peptidoglicano o capa de mureína estos fármacos actúan inhibiendo la producción de peptidoglicanos, necesarios para la formación de la pared celular bacteriana la cual se debilita y rompe por acción de la presión osmótica del medio del huésped. Este mecanismo de acción bactericida interfiere en el último paso de la síntesis de la pared celular, inactivando las proteínas presentes en la

membrana celular de la pared bacteriana: proteína ligada de penicilina (PBP) la ausencia de receptores de la penicilina (PBP) por causa de mutación cromosómica (Forbes y cols., 2009).

Inhibición de la función de la membrana celular: Actúa como un detergente que penetra la membrana y la rompe, un ejemplo de esto son las polimixinas (antibióticos) constan de péptidos cíclicos similares a detergentes que dañan de manera selectiva a las membranas que contienen fosfatidiletanolamina, perteneciente a las membranas bacterianas. Son antibióticos que interfieren específicamente con la biosíntesis de las membranas citoplasmáticas, son el ácido nalidíxico y la novobiocina. Inhiben la síntesis de ADN y la novobiocina inhibe también la síntesis de ácido teicoico (Forbes y cols., 2009).

Inhibición de la síntesis de proteínas: Los antibióticos que inhiben la síntesis de proteína, mayormente pertenecen al grupo de los aminoglucósidos, estos actúan sobre la subunidad 30S, al unirse de forma irreversible al ribosoma bacteriano, produciendo proteínas bacteriana defectuosas, estos interfieren con la lectura correcta del código génico, bloqueando totalmente la síntesis de proteína, por otra parte hay antibióticos que actúan sobre la subunidad 50S, bloqueando la translocación, y obstruyendo la parte de transferencia (Olcina, 2008).

Inhibidores de la Síntesis de Ácido Nucleico: Existen tres posibles mecanismos por los que los antibióticos pueden modificar la síntesis de los ácidos nucleicos: interfiriendo en la replicación del ADN, impidiendo la transcripción, inhibiendo la síntesis de metabolitos esenciales. La Rifampicina (ARN-polimerasa ADN-dependiente) actúa inhibiendo la síntesis

de ARN bacteriano, mediante la inhibición de la enzima ARN polimerasa (Paredes y Rocas, 2004).

Las quinolonas actúan sobre la replicación del ADN bacteriano inhibiendo la acción de la ADN-girasa (Topoisomerasa II) y la Topoisomerasa IV, que se encarga del superenrollamiento de la molécula de ADN y la separación de las cadenas de la doble hélice durante la replicación bacteriana (Paredes y Rocas, 2004).

Las Sulfamidas inhiben la incorporación de PABA (ácido *p*-aminobenzoico), la formación de ácido fólico. Las Diaminopirimidinas, inhibe competitivamente la enzima, dihidrofolato reductasa, e impide el paso de ácido fólico a folínico, impidiendo así la síntesis de ADN y ARN (Paredes y Rocas, 2004).

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se utiliza para evaluar la actividad inhibitoria de una planta o sus derivados, la potencia de un compuesto a la susceptibilidad de un microorganismo a concentraciones conocidas (Cruz, Gómez, García, Álvarez, Cáceres y Morales, 2006). Esta actividad biológica puede variar desde la inhibición completa o parcial del crecimiento microbiano hasta la acción bactericida o fungicida (Maguna, Romero, Garro y Okulik, 2006).

La medición de esta actividad puede hacerse por métodos de difusión y dilución, entre otros el método de difusión se usa como un procedimiento cualitativo, semicuantitativo y a veces cuantitativo. El método de dilución se usa para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) que se

requiere del agente antimicrobiano para inhibir o matar al microorganismo (Cruz y cols., 2006).

Técnica para determinar la actividad antibacteriana

La sensibilidad de una bacteria patógena a un antimicrobiano se determina por métodos estandarizados que regule todos los factores que repercuten en la actividad antibacteriana, utilizando el microorganismo de prueba correcto y una muestra conocida del fármaco para fines de comparación, estos métodos se utilizan para establecer la potencia del antibiótico en la muestra o la sensibilidad del microorganismo (Cruz, y cols., 2006). Entre ellos podemos mencionar:

Método de difusión en agar

En la actualidad, la prueba de difusión en agar más empleada es el método de Kirby - Bauer, que fue desarrollado a principios de la década de 1960 por William Kirby A.W. Bauer y sus colaboradores en la Washington Medical School. Es llamado técnica de Kirby-Bauer, y se basa en la inhibición del crecimiento del microorganismo alrededor de un disco de papel del filtro el cual se encuentra impregnado con cantidades conocidas de los agentes antimicrobianos, este método también permite medir la CMI (Prescott, Harley y Klein, 2004). Esta técnica consiste en la siembra de la bacteria en la superficie de una placa con un medio de cultivo, sobre él se depositan los discos de papel impregnados de la sustancia a ensayar, los cuales difunden casi instantáneamente a través del agar, formándose un gradiente de concentración del mismo alrededor del disco. Posteriormente, se lleva a incubar a 37°C durante 18 horas, se observar la presencia o no de halos de inhibición (Prats, 2005).

