



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA FACULTAD
DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS**



**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS
EXTRACTOS (HEXANO, DICLOROMETANO Y ETANOL) DE LAS
PARTES AÉREAS DE *Jatropha curcas* L.**

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

www.bdigital.ula.ve

Autor:

Darwing Jose Santiago Jeréz

Tutor:

Prof. Julio Rojas

Mérida, Octubre de 2018

DEDICATORIA

- A Dios Todopoderoso por darme la vida, la sabiduría y el sustento: sin su compañía y provisión no hubiese sido posible culminar cada una de las metas que me he propuesto.
- A mi madre una mujer virtuosa, luchadora y trabajadora, que ha sido un ejemplo a seguir. Este logro es el fruto de todos tus años de trabajo y dedicación para con tus hijos.
- A mi padre, fuente de inspiración, lucha y constancia. Por enseñarme que nada es imposible y que lo que se quiere se logra.
- A mis amigos, por el apoyo brindado, por cada palabra de aliento y tiempo dedicado.
- A todos ustedes infinitas gracias y que Dios les bendiga siempre.

www.bdigital.ula.ve

Darwíng Santiago

AGRADECIMIENTOS

- A Dios, por ser mi motor y compañía en cada lugar, en momentos buenos y no tan buenos, gracias papá Dios por permitirme alcanzar este gran logro, para ti nada es imposible.
- A mis padres, por ser desde el principio, los motivos más importantes que inspiran el espíritu a luchar y no decaer, gracias por confiar en mí, por cada palabra, por compartir cada una de mis alegrías y preocupaciones y ayudarme cuando lo he necesitado. El triunfo y el éxito no es mío es de ustedes, los amo.
- A la ilustre Universidad de Los Andes, especialmente a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, *campus* en el cual adquirí, junto a los profesores, las herramientas y conocimientos necesarios para mi formación académica.
- Al profesor Julio Rojas, por su tiempo, dedicación y colaboración en el desarrollo de esta investigación, fueron tiempos difíciles, pero en Dios todo se puede y hoy se logró lo que un día vimos lejos. Gracias por todo.
- Al personal del Laboratorio De Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes, Dra. Rosa, Aparicio, Dra. Ysbelia Obregón y Dr. Luis Rojas gracias por la ayuda y el apoyo brindado.
- A la Dra. Yndra Cordero, por su disposición de enseñar y colaborar en esta investigación, así como por dedicarme su tiempo cada vez que lo necesité. Aunque el tiempo fue corto, fue un placer haber aprendido mucho de usted.
- A mis amigos, Antonio Hagen, Kimberley Ramirez, Stephanie Carrillo, Moisés Hernández, Yorman Hernández, Kenny Maldonado, Zurley Márquez, Damelis Rivas y Daniela Linares, quienes más que amigos son hermanos.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE ESQUEMAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	4
Planteamiento del problema	4
Objetivos de la investigación	8
Objetivo general	8
Objetivos específicos	8
Justificación de la investigación	9
Alcances y limitaciones de la investigación	10
Alcances	10
Limitaciones	11
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	12
Trabajos previos	12
Antecedentes históricos	16
Bases teóricas	18
Características botánicas de la familia Euphorbiaceae	18
Características botánicas de la especie <i>Jatropha curcas</i> L.	18
Taxonomía de la especie <i>Jatropha curcas</i> L.	20
Origen y cultivo	20
Composición químicas	21
Flavonoides	24
Antocianinas	24
Esteroles	25
Cumarinas	25
Extractos vegetales	

	Pág.
Obtención de los extractos vegetales	26
Técnicas para la obtención de los extractos vegetales	26
Mécanicas	27
Destilación	27
Con disolventes (extracción discontinua)	27
Con disolventes (extracción continua)	27
Aplicaciones de los extractos vegetales	28
Separación e identificación	29
Tamizaje fitoquímico	31
Reconocimiento de Alcaloides	31
Reconocimiento de compuestos fenólicos y taninos	32
Reconocimiento de flavonoides	32
Reconocimiento de Esteroides y terpenos	33
Reconocimiento de antraquinonas	33
Reconocimiento de saponinas	34
Bacterias	34
Características generales de las bacterias a usar	35
Bacterias Grampositivas	35
<i>Staphylococcus aureus</i>	35
<i>Enterococcus faecalis</i>	37
Bacterias Gramnegativas	38
<i>Escherichia coli</i>	38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
Enfermedades causadas por las cepas bacterianas a usar	41
Antibióticos	42

	Pág
Antibióticos que inhiben la pared celular	43
Antibióticos que inhiben la síntesis de la membrana citoplasmática	44
Antibióticos que inhiben síntesis de proteínas	45
Antibióticos que inhiben la síntesis de los ácidos Nucleicos	45
Métodos para determinar la actividad antibacteriana en extractos de plantas	46
Método de difusión en agar (Kirby-Bauer)	47
Método de dilución en caldo o agar	48
Método de las tiras de epsilon	48
Método de ELISA (Ensayo de Inmunoabsorción ligado a Enzimas)	49
Definición operacional de términos	49
Extracto vegetal	49
Metabolitos secundarios	50
Espectro de masas	50
Cromatograma	50
Inóculo	50
Operacionalización de las variables	50
Sistema de hipótesis	53
Hipótesis alternativa (H_1)	53
Hipótesis nula (H_0)	53
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	54
Tipo de investigación	54
Diseño de la investigación	54
Población y muestra	55
Unidad de la investigación	55
Tamaño muestral	55

	Pág.
Sistema de variables	55
Procedimientos de la investigación	55
Recolección del Material Vegetal	55
Extracción y preparación del extracto vegetal	56
Tamizaje Fitoquímico	56
Ensayo de Dragendorff, Wagner y Mayer (alcaloides)	56
Reacción del tricloruro férrico (FeCl₃)	56
Reacción de Shinoda	57
Reacción de Lieberman	57
Prueba de la espuma	57
Prueba de Hidróxido de amonio	57
Separación e identificación de los compuestos químicos de los extractos	57
Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas (CG-EM)	57
Evaluación de la actividad antibacteriana	58
Preparación de las placas	59
Preparación de los discos impregnados	59
Preparación de los inóculos bacterianos	60
Inoculación de las placas	60
Análisis de la actividad antibacteriana	60
Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)	61
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
Análisis de la composición química de los extractos según Las bases de datos Wiley, Nist y HP	66
Extracto hexanólico de las hojas de <i>Jatropha curcas</i> L.	66
Extracto hexanólico de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L.	69
Extracto diclorometanólico de las hojas de <i>Jatropha</i>	

	Pág.
<i>curcas</i> L.	71
Extracto etanólico de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L.	73
Evaluación de la actividad antibacteriana	76
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79
Conclusiones	79
Recomendaciones	80
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	82
ANEXOS	95

www.bdigital.ula.ve

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Taxonomía de la especie <i>Jatropha curcas</i> L.	21
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Staphylococcus aureus</i>.	35
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Enterococcus faecalis</i>.	37
Tabla 4. Clasificación taxonómica de <i>Escherichia coli</i>.	38
Tabla 5. Clasificación taxonómica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.	39
Tabla 6. Clasificación taxonómica de <i>Klebsiella pneumoniae</i>.	40
Tabla 7. Operacionalización de la variable dependiente actividad antibacteriana de los extractos de las partes aéreas de <i>Jatropha curcas</i> L.	51
Tabla 8. Operacionalización de la variable independiente composición química de los extractos de las partes aéreas de <i>Jatropha curcas</i> L.	52
Tabla 9. Halos de inhibición de los controles parascepas de referencia internacional.	59
Tabla 10. Resultados del análisis fitoquímico de las hojas y cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L.	65
Tabla 11. Metabolitos identificados por CG-EM en el extracto hexanólico de las hojas de <i>Jatropha curcas</i> L:	68
Tabla 12. Metabolitos identificados por CG-EM en el extracto hexanólico de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L.	71
Tabla 13. Metabolitos identificados por CG-EM en el extracto diclorometanólico de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L:	73
Tabla 14. Metabolitos identificados por CG-EM en el extracto etanólico de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L:	75
Tabla 15. Halos de inhibición expresados en mm (milímetros) de los extractos obtenidos de <i>Jatropha curcas</i> L. frente a las bacterias ensayadas.	78

INDICE DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema 1. Obtención de los diferentes extractos de <i>J. curcas</i> L.	62

www.bdigital.ula.ve

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Árbol de <i>Jatropha curcas</i> L.	19
Figura 2. Estructura química de los flavonoides apigenina y vitexina aislados de las hojas de <i>Jatropha curcas</i> L..	22
Figura 3. Estructura química del estigmasterol y colest-5-en-3β, 7β-diol aislados de las hojas de <i>Jatropha curcas</i> L.	22
Figura 4. Estructura química de las cumarinas (marmesina y propazina) aisladas de las hojas de <i>Jatropha curcas</i> L..	23
Figura 5. Estructura química de los principales compuestos antinutricionales de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> L.	24
Figura 6. Estructura química compuestos mayoritarios de los extractos de hojas y cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L.	66
Figura 7. Cromatograma del extracto de hexano (hojas) obtenido de <i>Jatropha curcas</i> L.	68
Figura 8. Estructura química de lo compuestos del extracto hexanólico de las hojas de <i>Jatropha curcas</i> L.	69
Figura 9. Cromatograma del extracto de hexano (cáscara) obtenido de <i>Jatropha curcas</i> L.	70
Figura 10. Estructura química de los compuestos del extracto hexanólico la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L.	71
Figura 11. Cromatograma del extracto de diclorometano (cáscara) obtenido de <i>Jatropha curcas</i> L.	72
Figura 12. Estructura química de los compuestos del extracto de diclorometano de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L.	73
Figura 13. Cromatograma del extracto de etanol (cáscara) obtenido de <i>Jatropha curcas</i> L.	74
Figura 14. Estructura química de los compuestos del extracto etanólico de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L.	75



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE INVESTIGACIONES DE LA FACULTAD DE
FARMACIA Y BIOANÁLISIS



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS (HEXANO, DICLOROMETANO Y
ETANOL) DE LAS PARTES AEREAS DE *Jatropha curcas* L.**

Trabajo de Grado para Optar al Título de Licenciado en Bioanálisis

Autor: Darwing José Santiago Jeréz

Tutor: Julio Rojas

RESUMEN

Jatropha curcas L. (Euphorbiaceae) es una planta oleaginosa, que se encuentra en países como Madagascar, India, México y Venezuela; ha sido utilizada por sus propiedades medicinales. Varios investigadores han referido que esta especie presenta efecto terapéutico, y antimicrobiano sobre bacterias y hongos. El objetivo de esta investigación fue confirmar la actividad antibacteriana de los extractos; hexano, diclorometano y etanol de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L., frente a cepas de referencia internacional, en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Esta investigación fue confirmatoria con un diseño experimental, contemporáneo, transversal y de laboratorio. Los metabolitos secundarios se identificaron a través de pruebas químicas y Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM). Se empleó la prueba de Kirby-Bauer para analizar la actividad antibacteriana de los extractos frente *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. Los resultados obtenidos revelaron la presencia de terpenos (monoterpenos, diterpenos y triterpenos), alcanos y ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos. En el análisis por CG-EM, los componentes mayoritarios identificados fueron; hexahidrofarnesil acetona (34,70 %), heptacosano (19,05 %), octacosano (22,0 %) y 1-eicosanol, en los extractos; hexánico (hojas), hexánico, diclorometanólico, etanólico (cáscara) respectivamente. Todos los extractos mostraron actividad sobre las cepas estudiadas, excepto, sobre *S. aureus* y *E. faecalis*. La CIM de los extractos varió entre 31, 25 ppm y 1000 ppm. Se concluye que los extractos de hojas y cáscara de *Jatropha curcas* L. tienen actividad antibacteriana sobre las bacterias Gramnegativas.

Palabras clave: actividad antibacteriana, extractos de *Jatropha curcas* L., cepas bacterianas, CG-EM.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos muy remotos, la interacción del hombre con el medio ambiente generó conocimientos científicos sobre el aprovechamiento de los recursos naturales. Tal que, estos conocimientos han permitido determinar, en el caso de las plantas, cuáles poseen un valor alimenticio, son venenosas y tienen poder curativo. Posteriormente, se han investigado muchas plantas aislando componentes específicos (metabolitos o principios activos), con la finalidad de fabricar productos farmacéuticos beneficiosos para la salud. Por lo tanto, es importante la capacitación en cuanto al manejo de plantas medicinales, así como las técnicas más adecuadas para el procesamiento de las mismas (Ugaz, 2003).

Las plantas, como resultado de la fotosíntesis, elaboran miles de compuestos orgánicos. Algunos de ellos, denominados metabolitos primarios, son: la glucosa y otros azúcares; los ácidos grasos, lípidos y ceras. También, los aminoácidos y con ellos las proteínas y vitaminas, reguladores de crecimiento entre otras sustancias indispensables para la supervivencia de las plantas. Además, las plantas sintetizan otros de compuestos conocidos como metabolitos secundarios (productos naturales), entre ellos se pueden destacar: alcaloides, taninos, saponinas, glicósidos, terpenos entre otros. Muchos de estos metabolitos secundarios son utilizados por su actividad biológica, para la elaboración de medicamentos y también se conocen como productos naturales (González y col, 2004).

Jatropha curcas L. (*J. curcas*) es un ejemplo de estas plantas medicinales que reporta cierta cantidad de estudios dirigidos a conocer la composición química en cada una de las partes de la especie. Se han identificado: flavonoides, diterpenos, triterpenos, esteroides, saponinas, cumarinas, ácidos orgánicos, saponinas y taninos. Estos compuestos han evidenciado diferentes usos medicinales, especialmente en el tratamiento de infecciones de la piel, enfermedades de transmisión sexual, ictericia y fiebre. En

extractos obtenidos de las semillas, las hojas y corteza han demostrado actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Pabón y col, 2012).

El aprovechamiento de estos compuestos en la industria farmacéutica hace indispensable el estudio exhaustivo de las estructuras biológicamente activas. Así como también, la incorporación de técnicas de extracción, separación e identificación que optimicen este proceso. En consecuencia, se propuso inicialmente identificar la composición química de los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L.

La justificación de esta investigación estuvo representada por: el uso de plantas como alternativa terapéutica para tratar enfermedades, los metabolitos secundarios como responsables del efecto terapéutico. Así como, el aislamiento de dichos metabolitos secundarios y el fundamento teórico acerca de la obtención de extractos vegetales, el cual le da consistencia lógica al evento de estudio de esta investigación: evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L.

La metodología de esta investigación estuvo conformada por el material vegetal recolectado, correspondiente a las partes aéreas de *Jatropha curcas* L., que posteriormente, seco y pulverizado, fue macerado. Luego, estos extractos se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). Y finalmente se comprobó la actividad antibacteriana de los extractos en cepas de referencia internacional.

Este informe final de la Tesis de Grado ha sido estructurado en V Capítulos. El Capítulo I, denominado el problema, contiene los siguientes elementos: Planteamiento del Problema, Justificación, Objetivos, Alcances y Limitaciones de la Investigación. El Capítulo II titulado marco teórico, abarca: trabajos previos, Antecedentes históricos, bases teóricas y operacionalización del Evento de Estudio. El Capítulo III, llamado Marco Metodológico comprende los siguientes puntos: Tipo de Investigación,

Diseño de Investigación, Población y Muestra, Instrumento de Recolección de Datos, Metodología de la Investigación y Diseño de Análisis. El Capítulo IV, denominado Resultados y Discusión, y finalmente el Capítulo V, titulado: Conclusiones y Recomendaciones.

El estudio se realizó con la finalidad de confirmar la relación entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L., en cepas de referencia internacional en el Laboratorio de Productos Naturales y antinomicetos del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de Universidad de Los Andes.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

El uso de plantas es de gran importancia en la medicina tradicional, pues su aplicación para el tratamiento de diversas patologías es aprovechada desde tiempos remotos. El conocimiento científico de algunas especies de plantas es desconocido, siendo necesario aprender a investigar los recursos naturales, pero con los requerimientos técnicos que la ciencia actual exige. Este conocimiento permitirá determinar los principios activos de las plantas medicinales y estudiar su actividad en el organismo. Posteriormente, poder aislarlos y avalar los usos que la medicina popular le atribuye a las diversas especies vegetales (García, 2007).

Los pueblos primitivos han adquirido información sobre las propiedades medicinales de las plantas, en principio por casualidad y luego por necesidad. Hoy en día aplicando métodos modernos de análisis, se ha comprobado las propiedades que los indígenas descubrieron de forma empírica. En los últimos años contando con procedimientos modernos, ha cobrado gran importancia el estudio de las plantas medicinales, tratando de aislar los principios activos sobre todo de los alcaloides (Martínez, 1990). En consecuencia, el estudio de las plantas medicinales no sólo se limita al conocimiento de plantas, sino también a la purificación de un producto para determinar y nombrar la molécula con actividad específica (Villar, 1999).

Para aprovechar las sustancias activas de una planta se recurre a la técnica de extracción; proceso que consiste en incorporar las sustancias

activas de una planta a un líquido (alcohol o agua). El producto resultante (extracto) puede ser una solución concentrada en función de la sustancia de origen (Asociación Española para la Cultura, el Arte y la Educación (ASOCAE ONGD), 2001). Actualmente, los extractos son usados por un gran porcentaje de la población mundial como remedios caseros (World Health Organization, 1998). Por consiguiente, muchos laboratorios trabajan en la obtención de antimicrobianos a partir de recursos microbiológicos y de plantas medicinales (Agnese y col, 2001).

Es conveniente comentar, que el análisis fitoquímico se enfoca en estudiar la actividad biológica de las plantas, precisando, comparando y clasificando sus propiedades con el fin de agruparlas y así determinar los metabolitos secundarios. Para ello, es necesario ejecutar una serie de técnicas como: extracción, separación, purificación, y elucidación estructural, que permitan el estudio de estos principios activos. La extracción consiste en separar un compuesto de una mezcla de reacción, y la separación se hace para disociarlo en sus componentes puros. Finalmente, la purificación es un paso previo para determinación de las características estructurales de los componentes de la mezcla (Ugaz, 2003).

Por otro lado, un extracto está constituido por una mezcla de compuestos orgánicos con polaridad semejante a la del solvente empleado durante el proceso de extracción. Por lo general los solventes más empleados para la obtención de extractos son: el agua, etanol, éter petróleo, hexano, acetato de etilo y propilenglicol. El solvente a seleccionar durante el proceso de extracción se relaciona con el extracto de interés, así, si se desea obtener extracto metanólico el disolvente a usar será el metanol. En consecuencia, el éxito de esta técnica depende de la diferencia de solubilidad entre el disolvente de extracción y el compuesto de interés (Lamarque y cols, 2008).

Jatropha curcas L. como todas las otras plantas, sintetiza metabolitos primarios necesarios para su crecimiento y supervivencia, como; aminoácidos; carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos. También, sintetiza metabolitos secundarios que son responsables de mantener en buena medida su relación con el medio ambiente. Entre los metabolitos secundarios se encuentran; flavonoides, esteroides, terpenos entre otros., que cumplen funciones de defensa contra predadores y patógenos, sin intervenir en el metabolismo primario de las plantas. Estos metabolitos secundarios son aprovechados para la fabricación de productos farmacéuticos, cosméticos y agropecuarios (Pabón y col, 2012; Aguilar y col, 2002).

La importancia de la utilidad de estos metabolitos en el área de la salud ha propiciado el desarrollo de la fitoquímica, a través de la incorporación de nuevas técnicas de extracción, separación, purificación e identificación de esas moléculas biológicamente activas (Pabón y col, 2012). Por esta razón, la CG-EM es una técnica muy usada para la separación e identificación de los metabolitos que se encuentran en una mezcla compleja (Gutiérrez y col, 2002). La extracción con solventes apolares como el hexano y polares como el acetato de etilo y etanol, es considerado uno de los procesos más efectivos para separar dichos metabolitos de su fuente natural. Obteniendo un extracto base como resultado de la extracción de los metabolitos o principios activos de la planta. (Lamarque y col, 2008).

El fundamento teórico que respalda a esta investigación es la teoría sobre la obtención de extractos vegetales. La extracción es la disolución de un compuesto químico a partir de su fuente natural (sólido), por medio de un solvente (líquido). Durante este proceso debe suministrarse energía para vencer las fuerzas intermoleculares tanto entre el soluto como el solvente.

Esa energía es aportada por la formación de nuevas interacciones entre las moléculas de soluto y solvente (Pinedo, 2012).

Desde el punto de vista químico, se encuentran en la literatura estudios acerca de la identificación de la composición química de *Jatropha curcas* L. En México un estudio reportó que las semillas de *Jatropha curcas* L. poseen un alto contenido en esteres de ferbol 30-40 % (Ortiz, 2012). En Ecuador, se realizaron varias investigaciones que determinaron la composición química de la semilla de *J. curcas* L., es de; 24,6 % de proteínas, 47,25 % de grasas y menos del 6 % almidón y azúcares. La grasa que contiene esta semilla está constituida por 47,45 % ácido palmítico, 6,1 % ácido esteárico, 14,1 % ácido oleico y 31,6 % de ácido linoleico (Del Rocio, 2011). Mientras que en Nigeria, estudios fitoquímicos de los extractos de etanol del tallo de *J. curcas* L., revelaron un alto contenido en fenoles como el ácido tánico en un 98 %. Así como concentraciones de quercetina (flavonoide) de 11,18 %, flavonoles de quercetina equivalente a 12,55 %, proantocianidas con 15,67 % de catequina (Igbiosa y col, 2011).

Considerando la importancia que tiene el conocimiento, estudio y utilidad de los metabolitos presentes en los extractos de la *Jatropha curcas* L. para las ciencias de salud, se formuló la siguiente pregunta atendiendo la situación actual del problema:

¿Cuál es la relación entre la antibacteriana y la composición química de los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L., en cepas de referencia internacional en el Laboratorio de Antinomicetos del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, durante el periodo de Junio de 2017 hasta Mayo de 2018?

Objetivos de la investigación

Objetivo general

- Confirmar la relación entre la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L., en cepas de referencia internacional en el Laboratorio de Antinomicetos del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, durante el periodo de Junio de 2017 hasta Mayo de 2018.

Objetivos específicos

- Obtener los extractos de hexano, diclorometano y etanol de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L.
- Identificar cualitativamente mediante pruebas químicas los metabolitos secundarios presentes en los extractos obtenidos.
- Identificar la composición química de los extractos de las partes aéreas de la *Jatropha curcas* L., mediante cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM).
- Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L., por el método de difusión en agar.

Justificación de la investigación

Las plantas han sido desde la antigüedad un recurso al alcance del ser humano para su alimentación y tratar trastornos de la salud. Estas últimas, llamadas plantas medicinales eran veneradas por las virtudes que se les había reconocido, aun sin saber porqué o cómo actuaban, pues era un hecho incontestable y mágico. Por eso, en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina para tratar muchas enfermedades, pues se considera una alternativa terapéutica ante el uso de productos químicos dañinos para el cuerpo (Martilla, 2014). El efecto terapéutico es atribuido por los metabolitos secundarios o principios activos, esto hace indispensable el estudio acerca la composición química de las diferentes partes de las plantas. A partir de estos principios activos se pueden diseñar fármacos, que actúen en pro de la salud sin generar efectos secundarios en los consumidores (Terranova y col, 2014).

El aislamiento de estos principios activos permite a los investigadores determinar las posibles propiedades terapéuticas que puedan tener sobre las enfermedades. Y de esta manera, conocer las concentraciones adecuadas para la fabricación de fármacos destinados al consumo humano (Loraine y col, 2010). *Jatropha curcas* L., es una de las especies más significativas dentro de su género por su importancia química y biomédica, pues se han identificado una gran gamma de compuestos que ejercen un efecto beneficioso sobre salud. Específicamente en el control de hongos, parásitos y bacterias que afectan al hombre, también, en actividades de fitorremediación de suelos contaminados (Pabón y col, 2012).

Las enfermedades causadas por microorganismos son de alta incidencia en Venezuela, principalmente en personas con estrato socioeconómico bajo

ya que tienen mayor riesgo de exposición a patógenos. Lo que ha causado el uso indiscriminado e irracional de antibióticos en nuestro medio, provocando la aparición de cepas resistentes y su diseminación en la comunidad. La incidencia de infecciones causadas por bacterias ha incrementado significativamente en los últimas décadas, debido al desarrollo de mecanismos de resistencia a estos fármacos (Silvera, 2018). Por lo tanto, la finalidad de esta investigación es estudiar la actividad antibacteriana de los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L., de la familia *Euphorbiaceae*.

Alcances y limitaciones de la investigación

www.bdigital.ula.ve **Alcances**

Los alcances de esta investigación se relacionaran con la profundidad del conocimiento que los investigadores pretenden obtener. En tal sentido, considerarán la propuesta de Hernández y col (2010), quienes refirieron lo siguiente:

Si hemos decidido, una vez hecha la revisión de la literatura, que nuestra investigación vale la pena y debemos realizarla, el siguiente paso consiste en visualizar el alcance que tendrá. [...] no se deben considerar los alcances como “tipos” de investigación, ya que, más que ser una clasificación, constituyen un continuo de “causalidad”

Al respecto, el continuo conocimiento que se alcanzó en este estudio fue confirmatorio. Pues, se consideró la posible actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de las partes aéreas de la *Jatropha curcas* L. frente a

cepas de referencia internacional. Por tal motivo, durante la investigación se analizaron las propiedades fitoquímicas de los extractos de la planta y se estudió su actividad antibacteriana.

Limitaciones

Las limitaciones representan los obstáculos que eventualmente se presentan al equipo de investigadores durante el desarrollo del estudio (Ávila, 2001). Al respecto, en la presente investigación se encontraron limitaciones relacionadas con la crisis situacional del país. Específicamente, el alto costo de los reactivos como; agar, antibióticos, entre otros. Además, desde el punto de vista teórico existen pocos trabajos previos sobre la actividad antibacteriana de la especie en estudio.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

En los últimos años el género *Jatropha* ha sido objeto de estudio para muchos investigadores. Al respecto en México, se ha investigado los usos tradicionales y la composición química de las semillas de varias especies de *Jatropha*, como; *Jatropha neopauciflora*, *Jatropha oaxacana*, *Jatropha rufescens* y *Jatropha rzedowskii*. Las semillas de estas especies fueron colectadas en Tehuacán y pulverizadas hasta obtener harina, posteriormente se extrajo usando el método de soxhlet. El perfil de ácidos grasos se determinó por cromatografía de gases y el contenido de esteres de forbol mediante HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia). Los principales ácidos grasos saturados identificados fueron: el ácido oleico y linoleico, mientras que los ácidos grasos saturados fueron; ácido palmítico y esteárico. En consecuencia, las semillas de estas especies de *Jatropha* son consumidas por la población mexicana por su alto contenido de proteínas y ácidos grasos insaturados (Hernández y col, 2018).

En relación a la actividad biológica, se han analizado la actividad antimicrobiana y antioxidante de extractos de hojas obtenidos con solventes de diferentes polaridades. La actividad antimicrobiana se realizó usando el método de difusión en agar con discos de papel frente a cepas de referencia internacional (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*). Los resultados obtenidos

mostraron ninguno de los extractos analizados presentó inhibición de crecimiento microbiano frente a las cepas ensayadas (Méndez y col, 2018).

Otro estudio realizado, en el Sur de México específicamente en las localidades de la región Sonusco: Camino a la Pita y Manuel Lazos, sobre el perfil químico y morfométrico de las flores de las flores de *Jatropha curcas* L. Entre los compuestos más abundantes identificados en las flores de ambas regiones se encuentran: el (E)- β -ocimeno, (Z, E)- α -farneseno, linalool y (3Z)-hexenilbenzoato. Los resultados concuerdan con los informados por Chang-Wei (2007) en China, donde el β -ocimeno y linalool estaban presentes en las flores de *Jatropha curcas*. Estas variaciones químicas entre las poblaciones están relacionadas con las condiciones ambientales (temperatura, humedad, intensidad de luz) y variaciones genéticas (Canesca y col, 2016).

En 2016 Sinha y cols, evaluaron la actividad antimicrobiana y analizaron mediante cromatografía de capa fina, los fitoquímicos presentes en el extracto de hexano del aceite de semilla y extracto de metanol del látex de *jatropha.curcas* L. El aceite de la semilla de *Jatropha curcas* L. se obtuvo de la compañía farmacéutica Surya Ramnagar. Mientras que las semillas y el látex se recolectaron del Jardín Botánico del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Hindú de Benarés en Varanasi (India). Las semillas fueron pulverizadas y sometidas a extracción con hexano y el látex recolectado y secado al sol, se sometió a extracción con metanol. En relación a los resultados; el extracto metanólico del látex, mostró marcada actividad biológica antibacteriana frente a los microorganismos Grampositivos y Gramnegativos utilizados en este estudio (Sinha y col, 2016).

De manera similar, se investigó la actividad antibacteriana de los extractos de acetona, etanol y agua de las hojas de *Jatropha curcas* L. frente a coliformes aislados de aguas superficiales en Akure, Nigeria. Las hojas

recolectadas en Ado-Kiti, Nigeria fueron sometidas a extracción con acetona, etanol y agua. Las especies bacterianas utilizadas en este estudio fueron: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* y *Citrobacter freundii*. Los resultados obtenidos mostraron: los extractos etanólico y de acetona de las hojas de *Jatropha curcas*, solo tuvieron actividad antibacteriana sobre *Klebsiella pneumoniae* (halo 4 mm) a una concentración de 400 mg/mL. Mientras que el extracto acuoso mostró mayor actividad frente a las bacterias coliformes a concentración de 400 mg/mL (Dada y col, 2014).