Método de dilución en caldo

Esta prueba se puede utilizar para determinar la CMI. Consiste en la preparación de una serie de tubos de caldo de cultivo (Caldo de Mueller Hinton) que contiene concentraciones de antibióticos entre 0,1 y 128 ug/mL y se inocula con cantidades estándar del microorganismo objeto de la prueba. La concentración mínima de antibiótico a la que no se produce crecimiento del germen tras 16 a 20 h de incubación es la CMI (Prescott y cols., 2004).

Método de dilución en agar

En este método las concentraciones de antimicrobianos y los microorganismos por probar, se reúnen en un medio sólido y no en un caldo, luego son llevadas a incubación. Posteriormente de la incubación, las placas se examinan en busca de crecimiento, y la concentración mínima inhibitoria (CMI) es la concentración más baja de un agente antimicrobiano presente en el agar que inhibe por completo el crecimiento visible (Forbes y cols., 2009).

www.bdigital.ula.ve

Definición de Términos

Actividad antibacteriana: La actividad antibacteriana se utiliza para evaluar la actividad inhibitoria, la potencia de un compuesto a la susceptibilidad de un microorganismo a concentraciones conocidas (Cruz y cols., 2006).

Antibiótico: Son compuestos producidos por bacterias u hongos que tiene la capacidad de suprimir el crecimiento de otros microorganismos (Sánchez, 2006)

Concentración mínima inhibitoria: Es la concentración mínima inhibitoria (CMI) que se requiere del agente antimicrobiano para inhibir o matar al microorganismo (Cruz y cols., 2006).

Fitoquímica: Comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal y la metodología que se sigue depende de los objetivos de tales estudios (Marcano y Hasegawa, 2002)

HeLa: Son un tipo particular de células de cultivo celular usadas en investigaciones científicas (Fuentes y Ochoa, 2011)

PABA: Sus siglas en inglés (PABA) Es un compuesto orgánico también conocido Acido p-aminobenzoico (Paredes y Rocas, 2004)

Metabolitos secundarios: Se define como producto natural o metabolito secundario, son productos químicos que son propios de una especie, en cuyo mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza (Marcano y Hasegawa, 2002)

Operacionalización de las Variables

A continuación, se describen dos variables: La variable independiente, relacionada con la composición química de los extractos de la especie *Swinglea glutinosa* (tabla 2) y la variable dependiente relacionada con la actividad antibacteriana de los extractos de la especie *S. glutinosa* (tabla 3).

Tabla 2. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de la especie *Swinglea glutinosa*.

1.Variable	2.Tipo de variable	3.Definición Conceptual ¿Qué es?
Composición química de los extractos de la especie <i>Swinglea glutinosa</i>	Independiente Cualitativa	Metabolito secundario, aquel que es propio de una especie, se le conoce también como producto químico, 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.	Presencia y ausencia de: -Alcaloides. -Esteroles y/o triterpenos. -Saponinas. -Compuestos fenólicos. -Taninos. -Flavonoides. -Quinonas -Cumarinas.	- Alcaloides: Aparición de turbidez o precipitados. - Esteroles y/o triterpenos: coloración verde para esteroles; coloración rojo para triterpenos. - Formación de 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. - Quinonas: coloración roja. - Cumarinas: fluorescencia azul.

Fuente: Cordero, Pérez, Conde y Rodríguez, (2020).

Tabla 3. Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antibacteriana de los extractos de la especie *Swinglea glutinosa*.

1.Variable	2.Tipo de variable	3.Definición Conceptual ¿Qué es?
Actividad antibacteriana de los extractos de la especie <i>Swinglea glutinosa</i>	Dependiente Cuantitativa	Se utiliza para evaluar la actividad inhibitoria de una planta o sus derivados, la potencia de un compuesto a la susceptibilidad de un microorganismo a concentraciones conocidas (Cruz y cols, 2006).
4.Definición operacional ¿Cómo se mide?	5.Dimensiones	6.Indicador
Método de difusión de disco 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	Presencia o ausencia del halo de inhibición expresado en mm.

Fuente: Cordero, Pérez, Conde y Rodríguez, (2020).

Hipótesis

Estudios previos realizados sobre *Swinglea glutinosa*, reportan que esta planta produce diversos metabolitos secundarios con actividad biológica, por lo cual es de esperar que los extractos hexanólicos y etanólicos obtenidos de los tallos de *S. glutinosa* posean actividad antibacteriana.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLOGICO

Tipo de Investigación

El tipo de investigación es confirmatoria; para Hurtado (2012) este tipo de investigación se caracteriza por la aplicación de estrategias y técnicas que permitan obtener el conocimiento que se busca; ya que, se establecerá causa- efecto de la composición de los extractos obtenidos de los tallos de *Swinglea glutinosa* sobre la actividad antibacteriana, frente a cepas grampositivas y gramnegativas.

Diseño de Investigación

El Diseño en una investigación representa el plan a seguir para dar respuestas a las variables mediante la aplicación de procedimientos a partir de los objetivos propuestos. En este caso Vara (2012) expresa que

Los diseños son planes y estrategias de investigación concebidos para obtener respuestas confiables a las preguntas de investigación. El diseño, entonces, plantea una serie de actividades sucesivas y organizadas, que deben adaptarse a las particularidades de cada tesis y que indican los pasos y pruebas a efectuar y las técnicas a utilizar para recolectar y analizar los datos (p.202).