Por otro lado, un estudio hecho en la Provincia de Alanbar (desierto de Iraq) acerca de la composición y el valor nutricional de las hojas de *Jatropha curcas* L. evaluó los componentes químicos y nutricionales de las hojas de *Jatropha curcas* L. Revelando la presencia de flavonoides, carbohidratos, proteínas y vitaminas como: tiamina, riboflavina, ácido pantoténico y α -tocoferol. En consecuencia, el contenido de aminoácidos puede verse afectado por las condiciones climáticas, por lo que recomiendan mejorar los factores de crecimiento implementando el uso de fertilizantes en los cultivos (Agnieszka y col, 2013).

En otra investigación, se ha establecido la actividad antimicrobiana y antioxidante de los extractos de hojas de *Jatropha curcas* L. y de 3 variedades de *Hibiscus cannabinus* L. (Tainung, Everglades y Whitten). Las hojas recolectadas en cultivos de la Universidad de Salle, Colombia, se sometieron a extracción por soxhlet y microondas con; éter petróleo, diclorometano y etanol. La actividad antibacteriana se evaluó mediante la prueba de difusión en agar frente a cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados de este estudio muestran que la mayor actividad frente a *Escherichia coli* se presentó en los extractos de

Whitten, mientras que los de Tainung fueron activos frente a *Staphylococcus aureus*; este efecto coincide con investigaciones anteriores para este género bacteriano. En cuanto a la especie *Jatropha curcas*, su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano fue baja frente a *Escherichia coli* y casi nula para *Staphylococcus aureus* (Pabón y col 2013).

En 2013, se analizó el efecto antimicrobiano del látex de *Jatropha curcas* frente a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM). Las bacterias usadas en el ensayo fueron; *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, *Staphylococcus aureus* ATCC, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli* ATCC y *Pseudomonas fluorescens*. La actividad antibacteriana se determinó a través de la prueba de Kirby-Bauer de acuerdo con las recomendaciones de Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), como control se usaron discos de imipenem de 10 µg/disco, vancomicina 30 µg/disco y linezolid 30 µg/disco. Las pruebas fisicoquímicas realizadas en el látex evidenciaron la presencia de taninos catéquicos y alcaloides. En relación a la actividad antibacteriana, los resultados obtenidos mostraron que el látex de *Jatropha curcas* L. no tuvo ningún efecto antimicrobiano contra las bacterias Gramnegativas usadas en este estudio. Por lo que sugieren que los compuestos bioactivos del látex de *Jatropha curcas* deben tenerse en cuenta para considerar a esta especie como un posible candidato para la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas frente a SAMR (Peña, 2013).

Antecedentes Históricos

El uso de sustancias naturales en el tratamiento de diferentes enfermedades, incluidas las de etiología infecciosa, constituye en la actualidad un desafío en la medicina. Siendo el tratamiento alternativo, especialmente en aquellas dolencias para las que no existe un medicamento adecuado. Cabe destacar que el reino vegetal ofrece la mayor variedad de sustancias útiles para tratar las enfermedades humanas, en concreto a aquellas producidas por microorganismos (Domingo y col, 2003). Este suceso ha tenido lugar desde tiempos remotos y muchas culturas han dejado testimonio de ello al transmitirlo de manera oral, de una generación a otra. En otros casos, ese conocimiento se transmitió a través de documentos antiguos como: el papiro de Ebers (Navarro, 1992).

El papiro de Ebers, fue escrito en el antiguo Egipto cerca del año 1502 a.C. y descubierto por George M. Ebers en Egipto en 1873, este documento contiene el registro de la medicina de ese país. Posteriormente, a lo largo de la historia existen otros ejemplos bien documentados, como Homero (siglo IX a.C.), que nos legó los nombres de muchas plantas útiles como meconio (extracto de la “adormidera” o *Papaver somniferum* L). Planta usada para apaciguar los dolores. El gran filoso Aristoteles (384-323 a.C.), también escribió sobre las plantas que se conocían para ese tiempo y el uso que se les daba. Por último y no menos importante, es necesario mencionar a Pedaneo Dioscórides (siglo I), médico de legiones romanas que escribió material médico, en el que enumera más de 600 plantas; algunas usadas en la actualidad (Bucay y col, 2005).

En la época contemporánea, existe un gran interés en la investigación de productos naturales con propiedades antimicrobianas, esto debido a la

resistencia por parte de los microorganismos. La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas, es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos (metabolitos secundarios) presentes en sus extractos y aceites (Nychas, 1995). *Jatropha curcas* L., es una de las especies de la familia Euphorbiaceae, que ha motivado a la investigación debido a la importancia de su utilidad en el control de las enfermedades, principalmente de etiología infecciosa. Se considera que esta especie se ha distribuido por el neotrópico, probablemente por acción humana, pues este arbusto se usa en muchas partes como cerca viva y las semillas como antiparasitario. Los hijos menores de los negros esclavos de Haití removían el embrión (porción tóxica), tostaban la semilla y la comían (Patiño, 2002).

Los registros históricos indican que en el año 1836 las semillas de *Jatropha curcas* L. se producían comercialmente en las islas Cabo Verde y se exportaban a Francia y Portugal. El aceite se utilizaba para el alumbrado de las calles y la producción de jabón (Achten y col, 2008). Otras investigaciones demuestran la existencia de plantaciones en países africanos, cuya producción fue destinada exclusivamente a la industria del jabón en puertos europeos. El cultivo histórico señalado en las islas Cabo Verde, indica que *J. curcas* L., se usaba como cerca (reja) viviente, debido a la presencia de curcina tóxica en las hojas y frutos, haciendo que la planta sea venenosa para los animales siendo evitada por el ganado y otros herbívoros (Sideman, 2010). Aunque las hojas al igual que las semillas y el látex, son usadas en la medicina tradicional para tratar diferentes dolencias en la población, por lo que se amerita su investigación.

En Venezuela el cultivo de *J. curcas* L., se encuentra dirigido a la obtención de biocombustibles como alternativa ante el uso de combustibles fósiles, que favorecen la generación de gases invernaderos (Biollanos C.A.,

2006). Lo que hace indispensable en nuestro país, el estudio de las partes de esta especie, a la que se le han atribuido propiedades terapéuticas.

Bases teóricas

Características Botánicas de la Familia Euphorbiaceae

Euphorbiaceae es la sexta familia de plantas con flores, constituida por más de 8000 especies y 317 géneros que se encuentran en regiones tropicales y subtropicales. Esta familia se adapta a zonas marginales con climas áridos y semiáridos. La mayoría de las especies se caracterizan por sus variaciones morfológicas, que van desde arboles con hojas simples y flores pequeñas, hasta arbustos, hierbas y lianas (Oliveira y col, 2012). A su vez, algunas especies integrantes de esta familia como *Jatropha*, cuentan con propiedades especiales como: dureza, alta resistencia a la pluviosidad, rápido crecimiento y fácil propagación (Pabón y col, 2012; Montenegro, 2011). En consecuencia este género cuenta con unas 172 especies de biotipos variados, que van desde árboles, arbustos hasta plantas suculentas nativas de América Central (López y col, 2011).

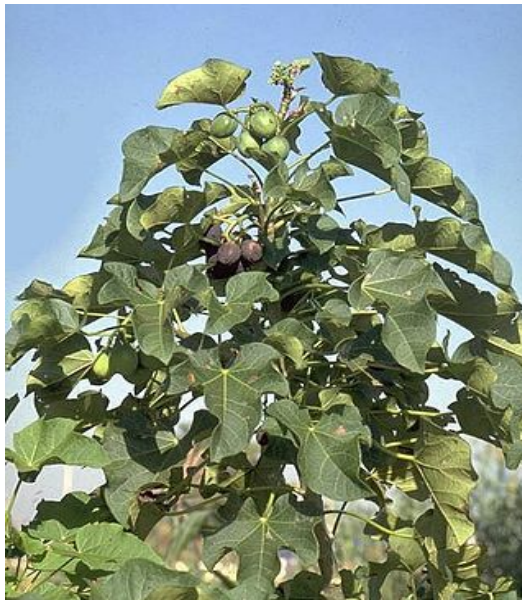
Características Botánicas de la Especie *Jatropha curcas* L.

Jatropha curcas L., también conocida como piñón o jatropa, es una planta oleaginosa que cuenta con más 3500 especies. Esta especie, puede crecer en suelos áridos y semiáridos, soportando períodos largos de sequía (de tres a seis meses). Su tiempo de vida productiva es de aproximadamente 40 años, crece rápidamente; tiene de 4 a 6 metros de altura y ocasionalmente

alcanza los 8 metros. El grosor del tronco es de 20 centímetros con crecimiento desde la base en distintas ramas. Los tallos crecen con discontinuidad morfológica, la corteza es de color verde amarillento, es lisa y delgada como papel (Oyuela y col, 2011).

Las hojas presentan una savia lechosa o rojiza viscosa con tallos frondosos, hojas largas de 6 a 15 cm con igual ancho. Produce inflorescencias de color amarillo-verdoso con flores masculinas y femeninas en la misma planta. Las frutas son cápsulas inicialmente verdes pero al madurar se tornan color negro, el desarrollo del fruto requiere de 90 días desde la floración hasta que madura la semilla. Cada fruta contiene de 2 a 3 semillas, que pueden ser aprovechadas con fines medicinales, especialmente como tratamiento antiinflamatorio, anticoagulante y cicatrizante (Bártoli, 2008; Norber y col, 2008;).

Figura 1. Árbol de *Jatropha curcas* L. fotografía tomada por Darwing Santiago, Noviembre del 2017.



Taxonomía de *Jatropha curcas* L.

Tabla 1. Taxonomía de *Jatropha curcas* L. (Oyuela y cols, 2011).

Reino 	Plantae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Euphorbiales
Familia	Euphorbiaceae
Género	<i>Jatropha</i>
Especie	<i>Jatropha curcas</i> L.

Origen y Cultivo

Linneo, fue el primero que clasificó a esta especie según la nomenclatura “Species Plantarum” como *Jatropha curcas* L. (Linnaei, 1753) manteniéndose vigente hasta la actualidad (Heller, 1996). Es originaria de México y centroamérica (Cultivos Energéticos, 2007), aunque actualmente se cultiva en Sudamérica, Suroeste de Asia, India y África (Ortíz, 2012). Las plantas de este género eran conocidas y utilizadas por los Mayas y sugieren que desde el Caribe, fue probablemente distribuida por los navegantes portugueses a países de África, a través de Cabo Verde, Guinea Bissau y también a países del Sudeste de Asia tales como Indonesia, Malasia y Filipinas (Schoomk, y cols, 1997).

En relación al cultivo, *Jatropha curcas* L., crece en regiones muy secas con altitudes que van desde 5 a 1000 m.s.n.m.; tolerando temperaturas entre

18 y 28,5 °C (Muñoz, y col, 2003). Se planta al comienzo del invierno, colocando la planta dentro del hoyo procurando que la base del tallo quede 10 cm por debajo del nivel de la superficie (Bártoli, 2008). Durante el primer año cuando las ramas alcanzan entre 40-60 cm de largo se efectúa una poda para provocar un mayor número de ramas, que son las que producen las inflorescencias y por consiguiente los frutos (Chang-wei y col, 2007). La cosecha se obtiene desde el primer año de plantación, 90 días después de la floración cuando los frutos alcanzan la coloración amarilla y las semillas su máximo desarrollo (Bártoli, 2008).

Composición Química

Jatropha curcas se compone de agua, proteínas, ácidos grasos: oleico y linoleico, curcina y minerales (nitrógeno, potasio, hierro, zinc, manganeso). También de vitaminas (B1 o tiamina, B2 o riboflavina y C o ácido ascórbico), fibras, carbohidratos y lípidos (Vizcaíno y col, 2005; Huerga y col, 2016; Duque y col, 2016).

En relación a la composición de las partes aéreas, diversos estudios describen la presencia de flavonoides (apigenina, vitexina) (Figura 2), esteroides (stigmasterol y colest-5-en-3- β , 7- β -diol) (Figura 3) y cumarinas (marmesina y propazina) (Figura 4) con actividad antioxidante, identificados en las hojas de *Jatropha curcas* L., sus estructuras fueron establecidas mediante técnicas espectroscópicas (Pabón y col, 2012).

Figura 2. Estructura química de los flavonoides (apigenina y vitexina) aislados de las hojas de *Jatropha curcas* L. (Pabón y col, 2012).

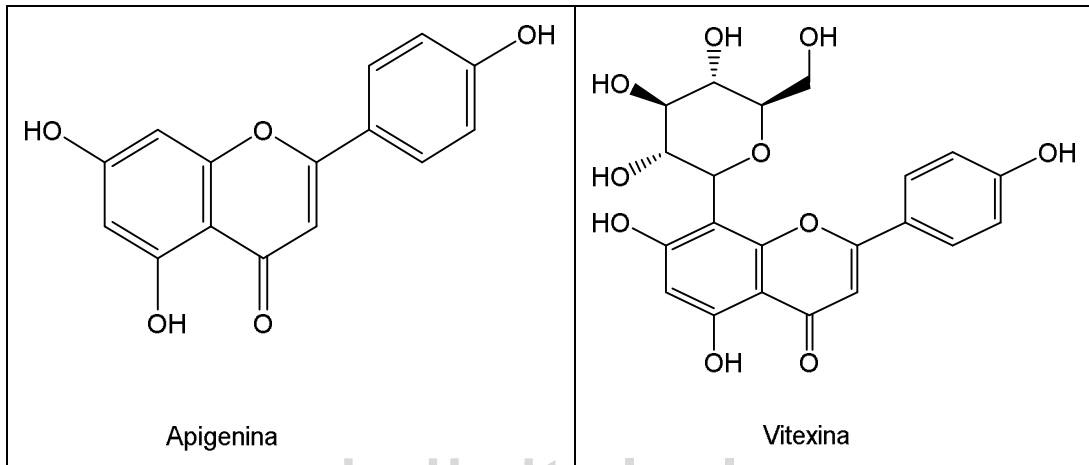


Figura 3. Estructura química del estigmasterol y colest-5-en-3 β , 7 β -diol (esteroles) aislados de las hojas de *Jatropha curcas* L. (Pabón y col, 2012).

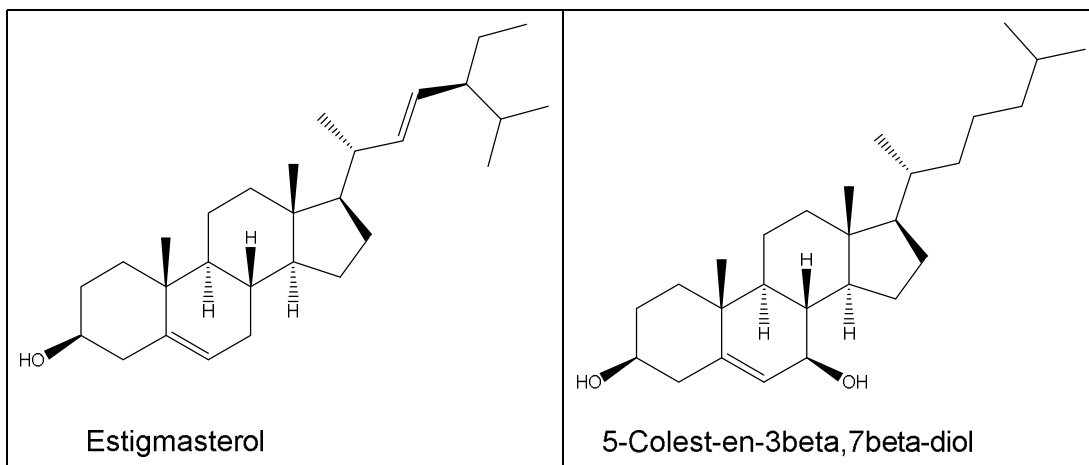
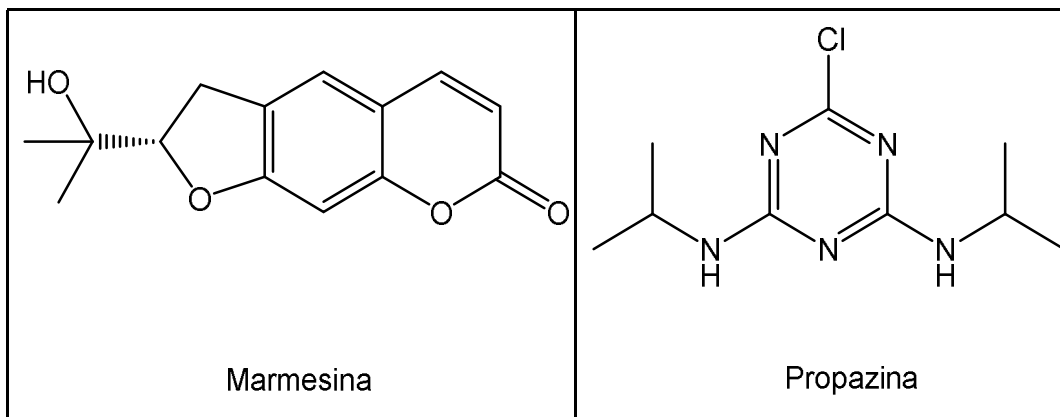
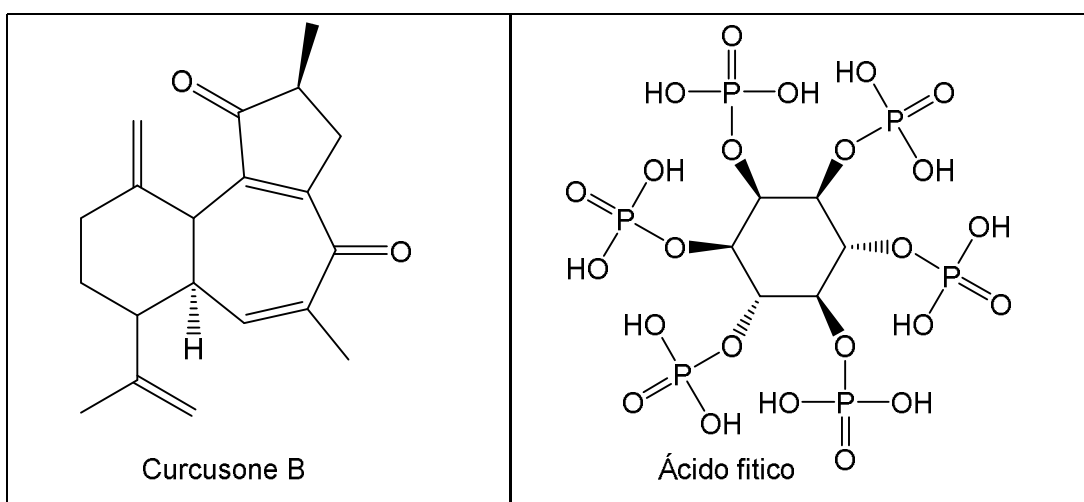


Figura 4. Estructura química de las cumarinas (marmesina y propazina) aisladas de las hojas de *Jatropha curcas* L. (Pabón y col, 2012).



En cuanto a la composición de las semillas, se han identificado esteroides como el β -sitosterol y su β -D-glucósido, azúcares bajo la forma de dulcitol (derivado de la galactosa) y sacarosa. Además contienen entre 30 y 32 % de proteína y de 60 a 66 % de lípidos, lo cual indica su potencia como fuente de energía renovable. Sin embargo, estudios realizados a las semillas de esta especie, demuestran la presencia de componentes antinutricionales; inhibidor de tripsina, curcusone B, saponina y ácido fítico (Figura 5) (Saetae y col, 2010).

Figura 5. Estructura de los principales componentes antinutricionales de la semilla de *Jatropha curcas* L.



Flavonoides: son compuestos fenólicos de bajo peso molecular que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y plantas vasculares, en forma de glicósidos (Cartaya y col, 2001). Son importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de la planta, ya que actúan como; atrayentes de animales en la oviposición, agentes protectores contra la luz UV e infecciones por organismos fitopatógenos (Martínez y col, 2002).

Antocianinas: representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible para el ojo humano. Estos pigmentos son responsables de la gamma de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales, acumulados en las vacuolas de las células. Las antocianinas son glicósidos de las antocianidinas, están constituidas por una aglicona unida a un azúcar por medio de un enlace glucosídico. Algunos estudios, han demostrado que son capaces de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación plaquetaria (Badui, 2006).

Esteroles: son componentes esenciales de las membranas celulares en los vegetales con estructura similar a la del colesterol, diferenciándose en la composición de las cadenas laterales. Derivan del ciclopentano perhidrofenantreno y se conocen más de 40 esteroides vegetales diferentes, los cuales se pueden clasificar en 4-desmetilesteroides y 4,4-dimetilesteroides (Jáuregui y col, 2011). Algunos de ellos como el β -sitosterol, campesterol y estigmasterol presentan doble enlaces y suponen aproximadamente el 95 % de los esteroides vegetales presentes en la dieta. El β -sitosterol y el campesterol son los más abundantes, comprenden el 65 y el 30 % de la ingesta dietética de esteroides vegetales (González, 2013).

Cumarinas: grupo amplio de principios activos fenólicos que se encuentran en las plantas medicinales y tienen en común la estructura química 2H-1-benzopirán-2-ona, denominada cumarina. Sobre esta estructura, que se origina biosintéticamente por hidroxilación y lactonización del ácido cumárico (2-hidroxiz-cumárico), se disponen sustituyentes de distinta naturaleza química lo que da lugar a otros tipos de cumarinas: sencillas y complejas. Se clasifican según su genina, en; hidroxicumarinas, metoxicumarinas, furanocumarinas y piranocumarinas, pudiendo encontrarse en el vegetal en forma de heterósidos (Cabal, 2011).

Extractos Vegetales

Los extractos son preparados que permiten extraer de las plantas determinadas sustancias útiles. Estas sustancias pueden tener diversos efectos, como; fortificantes, para el control de ácaros, roedores, nematodos, bacterias, hongos y virus. Se extraen de alguna porción de la planta; la raíz, el tallo, las hojas, los frutos y las flores, que al someterse a procesos

químicos, permiten aislar compuestos característicos (principios activos) en forma concentrada (Jara y col, 2010).

Obtención de extractos vegetales.

Los extractos de plantas completas o partes específicas como; flores, hojas, cortezas, tallos y raíces, son obtenidos mediante técnicas especializadas de extracción y concentración química. Los solventes usados en el proceso de extracción, se seleccionan de acuerdo con las características de la materia prima, sus componentes y posibles usos. Son secados por liofilización o nebulización y valorados mediante técnicas cromatográficas. Los métodos de extracción dependen fundamentalmente de los objetivos de estudio de la planta. Si el trabajo va dirigido al aislamiento de extractos de una muestra sólida (extracción sólido-líquido), se pulveriza y posteriormente, se extraen los analitos mediante un disolvente (líquido) (Bruneton, 2001; Kováts, 1915).

Técnicas para la obtención de extractos vegetales

Entre las técnicas de extracción se encuentran (Valcárcel y col, 1988):

Mecánicas:

- **Por expresión:** la planta o sus partes se exprimen usando una prensa hidráulica hasta obtener su jugo, es un método utilizado para obtener los zumos de cítricos, aceites y otros.

- **Por incisiones:** se aplica con el fin de obtener exudados del material vegetal, pueden ser gomas, resinas, mieles y otros productos que se producen en gran cantidad al realizarse incisiones o cortes de plantas vivas. Pueden también clavarse tubos en la corteza, por donde fluyan las sustancias.

Destilación:

- **Por arrastre de vapor:** es el proceso de extracción mediante el cual se obtienen aceites esenciales, los cuales son productos grasos compuestos por un número muy grande de compuestos químicos muy volátiles de estructura y composición muy compleja la mayoría son terpenos debajo peso molecular.

Con disolventes (extracción discontinua):

- **Maceración:** la planta seca y molida se pone en contacto con el disolvente a temperatura ambiente, dejando la mezcla en reposo de 3 a 10 días. Pasado el tiempo de maceración, se decanta el extracto y se elimina el residuo vegetal. Se recomienda hacer una segunda extracción.
- **Infusión:** se vierte el disolvente (agua) hirviendo sobre la planta colocada en un recipiente de cierre bien ajustado, a fin de evitar la pérdida de los principios activos y se deja en reposo de 5ª 15 minutos.
- **Decocción o cocimiento:** consiste en introducir la planta en el disolvente y dejarla hervir durante 5 a 20 minutos, a temperatura

superior a la del punto de ebullición, en un recipiente cerrado para evitarla evaporación.

Con disolventes (extracción continua):

- **Percolación:** el material vegetal se coloca en una columna y está en contacto permanente con el disolvente que gotea por la parte inferior arrastrando los principios. Constantemente es necesario agregar disolvente puro en la parte superior de la columna, para compensar la cantidad de disolvente que sale por la parte inferior.
- **Soxhlet:** el material vegetal seco es sometido a una extracción continua. El aparato (Soxhlet) asegura en todo momento la provisión de disolvente puro, que pasa por el material arrastrando los principios activos. El extracto obtenido suele concentrarse eliminando total o parcialmente el disolvente.

Aplicaciones de los extractos vegetales.

Los extractos vegetales son usados por el hombre desde la antigüedad para curar sus dolencias. Lo que ha motivado el estudio de gran diversidad de plantas, permitiendo reportar aplicaciones de una actividad específica. Así, podemos señalar:

- El registro ancestral medicinal de *Jatropha curcas* L., le infiere propiedades como emenagogo, laxante, antidiarreico, analgésico, y antiinflamatorio (Mejía y col, 2000).

- Estudios preclínicos del extracto de semilla de *Jatropha curcas* L., le atribuyen efecto anticonceptivo, antimicótico y acaricida (Rakshit y col, 2008).
- Actividad cicatrizante, coagulante y efecto abortivo (Osoniyi y col, 2003).

Separación e Identificación

Cuando se desea conocer la composición de una sustancia orgánica, se deben tener en cuenta tres aspectos básicos: La obtención de una muestra representativa de la muestra, La separación o aislamiento de cada una de las sustancias componentes de la mezcla y finalmente el análisis e identificación de cada uno de los componentes de dicha muestra. El conocimiento sobre los métodos de aislamiento y purificación de un compuesto, es importante por las siguientes razones: poder determinar su estructura, en los procesos de síntesis y seguimiento de las reacciones. Estos métodos se basan en las diferencias existentes entre las propiedades físicas de los componentes de una mezcla como; punto de ebullición, densidad, presión de vapor, solubilidad, entre otros (López y col, 2005).

Existen muchas técnicas disponibles para la separación y purificación de los principios activos que están relacionadas con la cromatografía, siendo este un método de separación física en el que componentes a separar se distribuyen en dos fases, una estacionaria y otra móvil. La fase estacionaria puede estar empacada en la columna, distribuida como una película o capa delgada. Mientras que la fase móvil puede ser gaseosa o líquida (Gennaro, 2003). Esto permite separar una mezcla en sus componentes de acuerdo a

sus diferentes distribuciones en un sistema de dos fases (Márcano y col, 2002).

La fase móvil puede ser un líquido o un gas, mientras que la fase estacionaria puede ser un sólido o líquido. Entre las cromatografías se encuentran:

Cromatografía de adsorción: la fase estacionaria es un sólido sobre el que se adsorben los componentes de la muestra.

- Cromatografía líquido - Sólido CLS (fase móvil líquido).
- Cromatografía Gas – Sólido CGS (fase móvil gas)
- Cromatografía en Capa Fina (fase estacionaria sólida en forma plana y la móvil líquida).
- Cromatografía líquido - Sólido CLS (fase móvil líquido).
- Cromatografía Gas – Sólido CGS (fase móvil gas)
- Cromatografía en Capa Fina (fase estacionaria sólida en forma plana y la móvil líquida).

Cromatografía de reparto: la fase estacionaria es un líquido sostenido por un sólido inerte.

- Cromatografía Líquido – Líquido CLL (fase móvil líquido).
- Cromatografía Gas – Líquido CGL (fase móvil un gas).
- Cromatografía en papel (fase estacionaria es una capa de agua adsorbida sobre una hoja de papel).

Cromatografía de intercambio iónico: la fase estacionaria es una resina de intercambio iónico y la separación se produce por la unión de los iones a la fase estacionaria.

Cromatografía de exclusión molecular: la fase estacionaria es parecida a un tamiz y la separación se produce en función del tamaño de las moléculas.

Teniendo en cuenta la forma de la fase estacionaria:

- Cromatografía en columna.
- Cromatografía plana (Cromatografía en capa fina y papel).

Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje o screening fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en la planta. (Sharapin, 2000).

Reconocimiento de Alcaloides

Estas pruebas se fundamentan en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos), de combinarse con el yodo y metales pesados formando precipitados. Estas reacciones se basan en los siguientes comportamientos: el yoduro potásico cuando reacciona con cloruro mercúrico, forma un precipitado rojo de yoduro mercúrico; soluble en exceso de iones de yoduro con formación de un complejo de anión complejo incoloro. La solución alcalina de este complejo sirve para descubrir indicios de amoníaco. En esta reacción se forma el compuesto de color pardo oxyoduro mercuriamoníaco, que es soluble en exceso de complejo generando intenso color amarillo. Los alcaloides por su carácter nitrogenado pueden comportarse de forma similar al amoníaco, ante estos reactivos; muchos alcaloides presentes en el material vegetal forman con el bismuto, yoduros dobles insolubles (Coy y col, 2014).