En tal sentido, la investigación posee un diseño de campo y experimental, debido a que esta se encuentra sometida a dos fases: Una fase de campo en la que se realizó la recolección del material en estudio y una de laboratorio en la cual los extractos obtenidos de los tallos de *Swinglea glutinosa* fueron sometidos a diferentes condiciones, para así observar las diferentes reacciones que se produce en la determinación de la actividad antibacteriana frente a diversas cepas grampositivas y gramnegativas en estudio.

Población y Muestra

La población para Hurtado (2012) “se concibe como el conjunto de elementos, seres, eventos, concordantes entre sí en cuanto a una serie de características” (p.153), en este caso está identificada por la planta *Swinglea glutinosa*, ubicada en la Urbanización Campo Claro del Municipio Libertador del estado Mérida. Hurtado (2012) “la muestra es una porción de la población que se toma para realizar el estudio, es necesario observar cuales unidades serán observadas” (p.154), por tanto esta estuvo representada por 132,0 g de tallos secos de la especie *S. glutinosa*, perteneciente a la familia Rutaceae.

Sistema de Variables

Variable independiente: Composición química de los extractos de la especie *Swinglea glutinosa*

Variable dependiente: Actividad antibacteriana de los extractos de la especie *Swinglea glutinosa*.

Variable interviniente

Metodología utilizada en la preparación de los medios de cultivo, así como los materiales e instrumentos usados durante los ensayos.

Instrumento de Recolección de datos

Se emplearon tablas y fotografías, para registrar los resultados que indicaron la presencia o ausencia de los diferentes compuestos químicos en los extractos de la planta a través de reacciones fitoquímicas cualitativas. Así como, el estudio de la susceptibilidad o resistencia de los diferentes microorganismos, los cuales fueron determinados a través de la medición de los halos de inhibición obtenidos de los extractos de *Swinglea glutinosa* a una concentración de 10000 ppm.

www.bdigital.ula.ve

Metodología de la Investigación

Recolección de la planta: la muestra usada en el presente estudio, fue recolectada en la Urbanización Campo Claro del municipio Libertador del estado Mérida.

Preparación del material vegetal y obtención de los extractos: las partes aéreas (ramas y hojas) de *Swinglea glutinosa* fueron cortadas, se limpiaron, luego se procedió a la separación de las distintas partes como (tallos, hojas y frutos). Los tallos se secaron en la estufa a 40 °C, posteriormente fueron molidos. La preparación de los extractos se realizó por medio de la técnica de digestión o reflujo (figura 9), para lo cual se tomó el material vegetal seco (132,0 g) y fue sometido a extracción con 600 mL de hexano y luego con etanol, a una temperatura de 40 °C durante 1 hora, el líquido obtenido se filtró con papel filtro para cada uno de los solventes utilizados, obteniéndose

de esta manera un extracto hexanólico y un extracto etanólico, posteriormente cada uno de los extractos se concentró utilizando el rotavapor a una temperatura de 50°C hasta la sequedad (figura 10). Los extractos obtenidos fueron almacenados en frascos color ámbar, los cuales se secaron en la estufa y luego fueron almacenados a temperatura ambiente hasta el momento de utilizarlos.



Figura 9. Proceso de extracción por Reflujo de los tallos de *Swinglea glutinosa*



Figura 10. Filtrado y concentración de los extractos

Tamizaje Fitoquímico: las pruebas para determinar la composición fitoquímica, buscan caracterizar de manera cualitativa los componentes presentes en los extractos en estudio. Dichos análisis fueron evaluados de la siguiente manera:

Alcaloides: en 2 tubos se disolvió de 2 mg de cada extracto con 5 mL de HCl al 10 % para formar la sal de alcaloides, luego las soluciones se filtraron y al filtrado se adicionaron de 2 a 3 gotas de sales de metales pesados como el ioduro de potasio (reactivo de Dragendorff) y la sal del reactivo de Wagner, la positividad de la prueba se evidencia con la formación de un precipitado naranja y/o blanco respectivamente.

Esteroles y triterpenos: se determinaron mediante la prueba de Liebermann-Burchard, para lo cual se disolvió la muestra en cloroformo y se adicionó anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado, la aparición de un color verde es indicativo de esteroles y rojo de triterpenos.

Fenoles: se utilizó la prueba de FeCl_3 , se procedió a disolver 2 mg de la muestra en 1 mL de etanol y luego se añadió unas gotas de cloruro férrico al 5%, una coloración negra azulada o verdosa indica la positividad de la prueba.

Flavonoides: se efectuó la prueba de Shinoda, se disolvieron 2 mg de cada extracto en el solvente de origen, a ambos tubos se agregaron unas gotas de HCl concentrado y virutas de magnesio, la aparición de una coloración rojiza indica la presencia de dichos compuestos.

Quinonas: se disolvió 2 mg de cada extracto en el solvente de origen y se adicionó 0,5 mL de hidróxido de amonio concentrado en ambos tubos, la aparición de un color rojizo evidencia la positividad de la prueba.

Cumarinas: se disolvió 2 mg de cada extracto en el solvente de origen y se adicionó 0,5 mL de hidróxido de amonio concentrado en ambos tubos, luego se visualizaron bajo la lámpara de luz ultravioleta (UV), la fluorescencia azul indica la presencia de estos metabolitos.

Saponinas: en un tubo se colocó 2 mg del extracto etanólico se disolvió con 1 mL de agua y se agitó fuertemente, la formación de espuma que se mantiene por más de 30 minutos es indicio de la presencia de saponinas.

Taninos: la muestra (2 mg) se disolvió en agua y se adicionó a una solución de gelatina, la formación de un precipitado indica la positividad de la prueba.

www.bdigital.ula.ve

Actividad antibacteriana por el método de difusión de agar (Kirby-Bauer): se llevó a cabo mediante los siguientes pasos:

Obtención de los microorganismos: se seleccionaron 5 cepas bacterianas de referencia internacional pertenecientes a la Colección de Cultivos Tipo Americano cuyas siglas en inglés son ATCC (American Type Culture Collection), las cuales se utilizaron para comprobar la actividad antibacteriana de los extractos en estudio, grampositivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), gramnegativas: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

Preparación de los inóculos bacterianos: el ensayo se realizó a partir de una placa de cultivo de 18 horas de cada microorganismo en agar Mueller-Hinton a 37°C. Una vez obtenidas las cepas bacterianas frescas y purificadas, se preparó el inóculo bacteriano tomando una cantidad de las colonias de cada microorganismo con la ayuda de un asa en aro estéril y se suspendieron en solución salina fisiológica (NaCl al 0,85%) ajustándose a una turbidez del 0,5 de la escala de Mac Farland ($\times 10^{6-8}$ UFC/mL) (Prescott y cols., 2004).

Preparación del material para la actividad antibacteriana: se prepararon las placas con aproximadamente 20 mL de agar Mueller-Hinton, las cuales fueron esterilizadas previamente y por último se dejaron solidificar para su posterior uso.

Preparación de la muestra: se pesaron 10 mg del extracto en 1 mL de dimetilsulfoxido (DMSO) para obtener una solución de 10000 ppm para cada extracto.

Inoculación de las placas y Determinación de la actividad antibacteriana por el método de difusión de agar (Kirby – Bauer): se realizó la inoculación de las placas de agar Mueller-Hinton tomando un inóculo de cada bacteria y deslizando el hisopo impregnado por la placa, rotando la misma sin dejar ningún espacio libre, hasta lograr una siembra uniforme, se dejó secar. Posteriormente se colocaron en forma equidistante los discos de papel estériles de aproximadamente 6 mm, los cuales fueron impregnados con cada una de las soluciones de los extractos y sus respectivos controles tanto positivo como negativo. Para comprobar la sensibilidad de los microorganismos se utilizó como control positivo los siguientes antibióticos de uso comercial: Ampicilina (AMP), Eritomicina (ERI), Piperacilina (PIP), con el fin de inhibir el crecimiento bacteriano. El control negativo consistió en un disco de papel impregnado con dimetilsulfóxido (DMSO) el cual utilizamos para disolver la muestra. Se dejaron incubando por un lapso de 24 horas a 37°C.

Lectura de los halos de inhibición: Finalizado el tiempo de incubación, se llevó a cabo la lectura de los halos de inhibición los cuales fueron expresados en milímetros (mm).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Los tallos de *Swinglea glutinosa* fueron sometidos a un proceso de extracción por reflujo, obteniéndose 0,37 g de extracto hexanólico y 6,89 g del extracto etanólico, lo cual representa un rendimiento de 0,28 % y 5,22 % respectivamente, ambos presentaron un color marrón, aspecto condensado y olor característico.

Resultados de la composición química preliminar de los extractos

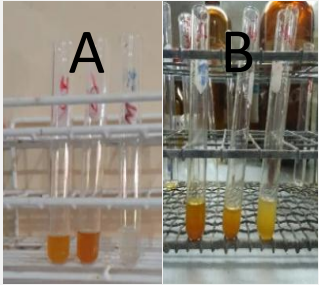
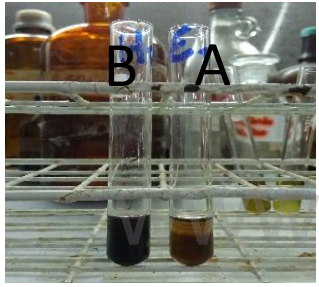
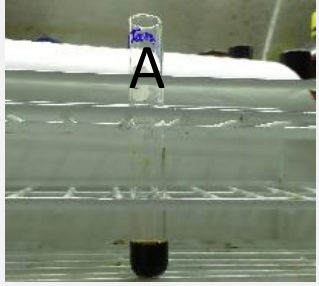
Los extractos fueron sometidos a las respectivas pruebas para la caracterización fitoquímica preliminar y determinar los metabolitos secundarios presentes en cada uno. Los análisis realizados al extracto etanólico obtenido de los tallos de *Swinglea glutinosa* evidenciaron la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, triterpenos, flavonoides y saponinas, mientras que el extracto hexanólico presentó positividad para alcaloides, esteroides y triterpenos. Las pruebas para quinolonas, cumarinas y taninos arrojaron resultados negativos para ambos extractos. Los resultados se muestran a continuación en las tablas 4 y 5:

Tabla 4. Resultados de caracterización fitoquímica de los extractos de *Swinglea glutinosa*

Metabolito determinado	Pruebas Químicas	Resultados	
		EHTS	EETS
Alcaloides	Reactivo de Dragendorff Reactivo de Wagner	+	+
		+	+
Triterpenos / Esteroles	Prueba Liebermann-Burchard	++ Verde	+
			Rojo
Compuestos Fenólicos	Prueba del FeCl ₃	ND	++
Quinonas	NH ₄ OH (Conc) H ₂ SO ₄	ND	-
			-
Cumarinas	NH ₄ OH (Conc) Fluorescencia UV	ND	-
Saponinas	Prueba de la espuma	ND	+
			1,3cm 5min
Taninos	Prueba de la gelatina	ND	-
Flavonoides	Prueba de Shinoda NaOH (10%)	-	+
		ND	+

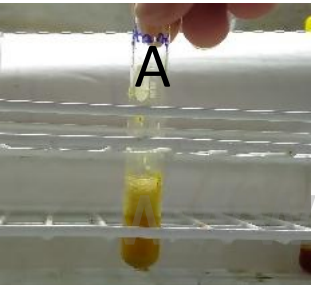
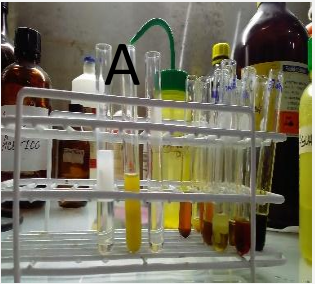
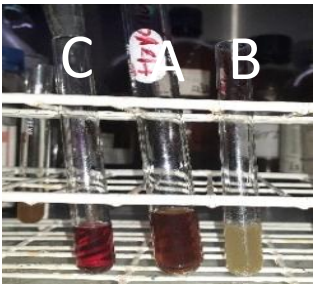
EHTS: Extracto Hexanólico del tallo de *S. glutinosa*, **EETS:** Extracto Etanólico del tallo de *S. glutinosa*, **ND:** No determinado, **(-):** Ausente, **(+):** Presente, **(++)** Abundante.

Tabla 5. Resultados de la reacción de caracterización fitoquímica de los extractos de *Swinglea glutinosa*

Reacción Química	Metabolito determinado
	Alcaloides Reacción química: Reactivo de Dragendorff Se observó la formación de precipitados color naranja; considerándose el resultado como positivo para alcaloides.
	Triterpenos / Esteroles Reacción química: Prueba de Liebermann- Burchard Se evidencio la aparición de un color verde y rojo, se consideró el resultado como positivo.
	Compuestos Fenólicos Reacción química: Prueba del FeCl₃ La coloración negra indicó la positividad de la prueba.
	Quinonas Reacción química: NH₄OH (Conc) H₂SO₄ La ausencia de coloración roja indicó la negatividad de la prueba.

A: extracto etanólico; B: extracto hexanólico; C: Control positivo

Tabla 5. Resultados de la reacción de caracterización fitoquímica de los extractos de *Swinglea glutinosa* (Continuación)

Reacción Química	Metabolito determinado
	Cumarinas Reacción química: NH_4OH (Conc) La ausencia de fluorescencia azul indicó la negatividad para la prueba
	Saponinas Reacción química: Prueba de la espuma La formación de 1,3 cm de espuma con una duración de 5 minutos. Se consideró la prueba como positiva.
	Taninos Reacción química: Prueba de la gelatina No se observó la presencia del precipitado blanco lo que indica la negatividad de la prueba.
	Flavonoides Reacción química: Prueba de Shinoda NaOH (10%) Al presentar una coloración roja intensa se interpretó la prueba como Positiva.

A: extracto etanólico; B: extracto hexanólico; C: Control positivo

Resultados de la Evaluación de las Actividad Antibacteriana

La actividad antibacteriana se determinó a través del método de difusión de disco en agar (Kirby-Bauer). Las concentraciones de las soluciones evaluadas fueron de 10000 ppm para ambos extractos (hexano y etanol). Los resultados demuestran que tanto en las cepas grampositivas como gramnegativas fueron susceptibles (tabla 6).

Tabla 6. Actividad antibacteriana de los extractos obtenidos a partir de los tallos de *Swinglea glutinosa*.

Bacterias	Halos de inhibición (mm)				
	EHTS	EETS	Control Positivo		
			Eri	Amp	Pip
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC (25923)	13*	NA	25*	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC (29212)	7*	7*	-	20*	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC (25922)	NA	9*	-	-	20*
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC (23357)	9*	10*	-	-	20*
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC (27853)	12*	9*	-	-	18*

EHTS: Extracto Hexanoico del tallo de *S. glutinosa*, **EETS:** Extracto Etanólico del tallo de *S. glutinosa*. *Zona de inhibición expresada en mm, **ERI:** Eritromicina 15 ug, **AMP:** Ampicilina 10 ug, **PIP:** Piperacilina 10ug, Control negativo: DMSO **NA:** No activo. Concentración de los extractos: 10000 ppm.