Reconocimiento de compuestos fenólicos y Taninos

La prueba de cloruro férrico es un ensayo colorimétrico utilizado para determinar la presencia de fenoles en el material vegetal. Se usa una disolución al 1 % de cloruro de hierro (III) que ha sido neutralizada con hidróxido sódico hasta que forme un leve precipitado de $\text{FeO}(\text{OH})$. La sustancia orgánica se disuelve en agua, metanol o etanol, luego se añade la solución neutra de cloruro: se forma un complejo coloreado transitorio o permanente (normalmente púrpura, verde o azul) indica la presencia de un fenol o enol.

Esta prueba permite determinar tanto fenoles como taninos. El desarrollo de una coloración rojo-vino, indica la presencia de compuestos fenólicos en general, el desarrollo de una coloración verde intensa, muestra la presencia de taninos del tipo pirocatecólicos. El desarrollo de una coloración azul, sugiere taninos del tipo pirogalol, derivados del ácido gálico (Marcano y col, 2002).

Reconocimiento de Flavonoides

Para su detección se emplea principalmente la reacción de la cianidina, también conocida como reacción de Shinoda. Para ello se coloca la muestra a estudiar en un tubo de ensayo con 0,5 gramos de magnesio en polvo, seguidamente se adiciona HCL concentrado, gota a gota, hasta el desprendimiento de hidrogeno. Si se observa la aparición de coloración rojiza, violeta o naranja, se considera positivo para compuestos con el núcleo de la γ -Benzopirona (flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, isoflavonoides, y xantonas). También existen otro tipo de flavonoides

denominados leucoantocianidas, los cuales por cambios en el pH se tornan incoloras e intensamente coloreadas de rojo (Marcano y col, 2002).

Reconocimiento de Esteroles y Terpenos

La demostración de la presencia de esteroles (colesterol) se hace por medio de la reacción de Liebermann-Burchard, que es específica para esteroles con insaturación en los anillos A,B o C. Las reacciones de color de los esteroles se deben a una deshidratación preliminar para formar dienos. La formación de una coloración azul o verde en la interfase indica la presencia de esteroles, si la coloración es rosa, rojo, magenta o violeta habrá presencia de triterpenos (Marcano y col, 2002).

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento de antraquinonas

Las quinonas son diacetonas cíclicas insaturadas que por reducción se convierten en polifenoles, siendo reversible esta reacción. Las quinonas derivan su nombre del miembro más simple de la serie: *p*-benzoquinona obtenida en 1838 por Woskresensky, como producto de oxidación del ácido quínico. Las quinonas, por el sistema aromático quedan al reducirse se pueden clasificar en Benzoquinonas, Naftoquinonas, Antraquinonas (las más numerosas) y fenantroquinonas (Martínez y col, 2008).

Para la detección de este tipo de metabolitos secundarios se adiciona hidróxido de amonio al 2 %. En caso de presencia de nafto o antraquinonas, al dejar separar las fases: la capa alcalina (inferior) toma una coloración que va del rosado al rojo intenso, dependiendo de la concentración de estos compuestos en la muestra (Marcano y col, 2002).

Reconocimiento de Saponinas

Las saponinas son glicósidos cuya aglicona consiste en un núcleo esteroidal o triterpénico; esta característica estructural les confiere un carácter anfótero que les permite actuar como tensoactivos. Aprovechando esta propiedad, la prueba más empleada en la detección de saponinas es la prueba de formación de espuma; consiste en agitar vigorosamente la solución acuosa, obtenida de la muestra, en un tubo de ensayo y observar la espuma formada. Esta debe ser estable por lo menos 30 minutos para poder establecer la presencia de saponinas (Marcano y col, 2002).

Bacterias

Son seres unicelulares procariotas que presentan una gran variedad de formas de vida y están constituidos por una célula o varias. Son capaces de realizar sus procesos vitales de crecimiento, generación de energía y reproducción, independientemente de otras células sean de la misma clase o de otra diferente (Madigan y cols, 2004). Existen bacterias fotosintéticas, quimiosintéticas y heterótrofas. Estas pueden ser saprofitas, descomponedores o patógenas, como las que causan tuberculosis y sífilis. Carecen de un núcleo delimitado por membrana, aunque presentan un nucleoide que contiene una molécula circular de ADN y su citoplasma carece de organelas. Allí se pueden apreciar plásmidos (contienen material genético extracromosómico, que porta genes de resistencia a los antibióticos) presentan también vacuolas y ribosomas. La membrana citoplasmática es una estructura vital para la bacteria, debido a que separa el interior del exterior celular, y junto a la pared celular y el citoplasma son

denominados componentes externos, permanentes o constantes (Willey, 1999).

La clasificación de las bacterias se hace con relación al contenido de peptidoglicano en la pared celular. Uno de los procedimientos más utilizados para identificar a las bacterias es la tinción de Gram, ya que utiliza dos colorantes y divide a las bacterias en dos grupos: bacterias Gramnegativas y bacterias Grampositivas. La pared celular de las bacterias Gramnegativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana externa. Mientras, que las bacterias Grampositivas poseen una pared celular gruesa, rica en peptidoglicano y carece de membrana externa. La composición química y el contenido de peptidoglicano en las bacterias Grampositivas y Gramnegativas explica y determina las características tintoriales (Murray, 2007).

Características de las Bacterias Usadas en el Estudio

Bacterias Grampositivas: Dentro de los microorganismos Grampositivos usados en el presente estudio solo hablaremos de las especies: *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

Staphylococcus aureus

TABLA 2. Clasificación Taxonómica de *Staphylococcus aureus* (García, y col, 2014).

Reino	Bacteria
Clase	Bacilli
Familia	Staphylococcacea
Género	<i>Staphylococcus</i>
Especie	<i>aureus</i>

El género *Staphylococcus* contiene al menos 30 especies, las de importancia clínica son; *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*. Son células esféricas Grampositivas que se disponen en racimos irregulares parecidos a racimos de uva, inmóviles, aerobios facultativos, catalasa positivo que miden de 0,5 a 1,5 micras de diámetro y fermentan carbohidratos. *Staphylococcus aureus* se encuentra ampliamente distribuido en el medio ambiente, por lo que afecta a todas las especies de mamíferos, siendo frecuente la transmisión entre humanos y animales y viceversa (Manzo y col, 2014). Es la única especie de los estafilococos que produce la enzima coagulasa y es capaz de crecer con mucha rapidez sobre distintos medios de cultivo, incluyendo medios con altas concentraciones de NaCl (7,5 %) (García y col, 2014).

Staphylococcus aureus se encuentra formando parte de la flora normal de la piel y fosas nasales de las personas sanas. Causa gran variedad de infecciones cuyos signos y síntomas varían según la localización de la misma, la manifestación clásica es el absceso localizado. Sin embargo, dependiendo de la severidad de la afección suele generalizarse provocando infección sistémica. Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de toxinas provocan enfermedades como; fiebre escarlatina, síndrome de piel escaldada y síndrome de choque tóxico (Bonilla y col, 2005).

Enterococcus faecalis

TABLA 3: Clasificación taxonómica de *Enterococcus faecalis* (Porte y col, 2007)

Reino	Bacteria
Clase	Bacilli
Familia	Enterococcaceae
Género	<i>Enterococcus</i>
Especie	<i>faecalis</i>

El género *Enterococcus* también son microorganismos Grampositivos que se disponen en cadenas cortas, de las cuales han sido descritas hasta al menos 29 especies (Porte y col, 2007). Los enterococos forman parte de la flora normal del tracto gastrointestinal humano y del tracto genital de la mujer. Sin embargo, pueden ser encontrados en; suelo, comida, plantas, agua, animales, pájaros e insectos. En los humanos, las especies más frecuentes son *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* pues constituyen, entre ambos el 90 % de los aislados en el laboratorio clínico (Pérez y col, 2010). *Enterococcus faecalis* es el más abundante en el tracto gastrointestinal de los humanos, es una bacteria inmóvil, anaerobia facultativa, catalasa negativa y fermenta la glucosa. Puede crecer en caldo con 6,5 % de NaCl e hidrolizar la esculina en presencia de sales biliares (Porte y col, 2007).

Enterococcus faecalis tiene poco potencial patogénico en el hospedador normal; aunque, en ancianos y pacientes inmunocomprometidos, este microorganismo se comporta como patógeno oportunista. Las infecciones ocurren cuando las defensas del individuo descienden por una enfermedad y por el uso de dispositivos invasivos. La mayor parte de las infecciones son originadas por una fuente endógena, es decir, el enterococo proviene de la

flora bacteriana de la persona misma. Entre las enfermedades que producen los enterococos se puede destacar; la bacteriemia y endocarditis (Pérez y col, 2010)

Bacterias Gramnegativas: Existe una amplia variedad de microorganismos gramnegativos, pero en esta investigación solo nos enfocamos en los géneros *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Escherichia coli

TABLA 4: Clasificación Taxonomía de *Escherichia coli* (Rodríguez, 2002)

Reino	Bacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Familia	Enterobacteriaceae
Género	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>coli</i>

El género *Escherichia coli* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo Gramnegativo, anaerobio facultativo que mide 0,5 micras de ancho por 3 micras de largo, no forman esporas, son móviles por la presencia de los flagelos peritricos. Además son catalasa positivo, oxidasa negativo, reduce los nitratos a nitritos y fermenta la glucosa con producción de gas (Rodríguez, 2002). Este género forma parte de la flora normal del intestino humano, donde no causa problemas y es necesaria para el funcionamiento correcto del proceso digestivo. Sin embargo, *Escherichia coli* posee estructuras antigénicas complejas que producen diferentes toxinas y factores

de virulencia, provocando infecciones intestinales y extraintestinales como: infecciones del aparato excretor, vías urinarias, meningitis, septicemia entre otros (Vidal, 2003).

Pseudomonas aeruginosa

TABLA 5: Clasificación Taxonómica de *Pseudomonas aeruginosa* (Ochoa y col, 2013).

Reino	Bacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Familia	Pseudomonadaceae
Género	<i>Pseudomonas</i>
Especie	<i>aeruginosa</i>

Pseudomonas aeruginosa pertenece a la familia Pseudomonadaceae, son bacilos o diplococos Gramnegativos, aerobios no esporulados y no fermentadores de carbohidratos. Sus requerimientos nutricionales no son exigentes, por lo que puede crecer en casi todos los medios de cultivo y al igual que *Escherichia coli* reduce los nitratos a nitritos. En los medios de cultivo se observan colonias lisas, grandes y brillantes, produce pigmentos y tiene olor característico a fruta (Ochoa y col, 2013). Es un patógeno oportunista en inmunocomprometidos produciendo graves infecciones en vías respiratorias, vías urinarias, tejidos y septicemia (Lloria, 2009)

Klebsiella pneumoniae

TABLA 6: Clasificación Taxonómica de *Klebsiella pneumoniae* (Garrity, 2004)

Reino	Bacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Familia	Enterobacteriaceae
Género	<i>Klebsiella</i>
Especie	<i>pneumoniae</i>

Klebsiella pneumoniae es un bacilo Gramnegativo, anaerobio facultativo que carece de flagelo por lo que es inmóvil. Se encuentra en el aparato respiratorio y en las heces de casi el 5 % de las personas sanas. Es la especie con mayor relevancia clínica dentro del género *Klebsiella*, ya que desempeña un papel importante como causa de infecciones oportunistas. Causa alrededor del 1 % de las neumonías bacterianas y puede causar condensación hemorrágica extensa del pulmón. En algunas ocasiones produce infección del tracto urinario y bacteriemia a partir de lesiones focales en pacientes inmunosuprimidos. Siendo las complicaciones más frecuentes el absceso pulmonar y el empiema (Garrity, 2004).

Enfermedades Causadas por las Cepas Bacterianas Utilizadas en el Presente Estudio

Staphylococcus aureus

- Infecciones que resultan de la contaminación directa de una herida postoperatoria o infección después de un traumatismo (osteomielitis, meningitis).
- Infecciones de la piel y tejidos subcutáneos. Como abscesos, forúnculos, impétigo y celulitis.
- Síndrome de shock tóxico.
- Enteritis tóxica.
- Endocarditis.
- Bacteremias.
- Infecciones urinarias (Bonilla y col, 2005).

Enterococcus faecalis

- Infecciones del tracto urinario.
- Bacteriemia.
- Infecciones intra-abdominales.
- Endocarditis (Pérez y col, 2010).

Escherichia coli

- Infecciones gastrointestinales.
- Infecciones del tracto urinario.
- Meningitis neonatal (Vidal, 2003)

Pseudomonas aeruginosa

- Otitis externa.
- Infección de heridas (foliculitis).
- Endocarditis.
- Neumonía.
- Gastroenteritis.
- Septicemia (Lloria, 2009)

Klebsiella pneumoniae

- Neumonía.
- Infección del tracto urinario.
- Infecciones del tracto respiratorio.
- Septicemia.
- Meningitis en recién nacidos (Garrity, 2004).

Antibióticos

Uno de los grandes avances de la medicina ha sido el descubrimiento y uso de sustancias que permiten controlar los procesos infecciosos, es decir los antibióticos. La terapia antimicrobiana inició en 1935 con el descubrimiento y uso de las sulfonamidas, seguida del uso clínico de la penicilina en 1940. Desde entonces se han realizado muchas investigaciones tratando de encontrar sustancias biológicas con propiedades antimicrobianas, producidas o sintetizadas por microorganismos. A estas sustancias se les denomina antibióticos. Posteriormente la investigación se dirigió a sintetizar en el laboratorio, nuevas sustancias con propiedades antimicrobianas y a modificar las ya existentes, mejorando así sus características. A estas sustancias sintetizadas en el laboratorio se les

denomina antimicrobianos, aunque el término antibiótico es más generalizado (Vargas, 2013).

Los antibióticos se pueden definir como un producto del metabolismo microbiano, capaz de matar o inhibir el crecimiento de los microorganismos. La especificidad de acción depende de que el fármaco bloquee una enzima o sustrato no presente en las células eucariotas humanas. Para que el antibiótico ejerza su acción es necesario que llegue al foco infeccioso, penetre las bacterias (por difusión o transporte activo) y alcance intracelularmente la concentración necesaria (Martínez y col, 2007).

Basados en su estructura química y mecanismos de acción, los antibióticos se clasifican en (Martínez y col, 2007):

- Inhibidores de la síntesis de la pared celular bacteriana.
- Inhibidores de la función de la membrana citoplasmática.
- Inhibidores de la síntesis de proteínas.
- Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos.