Discusión

El análisis fitoquímico de los tallos de *Swinglea glutinosa* evidenció en el extracto etanólico la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, triterpenos, flavonoides y saponinas, mientras que el extracto de hexano presentó alcaloides, esteroides y triterpenos. Estos resultados son congruentes con los estudios realizados previamente, por ejemplo, Calheiro y cols., (2020) donde aislaron e identificaron alcaloides acridónicos, fenilacrilamidas y flavonoides a partir del extracto hexanólico de los tallos de *S. glutinosa*. Asimismo, Weniger y cols (2001) obtuvieron a partir del extracto metanólico de los tallos de *S. glutinosa* resultados similares ya que reportan la actividad antiparasitaria y citotóxica de alcaloides acridónicos.

En tal sentido, la composición química de los tallos de *S. glutinosa* recolectada en el sector Campo Claro, Municipio Libertador del Estado Mérida, presenta una composición química análoga a las especies de Brasil y Colombia (Calheiro y cols., 2020; Weniger y cols., 2001) con respecto a la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides, sin embargo, difiere en la presencia de saponinas, lo cual es un nuevo aporte para la fitoquímica de esta planta y es considerado por las autoras de gran importancia debido a que estos compuestos poseen gran variedad de actividades biológicas.

Por otra parte, la actividad de los extractos frente a las bacterias ensayadas probablemente se debe a la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides, los mecanismos mediante los cuales los metabolitos secundarios inhiben el crecimiento se han vinculado con cambios en las propiedades físico-químicas de la membrana celular y la interferencia con procesos metabólicos vitales en los microorganismos patógenos. Los flavonoides pueden afectar el crecimiento microbiano por inhibición de la

biosíntesis de ácidos nucleicos y otros procesos metabólicos; mientras que las sustancias de naturaleza terpenoide pueden interferir con la síntesis de los componentes de las membranas biológicas (Nayak y cols., 2010). De igual manera, los compuestos fenólicos pueden inhibir el crecimiento bacteriano, debido a la capacidad que tienen estas sustancias de formar complejos irreversibles con proteínas, lo cual afecta sus propiedades biológicas y ocasiona la muerte de los microorganismos (Cowan, 1999).

En relación con lo antes expuesto, Salimon, Salih, Yousif, Hameed, Kreem (2010), realizaron un estudio en el cual probaron la actividad antibacteriana y antifúngica de alcaloides acridónicos (100 ug/mL) a través del método de difusión de disco en agar frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans* y *Escherichia coli*, las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) fueron 13, 14, 13 ug/mL respectivamente, obteniendo inhibición del crecimiento sobre las bacterias ensayadas, es importante resaltar que estos resultados son similares a los obtenidos en esta investigación.

Las evidencias anteriores, permiten presumir que la actividad antibacteriana del extracto hexanoíco podría deberse a la presencia de alcaloides y terpenos, mientras que la del extracto metanólico a los alcaloides, flavonoides y compuestos fenólicos, no obstante, debido a la poca información fitoquímica de *S. glutinosa*, no es posible hacer una correlación directa de los metabolitos secundarios presentes en los extractos con la actividad antibacteriana que presentaron. Aunque los mecanismos subyacentes a las acciones antimicrobianas de los extractos todavía no se comprenden completamente, es importante destacar que los resultados obtenidos en este trabajo, ya que pueden ser utilizados como referencia para otras investigaciones dado que en la literatura no hay estudios similares sobre esta especie en Venezuela.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Las pruebas químicas realizadas a los tallos de *Swinglea glutinosa*, evidenciaron la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, triterpenos, flavonoides y saponinas en el extracto etanólico y de alcaloides, esteroides, triterpenos en el extracto hexanólico. Asimismo se comprobó la ausencia de quinolonas, cumarinas y taninos en las muestras analizadas.

El extracto de hexano presentó actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* a una concentración de 10000 ppm con unos halos de inhibición 13, 7, 9 y 12 mm, respectivamente. Por otra parte, *E. coli* fue resistente a la concentración evaluada.

El extracto etanólico a una concentración de 10000 ppm inhibió el crecimiento bacteriano de *E. faecalis* (7 mm), *K. pneumoniae* (9 mm), *P. aeruginosa* (10 mm) y *E. coli* (9 mm), mientras que frente a *S. aureus* no mostró actividad.

Recomendaciones

Aislar e identificar los componentes fitoquímicos presentes en los extractos de los tallos de *Swinglea glutinosa*.

Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) para conocer qué tan activos son los extractos.