Antibióticos que Inhiben la Síntesis de la Pared Celular

La pared celular de las bacterias es sintetizada en el citoplasma celular y en la superficie interna de la membrana citoplasmática, está constituida por peptidoglicano (Martínez y col, 2007). Esta estructura que es más gruesa en Grampositivos, protege a la célula de su destrucción y le confiere resistencia osmótica. Las bacterias, debido a su crecimiento, están continuamente renovando su peptidoglicano y transportándolo a su sitio adecuado en la pared celular. En consecuencia, estos antibióticos actúan uniéndose a enzimas que actúan en la última etapa de la síntesis de peptidoglicano, inactivándolas, es decir inactivan a las proteínas fijadoras de penicilina

(PBP). Además inducen un efecto autolítico, por tanto lo tanto son bactericidas. Los inhibidores de la síntesis de la pared celular son: β -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenemos y glucopeptidos) (García y col, 1999).

Al primer grupo de inhibidores se les conoce como β -lactámicos, puesto que la base de su estructura química es el anillo β -lactámico. Estos tienen escasa toxicidad directa, es decir, actúan sobre la pared celular del microorganismo que no está presente en la célula animal. Siendo el principal mecanismo de resistencia la producción de betalactamasas por parte de la bacteria. No obstante, para que el betalactámico sea activo, es necesario que este unido a otros radicales (otros anillos). La acción bactericida, depende del tiempo que la bacteria este expuesta a concentraciones superiores a la concentración mínima inhibitoria (CMI) (García y col, 1999).

Los glucopeptidos son bactericidas en bacterias en fase de división y bacteriostáticos en *Enterococcus* sp. y *Staphylococcus* sp. con sensibilidad disminuida a la vancomicina. Actúan sobre la segunda fase de síntesis de la pared bacteriana, inhibiendo la formación del peptidoglicano. Además alteran la permeabilidad de la membrana citoplasmática bacteriana y la síntesis de ARN (Murray, 2007).

Antibióticos que Inhiben la Síntesis de la Membrana citoplasmática

La membrana citoplasmática es vital para todas las células ya que interviene activamente en los procesos de difusión y transporte activo, controlando de esta forma la composición del medio interno celular. Las sustancias que alteran su estructura, modifican la permeabilidad y provocan la salida de iones de potasio, elemento esencial para la vida bacteriana, o la

entrada de otros que alteran el metabolismo bacteriano. Los antimicrobianos que actúan en esta estructura se comportan como bactericidas y pueden tener elevada toxicidad sobre las células humanas. A este grupo pertenecen las polimixinas, los lipopéptidos y los antibióticos poliénicos (Calvo y col, 2009)

Antibióticos que Inhiben la Síntesis de Proteínas

En el ribosoma bacteriano, el centro de decodificación se encuentra en una pequeña región del ARNr 16S de la subunidad 30S, mientras que el lugar de formación de los péptidos está constituido por nucleótidos contenidos en un bucle del dominio V del ARNr 23S de la subunidad 50S (Martínez y col, 2007). La síntesis de proteínas es uno de los procesos más afectados por la acción de los antimicrobianos, su inhibición selectiva es posible gracias a las diferencias estructurales entre los ribosomas bacterianos y eucariotas. En esta estructura, diferentes componentes pueden ser lugares de unión para los antimicrobianos, por ejemplo; determinados nucleótidos para las oxazolidinonas, algunas proteínas S para las tetraciclinas o proteínas L para el cloranfenicol (Calvo y col, 2009).

Antibióticos que Inhiben la Síntesis de los Ácidos Nucleicos

El genoma bacteriano contiene información para la síntesis de proteínas que se transmite a través del ARN mensajero producido a partir del molde de ADN, también para la síntesis de ARN ribosómico que formara parte de los ribosomas de la bacteria. La información del ADN debe duplicarse cuando la bacteria se divide, para transmitir esa información a la descendencia. Tanto la replicación como la transcripción se realizan en varias fases con la

participación de diferentes enzimas y sustratos, además del ADN molde, que constituyen dianas para la acción de diversos antibióticos (Calvo y col, 2009).

Los antibióticos que interfieren en la síntesis de los ácidos nucleicos actúan bloqueando la síntesis de sus componentes, inhibiendo la replicación o parando la transcripción (Martínez y col, 2007). Dentro de este grupo de antibióticos se incluyen las rifamicinas y las quinolonas, que interfieren en los procesos de transcripción. Los nitroimidazoles y nitrofuranos actúan directamente sobre el ADN dañándolo, por lo tanto los antibióticos de este grupo no son selectivos en su acción y exhiben cierta toxicidad para las células eucariotas (Calvo y col, 2009).

Métodos para Determinar la Actividad Antibacteriana en Extractos de Plantas

Las pruebas de susceptibilidad microbiana, son técnicas esenciales en la investigación y los resultados pueden variar dependiendo de una gran cantidad de factores involucrados en el desarrollo de las mismas (Bakht y col, 2015). Entre ellos; la selección de las plantas, el tipo de extracción y la elección de los bioensayos apropiados. Hasta detalles como la cantidad de inóculo y técnica utilizada para la determinación de actividad antimicrobiana, influyen en los resultados de manera contundente en los resultados. Los métodos para evaluar la actividad de extractos sobre bacterias y hongos se clasifican en dos grupos principales: difusión y dilución (Ramírez y col, 2009).

Método de Difusión en Agar (Kirby-Bauer)

Es un método cualitativo, de fácil estandarización e indicado para microorganismos no exigentes nutricionalmente y de crecimiento rápido (Ramírez y col, 2009). Por consiguiente es utilizada para evaluar la susceptibilidad de las bacterias a los agentes antimicrobianos (Ramírez y col, 2006). Este método está apoyado por datos clínicos y de laboratorio, es reproducible y se desarrolla en base a los fundamentos descritos por Kirby y Bauer en 1966 (Ramírez y col, 2009). Se conoce con el nombre de “prueba de Kirby-Bauer” y consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración (Ramírez y col, 2006).

Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona inhibición, que corresponde con la inhibición del crecimiento bacteriano. La interpretación de los halos de inhibición permite expresar el resultado como: sensible, sensibilidad intermedia o resistente. La categoría sensible indica que la infección debida al microorganismo aislado puede ser tratada con el antibiótico a la dosis recomendada según la gravedad de la infección. La categoría intermedia sugiere que el antibiótico tiene aplicabilidad clínica en sitios corporales donde el antibiótico alcance concentraciones terapéuticas adecuadas. Si la bacteria aislada, no es inhibida por el antibiótico a las concentraciones terapéuticas ideales, indica

que ha generado mecanismos de resistencia de resistencia y se considera resistente (Ramírez y col, 2006).

Método de Dilución en Caldo o Agar

Los métodos de dilución son apropiados para la determinación cuantitativa de la actividad antimicrobiana. En esta técnica una cantidad de extracto de planta o compuesto activo, es mezclado con una cantidad de medio de cultivo (García y col, 2016). El crecimiento se realiza en medio líquido, en el que se ha realizado una dilución conocida del extracto de planta. En función del volumen de medio utilizado tenemos dos tipos: macrodilución que es volumen superior o igual a 1 mL y microdilución suele emplear volúmenes de 0,1 mL. En la actualidad estos métodos se utilizan para la determinación concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los antimicrobianos (Wayne, 1999).

Método de las Tiras de Epsilon

Es un método alternativo para el estudio cuantitativo de la sensibilidad antimicrobiana, sencillo y se correlaciona bien con el método de dilución en caldo. Consiste en una tira de plástico no poroso que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano. Se inocula la placa de agar con el microorganismo y la tira de Etest se coloca sobre su superficie produciéndose la difusión del antibiótico desde el soporte hasta el agar. Tras la incubación se puede observar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica (Wayne, 1999).

Método de ELISA (Ensayo por Inmunoabsorción Ligada a Enzimas)

Permite medir el crecimiento bacteriano, debido a su alta sensibilidad y especificidad, este método ha sido reportado en trabajos de investigación enfocados en la búsqueda de sustancias naturales inhibitoras del crecimiento de los microorganismos (Eloff, 1998). Para reportar la actividad antimicrobiana de una sustancia pura o de composición definida, el resultado obtenido debe relacionar a la sustancia en estudio con una medida de su bioactividad. Generalmente, la actividad antibacteriana se reporta con la IC50 y CIM, la IC50 antibacteriana reporta la concentración que inhibe el 50 % de crecimiento bacteriano y la CIM (concentración inhibitoria mínima) expresa la concentración más baja de sustancia que inhibe dicho crecimiento (Eloff, 1988). La ventaja de esta metodología es que usa pequeñas cantidades de sustancia de prueba para desarrollar la microdilución. El crecimiento del inóculo se verifica por el aumento de turbidez en el medio, lo cual se registra en un lector ELISA (Eloff, 1998).

Definición Operacional de Términos

Extracto Vegetal

Son productos vivos, obtenidos mediante una extracción sólido-líquido con un solvente que permite recuperar los metabolitos secundarios de la planta (Escudero, 2012).

Metabolitos Secundarios

Son compuestos químicos sintetizados por las plantas que no cumplen funciones esenciales en ella, no son indispensables, pues no intervienen en el metabolismo primario de la plantas (Escudero, 2012).

Espectro de Masas

Representa la abundancia relativa de los distintos iones en función de su relación carga/masa, se obtienen convirtiendo los componentes de la muestra en iones gaseosos (Harvey, 2002).

Cromatograma

Es la representación gráfica de la señal en función del tiempo una vez que la muestra es inyectada a un sistema cromatografico (Harris, 2007).

Inóculo

Es una porción de la población de microorganismos (Ramírez y col, 2006).

Operacionalización de las variables

Según Hernández, Fernández y Baptista (2017):

Las variables son conceptos abstractos. Por eso, es necesario transformar estos conceptos en empíricos para que se puedan medir...En tal sentido, se operacionalizarán las variables dependientes e independientes con el fin de identificar el indicador que muestre la presencia de estas características (p.33).

La variable dependiente: actividad antibacteriana de los extractos de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L. y la variable independiente: composición química de los extractos de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L., fueron operacionalizadas utilizando varios criterios. Específicamente, se categorizó el tipo de variable y se definió conceptual y operacionalmente. Estos aspectos fueron importantes para conocer las dimensiones de la variable y, a la vez, referir cómo se mide. (Tabla 7 y 8).

Tabla 7. Operacionalización de la Variable Dependiente actividad antibacteriana de los extractos de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L.

1.Variable	2.Tipo de variable	3.Definición conceptual ¿Qué es?
Actividad antibacteriana de los extractos hexano, diclorometano y etanol de las partes aéreas de <i>Jatropha curcas</i> L.	Dependiente	(Domingo y col, 2003) establecen; es la capacidad de bloquear los ataques de microorganismos interfiriendo en su acción
4.Definición operacional ¿Cómo se mide?	5.Dimensiones	6.Indicadores
La actividad antibacteriana se puede medir a través del Método de difusión en agar (Kirby-Bauer).	.Sensible .Resistente	.Halo de inhibición

Tabla 8. Operacionalización de la Variable Independiente composición química de los extractos de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L.

1.Variable	2.Tipo de variable	3.Definición conceptual ¿Qué es?
Composición química de los extractos de hexano, diclorometano y etanol de las partes aéreas de <i>Jatropha curcas</i> L.	Independiente	Sustancias (metabolitos secundarios) presentes en los extractos y en que proporciones se encuentran (Lincoln y col, 2006)
4.Definición operacional ¿Cómo se mide?	5.Dimensiones	6.Indicadores
(Gutiérrez y col, 2002) establecen; la CG-EM como técnica para la identificación de los metabolitos secundarios presentes en las plantas	.Presencia de triterpenos .Presencia de ácidos fenólicos .Presencia de taninos .Presencia de flavonoides .Presencia de alcaloides .Presencia de Cumarinas .Presencia de saponinas	Porcentaje de triterpenos, ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, cumarinas y saponinas

Sistema de Hipótesis

Hipótesis Alternativa

(H1) Estudios previos demuestran que especies de la familia Euphorbiaceae también producen metabolitos secundarios como Flavonoides, triterpenos y esteroides biológicamente activos. En este sentido, es de esperar que los extractos obtenidos de las partes aéreas de la especie *Jatropha curcas* L. posean actividad antibacteriana en cepas de referencia internacional, en el Laboratorio de Antinomicetos del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, durante el periodo de Junio de 2017 hasta Mayo de 2018.

www.bdigital.ula.ve

Hipótesis Nula

(Ho) Probablemente los extractos obtenidos de las partes aéreas de la especie *Jatropha curcas* L., no poseen actividad antibacteriana en cepas de referencia internacional en el Laboratorio de Antinomicetos del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, durante el periodo de Junio de 2017 hasta Mayo de 2018.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

El tipo de investigación guarda relación con lo que se desea conocer sobre un fenómeno, formalizado a través de la pregunta y el objetivo general enunciado con el verbo específico (Hurtado, 2010). Por tal motivo, esta investigación fue confirmatoria, puesto que se confirmó la relación entre la actividad antibacteriana y la composición química de los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de las partes aéreas (hojas y cascaras) de la *Jatropha curcas* L. en cepas de referencia internacional.

Diseño de la Investigación

El diseño de la investigación constituye el conjunto de estrategias que el investigador empleará para dar respuesta al enunciado holopráxico. En atención al diseño, esta investigación fue experimental, contemporáneo, transversal y de laboratorio (Hurtado, 2010). Puesto que la especie vegetal (*J. curcas*) fue sometida a determinados tratamientos, para observar los efectos o reacciones de la misma. El estudio se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones y en el Laboratorio de Antinomicetos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes en un lapso de tiempo determinado. Por lo tanto el diseño también fue de laboratorio, contemporáneo y transversal ya que las muestras se procesaron en el presente y el dato se recolectó solo una vez.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

El grupo de estudio estuvo representado por los extractos (hexano, diclorometano y etanol) de las partes aéreas de la *Jatropha curcas* L.

Tamaño Muestral

La muestra estuvo integrada por la recolección de 200 gramos de hojas y cascara de la especie vegetal. La determinación botánica la realizó el Ingeniero Juan Carmona, adscrito al herbario MERF (Mérida Farmacia) de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Sistema de Variables

www.bdigital.ula.ve

Las variables relacionadas con el propósito de la investigación fueron: a) Variable Independiente (VI): composición química de los extractos de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L. b) Variable Dependiente (VD): actividad antibacteriana de los extractos de las partes aéreas de *Jatropha curcas* L.

Procedimientos de la Investigación

Recolección del Material Vegetal

El material vegetal correspondiente a las partes aéreas de la *Jatropha curcas* L., fue recolectado en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes y registrado en el mismo con el código M.H y D.S 01.

Extracción y Preparación del Extracto Vegetal

Para la preparación de los extractos de *J. curcas* L., se pesaron 200 gramos de hojas y cascaras previamente secas y pulverizadas, fueron sometidas a un proceso de maceración al frío con hexano, diclorometano y etanol a temperatura ambiente por 24 horas. Posteriormente se filtró al vacío el solvente llevándolo a concentrar en un rota vapor a presión reducida, obteniéndose los extractos concentrados (Esquema 1).

Tamizaje Fitoquímico

Para la determinación de los metabolitos secundarios presentes en cada extracto, mediante las pruebas fitoquímicas se procedió a la evaporación de los solventes. Entre las pruebas químicas cualitativas efectuadas se encuentran:

- **Ensayo Dragendorff, Wagner y Mayer (alcaloides):** Se pesa una porción del extracto etanólico y se le adicionaron 10 mL de HCl 10 %, se colocaron en baño de maría hasta ebullición por 30 minutos. Se filtró y el filtrado se distribuyó en 3 tubos de ensayo. Se adicionó a cada tubo gotas del reactivo correspondiente (Dragendorff, Wagner y Mayer). La aparición de turbidez y un precipitado indica la positividad de la prueba.
- **Reacción de Cloruro Férrico (FeCl_3):** se tomo una alícuota de los extractos y se le adicionó 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica. La presencia de una coloración rojo vino evidencia la presencia de compuestos fenólicos en general. El desarrollo de una coloración verde intensa indica la presencia de taninos pirocatecólicos. Si se torna a un color azul indica la presencia de taninos pirogalotánicos.

- **Reacción de Shinoda:** se tomó una porción del extracto diluido y se le adicionó 1 mL de etanol absoluto, 3 gotas de ácido cianhídrico concentrado y virutas de magnesio. La formación de una coloración roja indica la presencia de auronas o chalconas. Si al agregar magnesio se forma una coloración naranja a roja indica la presencia de flavonas, si es rojo flavonoles y si es magenta flavononas.
- **Reacción de Lieberman:** se tomo 2 mL del extracto líquido diluido, posteriormente se añadió 1 mL de ácido acético anhidro y 2 gotas de de ácido sulfúrico concentrado, se dejo reposar durante 5 minutos. La formación en la interfase de un color azul o verde indica la presencia de esteroides. La formación en la interface de un color rosa, rojo, magenta o violeta indica la presencia de triterpenoides.
- **Prueba de la Espuma:** se coloco 10 gotas del extracto en un tubo de ensayo y se adicionó 1 mL de agua destilada, se agitó vigorosamente. La positividad de la prueba se evidencia por la presencia de espuma.
- **Prueba de Hidróxido de Amonio (NH₄OH):** a una pequeña porción del extracto se le adicionó una gota de hidróxido de amonio concentrado. La presencia de una coloración roja que aparece en los dos primeros minutos indica antraquinonas.

Separación e Identificación de los Compuestos Químicos de los Extractos

Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM):

El análisis por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG-EM) se realizó en un equipo marca Hewlett Packard 6890 equipado con una columna de fenil-metil-polixilosano de 30 m de largo x 0,25 mm (HP-5) y un detector de masa Hewlett Packard MSD 5973. La

identificación de los componentes se estableció usando las bases de datos; Wiley MS Data Library 6th edición, Nist 5.L y HP CH2705.L.

Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de *Jatropha curcas* L.

La actividad antibacteriana fue evaluada en el laboratorio en el Laboratorio de Antinomicetos del Instituto de Investigaciones, ubicado en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo la supervisión de la Doctora Yndra Cordero de Rojas y la Doctora Ysbelia Obregón.

Evaluación de la actividad antibacteriana:

A partir de los extractos (hexano, diclorometano y etanol), se prepararon las siguientes diluciones: 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 y 15,62 ppm. Todos los extractos fueron disueltos en dimetil sulfóxido (DMSO) para obtener concentraciones de 1000 ppm. La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó mediante el método de difusión del disco en agar, para cual se seleccionaron 5 microorganismos; 2 especies de bacterias Grampositivas y 3 especies de bacterias Gramnegativas de referencia internacional pertenecientes a la colección de cultivos Tipo Americano (ATCC). Estas fueron obtenidas del Cepario del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, a cargo de la Lic. María Eugenia Nieves.

Para el presente ensayo se tomaron en cuenta los controles positivos (Ampicilina, Eritromicina y Piperacilina), según lo establecido por el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI) para cada especie bacteriana. En la tabla 9 se observan los halos de inhibición obtenidos con los

antibióticos controles para las cepas de referencia, los cuales mostraron ser sensibles según el punto de corte recomendado por el CLSI.

TABLA 9. Halos de inhibición de los controles positivos para las cepas de referencia internacional

Cepas bacterianas	Halos de Inhibición en mm Control Positivo					
	Ampicilina		Eritromicina		Piperacilina	
	Referencia	Experimental	Referencia	Experimental	Referencia	Experimental
<i>S. aureus</i> ATCC 25923			≥ 23 mm	26 mm		
<i>E. faecalis</i> ATCC 29219	≥ 17 mm	17 mm				
<i>E. coli</i> ATCC 25922					≥ 21 mm	11 mm
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357					≥ 21 mm	8 mm
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853					≥ 21 mm	30 mm

Preparación de las Placas:

A cada placa se le colocó aproximadamente 15 mL del agar Müller-Hinton previamente preparado y esterilizado, se realizó siguiendo las instrucciones de la casa comercial, bajo la supervisión de la Dra. Yndra Cordero de Rojas, posteriormente se dejó solidificando a temperatura ambiente.

Preparación de los Discos Impregnados:

Los discos de papel filtro se cortaron a un diámetro de 6 mm, se organizaron en placas de Petri de vidrio y se esterilizaron con luz ultravioleta (UV) 24 horas antes del ensayo. Posteriormente, se le adicionaron 10 µL de los diferentes extractos de *Jatropha curcas* L.

Preparación de los inóculos bacterianos:

Para la preparación de los inóculos bacterianos las cepas frescas fueron purificadas en medio de cultivo nutritivo, con un tiempo de incubación de 16 a 18 horas, de estas se tomó una pequeña cantidad de colonias con una asa en aro y se suspendieron en una solución de cloruro de sodio al 0,85 % estéril, ajustando el inóculo hasta una concentración bacteriana equivalente a 0,5 en la escala de Mac Farland (10^{6-8} UFC/mL).

Inoculación de las placas:

Una vez preparadas las placas se inocularon con un hisopo de algodón estéril, debidamente humedecido con los inóculos bacterianos en forma homogénea; girando sucesivamente dicha placa en ángulos de 90°.

Análisis de la actividad antibacteriana

Se empleó el método de difusión del disco en agar (prueba de Kirby-Bauer), por lo que el inóculo bacteriano fue diseminado con un hisopo sobre la superficie de una placa con Müeller-Hinton. Posteriormente, se colocaron los discos de papel filtro impregnados con los diferentes extractos, además se colocó el control negativo (DMSO) y los estándares de antibióticos de referencia como control positivo. Piperacilina para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*; Eritromicina para *Staphylococcus aureus* y Ampicilina para *Enterococcus faecalis*. Las pruebas fueron realizadas por duplicado. Las placas inoculadas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura con regla milimetrada, midiendo la zona clara alrededor de los discos de papel filtro impregnados con los diferentes extractos. Se interpretó un resultado como positivo o sensible (actividad antibacteriana) cuando se

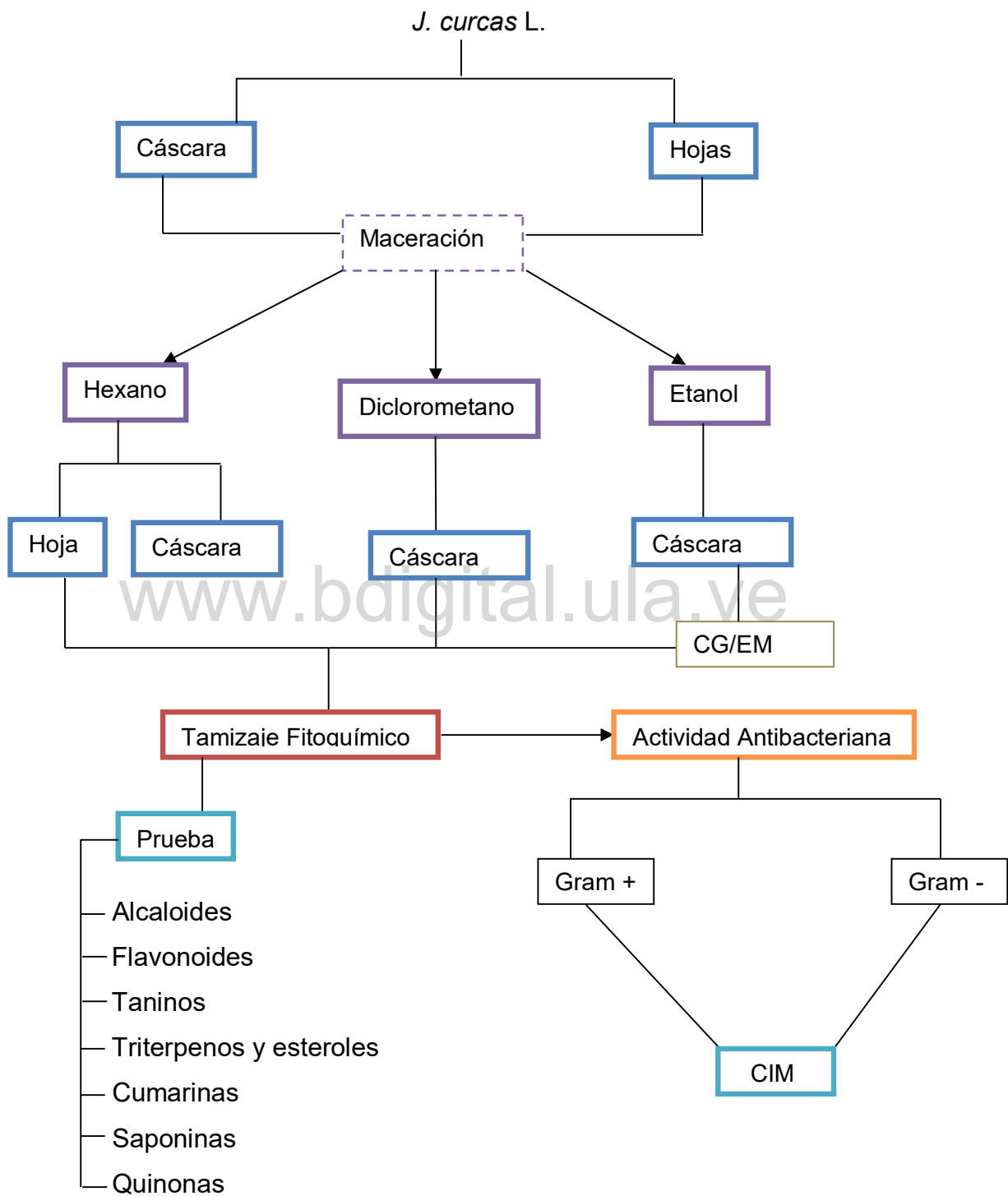
observó un halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor del disco. El caso contrario, la ausencia de dicho halo se interpretó como negativo o resistente (sin actividad antibacteriana). Los halos de inhibición alrededor de los discos fueron interpretados en mm.

Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Se determinó la CIM: que corresponde a la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo. Este procedimiento se llevó a cabo realizando diluciones de los extractos con dimetilsulfóxido (DMSO), utilizando el mismo método de difusión del disco en agar. Las diluciones seriadas fueron: 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 y 15,62 ppm.

www.bdigital.ula.ve

Esquema 1. Obtención de los diferentes extractos de *J. curcas* L.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Jatropha curcas L., es una especie vegetal recolectada en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, fue sometida a procesos de extracción con la finalidad de obtener los extractos de hexano, diclorometano y etanol.

Los extractos de *Jatropha curcas* L., se obtuvieron a partir de las hojas y cáscaras pulverizadas, las cuales se sometieron a un proceso de maceración al frío empleando hexano, diclorometano y etanol. Sin embargo, para el análisis; fitoquímico, por CG-EM y la evaluación de la actividad antibacteriana solo se trabajó con los extractos de hexano (hojas y cáscara), diclorometano y etanol (cáscara). Pues fueron los únicos extractos que se disolvieron en acetona, siendo este el procedimiento recomendado para el análisis de las muestras por CG-EM.

Los porcentajes de rendimiento de extracción obtenidos fueron: 6,37 % del extracto de hexano (hojas), 12,18 % del extracto de hexano (cáscara), 11,72 % del extracto de diclorometano (cáscara) y 12,21 % del extracto de etanol (cáscara). Posteriormente los extractos se sometieron a un tamizaje o screening fitoquímico preliminar, para detectar la presencia de metabolitos secundarios. Los resultados de las pruebas químicas realizadas se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados del análisis fitoquímico de las hojas y cáscara de *Jatropha curcas* L.

Pruebas	Metabolitos	EHH	EHC	EDC	EEC
Reacción de Lieberman-Burchard	Triterpenos y Esteroles	+	+	+	+
Reacción de Tricloruro Férrico	Taninos				-
Reacción de Gelatina	Taninos				
Reacción de Shinoda	Flavonoides	-	-	-	-
Prueba de Hidróxido de Amonio	Quinonas		-	-	-
Prueba de Hidróxido de Amonio	Cumarinas	-	-	-	-
Prueba de Dragendorff	Alcaloides				-
Prueba de Mayer					-
Prueba de Wagner					-
Prueba de la Espuma	Saponinas				-

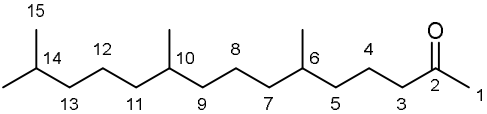
EHH: Extracto de Hexano (hojas), **EHC:** Extracto de Hexano (cáscara) **EDC:** Extracto de Diclorometano (cáscara), **EEC:** Extracto de Etanol (cáscara).

En el screening fitoquímico realizado no se detectaron taninos, flavonoides, cumarinas, quinonas, saponinas, pues no se observó un cambio de color de los extractos al someterlos a las respectivas reacciones químicas mencionadas anteriormente. Tampoco se mostró la presencia de alcaloides, debido a que no hubo producción de precipitado en el extracto etanólico (cáscara). Solo se encontró la presencia de esteroides en los cuatro extractos estudiados, que se evidenció mediante el cambio del color original de los extractos a verde. Sin embargo estos resultados no coinciden con los de Igbinosa y col, 2011; quienes demuestran cualitativamente la presencia de saponinas y flavonoides en el extracto hexánico de las hojas. Mientras que Méndez y col, 2018; reportan la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides en los extractos de hexano y diclorometano (hojas) de la especie *Jatropha curcas* L. que recolectaron en el Estado Mérida.

Análisis de la composición química de los extractos según las bases datos Wiley, Nist y HP

El análisis de los extractos de *Jatropha curcas* L., se realizó por medio de un equipo de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM), el cual permitió conocer la composición química y la abundancia relativa de los principales componentes de cada extracto. Según los cromatogramas y los espectros de masas, el componente mayoritario del extracto de hexano (hojas) resulto ser el hexahidrofarnesil acetona (34,70 %) y el heptacosano (19,05 %) para el extracto de hexano (cáscara). El alcano octacosano (22,00 %) y el 1-eicosanol o alcohol arachidico (11,94 %) para los extractos diclorometano y etanol de cáscara respectivamente (Figura 6). Además se identificaron otros 36 compuestos de los diferentes extractos, los cuales se describen a continuación.