Evaluar otras actividades biológicas (antifúngica, antiparasitaria, citotóxica y antioxidante).

www.bdigital.ula.ve

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Albornoz, A. (1980). Productos naturales sustancias y drogas extraídas de las plantas. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. pp. 203-224.
- Alarcón, L., Peña, A., Gonzales, N., Quintero, A., Meza, M., Usubillaga, A. y Velasco, J. (2009). Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Myrcia fallax* (Rich.) DC from Venezuela. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. Programa de Ciencias del Agro y del Mar, Universidad Nacional Experimental de Los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora, San Carlos, Venezuela. 75(2):221-227
- Alvarado, E. (2015). Estudio sobre bacterias resistentes a los antibióticos y como combatirlas. Tesis para optar el título de Odontólogo. Universidad de Guayaquil, Facultad piloto de odontología.
- Barrios, A. (1988). Bacteriología y Virología Básicas. Mérida-Venezuela, Venezolana. (Primera edición).
- Cabrera, C., Gómez, R. y Zúñiga, A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Revista Colombia Médica*. Universidad Libre Seccional Cali, Facultad de Ciencias de la Salud, Colombia. 38:149-158.
- Calheiro, A., De Camillis, L., Ribeiro, A., Fernandes, M., De Medeiros, L. y Moura, T. (2020). Herramientas analíticas integradas para acceder a acridonas y fenilacrilamidas no relacionadas de *Swinglea glutinosa*. *Revista Molecules* 2020, 25(1):153. DOI: 10.3390/molecules25010153

- Chaya, N., Terauchi, K., Yamagata, Y., Kinjo, J. y Okabe, H. (2004). Antiproliferative constituents in plants 14 Coumarins and acridone alkaloids from *Boenninghausenia japonica* NAKAI. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2004, (27)1312.
- Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564-582.
- Coy, C., Cuca, L. y Quintero, C. (2013). Farmacognosia y farmacobotánica de especies pertenecientes a los géneros *Esenbeckia* y *Raputia* (Rutaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 18:638-653.
- Cruz, S., Gómez, A., García, V., Álvarez, L., Cáceres, A. y Morales, J. (2006). Caracterización de Aceites Esenciales y extractos de ocho especies Mesoamericanas de Piperáceas y evaluación de la actividad biocida para su aprovechamiento como nuevos recursos aromáticos y/o medicinales, Universidad de San Carlos de Guatemala, 10.
- Dabbah, R., Edwards, V. y Motas, W. (1970). Antimicrobial Activity of Some Citrus Fruits Oils on Selected Food-Borne Bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 19(1): 27-31
- Díaz, C., Arrázola, G., Ortega, F. y Gaviria, J. (2005). Caracterización del aceite esencial en la corteza del limón *Swinglea* (*Swinglea glutinosa*) por CG/EM. *Revista Temas Agrarios* 10(1):22-28.
- Domingo, D. y López, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista española de quimioterapia* 16(4):385-393.

Domínguez, X. (1973). Métodos de Investigación Fitoquímica. 1° Edición.
Editorial Limusa S.A. Mexico D.F

Dos Santos, D., Vieira, P., Da Silva, M., Fernandes, J., Rattray, L. y Croft, S.
(2009). Antiparasitic Activities of Acridone Alkaloids from *Swinglea*
glutinosa (Bl.) Merr. *Journal of the Brazilian Chemical Society*
20(4):644-651.

Esparza, M. (2008) Descripción general de los principales grupos de
fármacos antimicrobianos. Antibióticos. Guía ABE Antibióticos.
Descripción general ISBN: 978-84-95028-75-4.

Fuentes, A. y Ocho, F. (2011). Recordando a Henrietta Lacks (HeLa)
10(5):249-251.

Forbes, B., Sahm, D. y Weissfeld, A. (2009). Balley de Scott: Diagnostico
microbiológico. 12ª edición. Buenos Aires. Editorial Médica
Panamericana, pag. 1160

Gil, A., Celis, A. y Cuevas, J. (2010). Efecto inhibitorio de extractos de
Swinglea glutinosa (Blanco) Merr. y *Lantana camara* L. en
preemergencia y postemergencia. *Revista Colombiana de Ciencias*
Hortícolas. 4:223-234.

González, N., Araque, C., Montilva, Z., Velasco, J. y Usubillaga, A. (2014)
Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial
de Frutos de *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr. *Revista Científica*
Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET) 26(2):127-
132.2014.

Hurtado, J. (2012) El Proyecto de Investigación. Comprensión holística de la metodología y la investigación. Caracas: Quirón Ediciones.

Jawentz, Melnick y Adelberg (2011). Microbiología médica. Madrid-España Mc Graw Hill interamericana. (25ª edición).

Jiménez, R., Pérez, F., Hernández, M., Fuentes, V. y Velázquez, J. (2015). Caracterización agronómica de una accesión de *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr, (Rutaceae). Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (IIFT) Agrisost 21(2):10-22. ISSN 1025-0247.

Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K., Yano, M., Takemura, Y., Juichi, M., Ito, C. y Furukawa, H. (1999). The Antiproliferative Effect of Acridone Alkaloids on Several Cancer Cell Lines. *Journal of Natural Products* 62(4):587-589 <https://doi.org/10.1021/np980504z>

Kenneth, R. y Ray, G. (2011). Sherrys Microbiología Médica. 5º Edición, Mcgraw-hill Interamericana Editores, S.A. México D.C pag. 331.

Lizcano, A. y Vergara, J. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. Trabajo de grado para optar el título de Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá – Colombia.

Maguna, F., Romero, A., Garro, O. y Okulik, N. (2006). Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. Universidad nacional del

nordeste, Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-057.pd>.

Marcano, D. y Hasegawa, M. (2002). Fitoquímica orgánica. Editorial Torino. 2° Edición Universidad Central de Venezuela. Caracas- Venezuela.

Martínez, J., Sulbarán, B., Ojeda, G., Ferrer, A. y Nava, R. (2003). Actividad antibacteriana del aceite esencial de mandarina. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). Universidad del Zulia. 20:502-512.

Medina, J. (2004). Obtención por diferentes técnicas de extracción de los metabolitos secundarios volátiles de la *Swinglea glutinosa* (Fam. Rutacea) y su análisis por cromatografía de gases. Trabajo de pregrado para optar al título de Químico. Universidad de Santander, Facultad de ciencias, Escuela de Química. Bucaramanga- Colombia.

Miranda, D. (2000). "Clave de reconocimiento de especies leñosas de Rutaceae presentes en la Selva Paranaense (Argentina), mediante el uso de caracteres endrológicos." *Revista de Ciencias Forestales*. 8:47-55.

Murillo, E., Correa, J., Cerquera, C. y Méndez, J. (2018). Potencial antimicrobiano y citotóxico del aceite esencial de *Citrus aurantium* Engl (naranja agria) y *Swinglea glutinosa* Merr (limón de cerco). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 23(3) Recuperado de: www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/rt/printerFriendly/795/0

- Nayak, S., Ramdath, D., Marshall, J., Isitor, G., Eversley, M., Xue, S., Shi, J. (2010). Wound healing activity of the skin of the common grape (*Vitis vinifera*) Variant, Cabernet Sauvignon. *Phytotherapy Research* 24(8): 1151-1155; doi:10.1002/ptr.2999
- Núñez, M. (1982). *Plantas medicinales de Costa Rica y su folclore*, Editorial Universidad de Costa Rica, 318p.
- Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2009). *Microbiología Médica*. GEA Consultoría Editorial S.L. Barcelona – España (6° edición).
- Osorio, E. (2014). *Farmacognosia*. Universidad de Antioquia, Facultad de Química Farmacéutica.
- Paraje, R. y Paraje, A. (1976). *Microbiología Clínica*. Buenos Aires-Argentina: Panamericana. (Segunda edición).
- Paredes, R. y Roca, J. (2004). Acción de los antibióticos: Perspectiva de la medicación antimicrobiana. *Farmacología* 23(3):116-118.
- Prats, G. (2005). *Microbiología Clínica*. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 400. (primera Edición).
- Prescott, L., Harley, J. y Klein, D. (2004). *Microbiología*. Madrid-España: Mc Graw-Hill interamericana. (Quinta edición), pag. 119-456-457-873-874.
- Prescott, L., Harley, J. y Klein, D. (1999). *Microbiología*. Madrid-España: Mc Graw Hill interamericana. (Cuarta edición).
- Quesada, A. (2008). Las plantas medicinales. *Revista Biocenosis* 21(1-2):20-24.

Quiñones, Y. (2012). Análisis de los principios activos de Especies Mexicanas de Anís y Evaluación de su Actividad Biológica sobre Microorganismos Patógenos. México, San Nicolás, México.

Salimon, J., Salih, N., Yousif, E., Hameed, A. y Kreem, A. (2010). Synthesis and pharmacological evaluation of 9(10H)-acridone bearing 1,3,4-oxadiazole derivatives as antimicrobial agents. *Arabian Journal of Chemistry* (2010) 3, 205–210 doi:10.1016/j.arabjc.2010.06.001

Sánchez, C. (2006). ¿Antibióticos, ayer, hoy y mañana...?. *Revista Química Viva*, 2:63-70.

Schrader, K., Burandt, C., Dellagrecia, M., Meepagala, K. y Purcaro, R. (2009). Constituents from *Swinglea glutinosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 10632–10635.

Swingle, W. y Reece, P. (1967). The botany of *citrus* and its wild relative, *Swinglea*, In: W. Rehther, H.J.Webber and L.D. Bathelor (1967). *Citrus Industry* Vol. I. Univ. Calif. Riverside. 403-406.

Tortora, G., Funke, B. y Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología*. 9° Edición. Editorial Médica Panamericana.

Valdés, R. y Balbín, M. (2000). *Curso de fisiología y bioquímica vegetal*. UNAH. La Habana, Cuba.89p

Vara, H. (2012). Desde La idea hasta la sustentación: Siete pasos para una tesis exitosa. un método efectivo para las ciencias empresariales. [Libro en línea]. Consultado el 15 de octubre de 2020 en:

<http://www.administracion.usmp.edu.pe/investigacion/files/7-PASOS-PARA-UNA-TESIS-EXITOSA-Desde-la-idea-inicial-hasta-la-sustentaci%C3%B3n.pdf>

Waterman, P. (2007). The current status of chemical systematics
Phytochemistry. 68:2896-2903.

Weniger, B., Robledo, S., Arango, G., Deharo, E., Aragón, R., Muñoz, V. y
Callapa, J. (2001) Antiprotozoal activities of Colombian plants. *Journal
of Ethnopharmacology*. 78, 193-200.

Weniger, B., Valentin, A., Byung-Hun, U.M., Estrada, A., Lobstein, A., Anton,
R., Maille, M. y Sauvain, M. (2001). Bioactive Acridone Alkaloids from
Swinglea glutinosa. *Journal of Natural Products* 64(9): 1221-
1223.2001.

www.bdigital.ula.ve