Figura 6. Estructura química de los componentes mayoritarios de los extractos de hojas y cáscara de *Jatropha curcas* L.

Compuestos Identificados	Estructura Química
Hexahidrofarnesil acetona	
Heptacosano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{25} - \text{CH}_3$
Octacosano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{26} - \text{CH}_3$
Arachidil alcohol	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{18} - \text{CH}_2\text{OH}$

Extracto hexanólico de las hojas de *Jatropha curcas* L.

El cromatograma del extracto de hexano (hojas) de *Jatropha curcas* L. (Figura 7), mostró la presencia; del monoterpeno; geranial, el diterpeno; fitol y el triterpeno; escualeno. También los alcanos como; el tricosano, el pentatriacontano y el tetracontano. Otros compuestos identificados fueron; el ácido hexanoico, 3-tetradecil ester, la colchamina, y el esterol; β -sitosterol

(Figura 8). El análisis fitoquímico preliminar realizado para este extracto en el presente estudio, demostró cualitativamente la presencia de esteroides, resultado que concuerda con lo reportado en la literatura (Gubitiz y col, 1999; Staubmann y col, 1999). En la tabla 11 se muestra los metabolitos del extracto con sus respectivos tiempos de retención y abundancia relativa.

Al comparar los resultados obtenidos con trabajos previos sobre el extracto de hexano (hojas), resultó ser similar para la misma especie recolectada en otros países. Tal es el caso, de un estudio realizado en Malasia por Namuli y col, 2011; donde reportan como componentes mayoritario al β -sitosterol (16,50 %), y el ácido oleico (41,60 %). En Tailandia (2016), un estudio a cargo de Saosoong y col, mostró la presencia del ácido hexadecanoico (22,30 %) en el extracto hexanólico de las hojas de *Jatropha curcas* L., resultado que coincide con el reportado en el presente trabajo. Sin embargo, es importante señalar que solo existen estos 2 trabajos acerca de la composición química del extracto de hexano (hojas) de la especie *Jatropha curcas* L.

Figura 7. Cromatograma del extracto de hexano (hojas) obtenido de *Jatropha curcas* L.

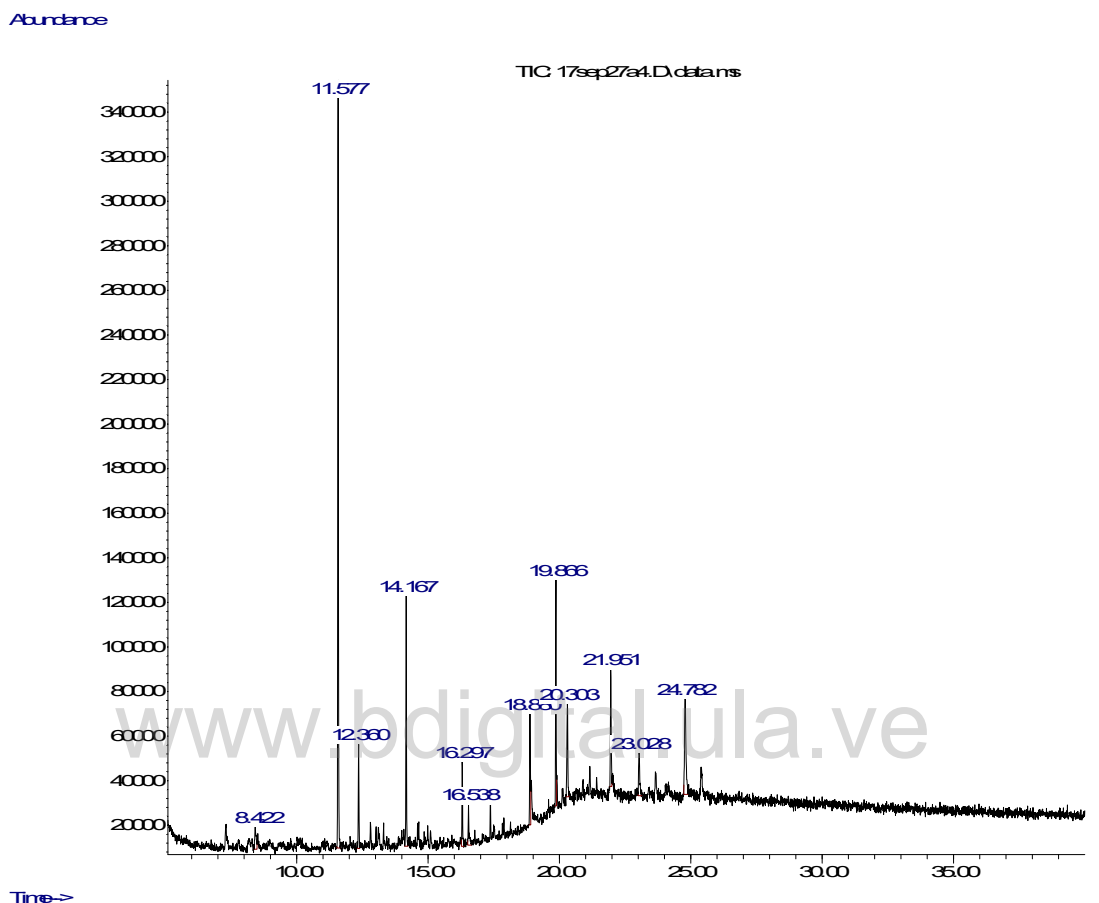
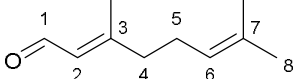
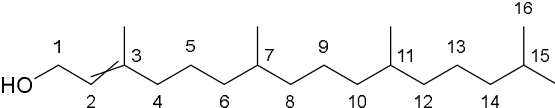
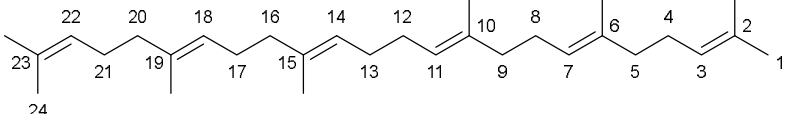
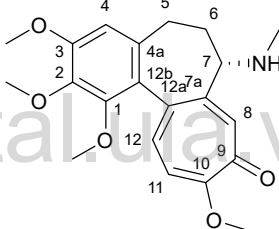
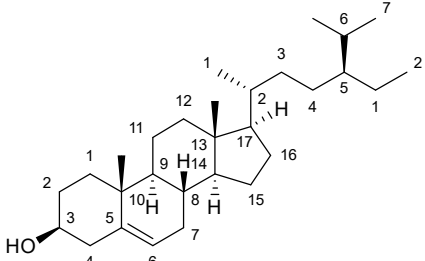


Tabla 11. Metabolitos identificados por CG-EM en el extracto hexanólico de las hojas de *Jatropha curcas* L.

# de pico	Tiempo	% de área	Posibles nombres del compuesto
1	11,58	34,70	Hexahidrofarnesil acetona
2	12,36	4,91	Geranial
3	14,17	10,65	Fitol
4	16,30	4,01	Acido hexadecanoico, 3-tetradecil ester
5	18,88	6,03	Tricosano
6	19,87	8,77	Escualeno
9	20,30	6,24	Pentatriacontano
7	21,95	6,46	Tetracontano
8	23,03	3,56	Colchamina
9	24,78	10,10	β -sitosterol

Figura 8. Estructura química de los componentes del extracto hexanólico de las hojas de *Jatropha curcas* L.

Compuestos Identificados	Estructura Química
Geranial	
Fitol	
Escualeno	
17-pentacotano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{15} - \text{CH}=\text{CH} - (\text{CH}_2)_{16} - \text{CH}_3$
Tetracontano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{38} - \text{CH}_3$
Colchamina	
Betasitosterol	

Extracto hexanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

En cuanto al extracto de hexano (cáscara), el cromatograma (Figura 9) mostró la presencia del alcano tricosano (ver estructura en la Figura 7) al igual que en el extracto de hexano (hojas) de la especie estudiada, solo que en menor proporción. También, indicó la presencia del alcohol arachidico (ver estructura en la figura 6), estigmasterol (esterol), y otros alcanos como;

el tetracosano, pentacosano, hexacosano, heptacosano, octacosano y el triacontano (Figura 10). Al igual que en el extracto hexanólico de las hojas de *Jatropha curcas* L., se detectó cualitativamente esteroides en el tamizaje químico realizado. Siendo el estigmasterol el único representante de este grupo presente en el extracto hexanólico de la cáscara. Entre los beneficios que se le han dado se encuentra; la disminución del colesterol total y colesterol LDL, efecto; antiinflamatorio, antihumoral, fungicida y bactericida (Jauregui y col, 2011; Garglulo, 2005). En la tabla 12 se muestra los metabolitos del extracto con sus respectivos tiempos de retención y abundancia relativa.

Figura 9. Cromatograma del extracto de hexano (cáscara) obtenido de *Jatropha curcas* L.

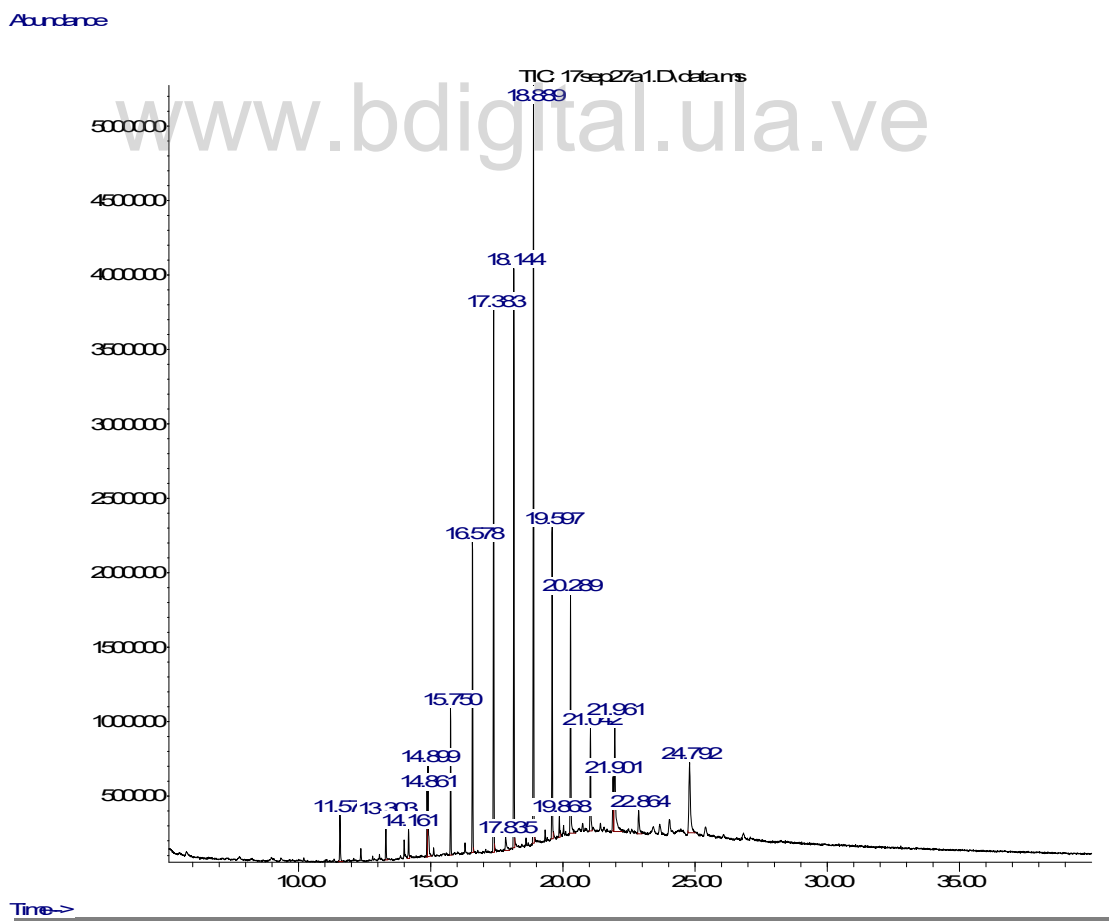
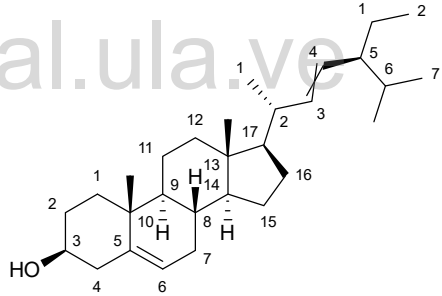


Tabla 12. Metabolitos identificados por CG-EM en el extracto hexanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

# de pico	Tiempo	% de área	Posibles nombres del compuesto
1	15,75	3,60	Tricosano
2	15,58	7,87	Tetracosano
3	17,38	13,80	Pentacosano
4	18,14	13,99	Hexacosano
4	18,89	19,05	Heptacosano
6	19,60	8,11	Octacosano
7	20,29	7,19	Nonacosano
8	21,04	3,27	Triocontano
9	21,96	5,60	Alcohol arachídico
10	24,79	4,68	Estigmasterol

Figura 10. Estructura química de los componentes del extracto hexanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

Compuestos Identificados	Estructura Química
Estigmasterol	
Tetracosano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{22} - \text{CH}_3$
Pentacosano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{23} - \text{CH}_3$
Hexacosano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{24} - \text{CH}_3$
Heptacosano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{25} - \text{CH}_3$
Octacosano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{26} - \text{CH}_3$
Nonacosano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{27} - \text{CH}_3$
Triacontano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{28} - \text{CH}_3$

Extracto diclorometanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

El resultado del cromatograma del extracto diclorometanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L. (Figura 11), evidencio la presencia de la

metilcetona alifática: 2-pentadecanona, el ester de ácido palmítico y de alcohol isopropílico: isopropilester del ácido palmítico, y el isopropil linoleato (Figura 12). También, el ácido oleico (ácido graso insaturado), los alcanos; otacosano (ver estructura en la figura 9), octadecano, tetratriacontano y 17-pentatriacontano (ver estructura en la figura 7); esterol: β -sitosterol (ver estructura en la figura 6). Es importante señalar, que el ácido oleico estimula la captación de glucosa en los adipocitos y posee actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (CMI 2,2 mg/mL), según lo reporta la literatura (Berra y col, 2016). En la tabla 13 se muestra los metabolitos del extracto con sus respectivos tiempos de retención y abundancia.

Figura 11. Cromatograma del extracto de diclorometano (cáscara) obtenido de *Jatropha curcas* L.

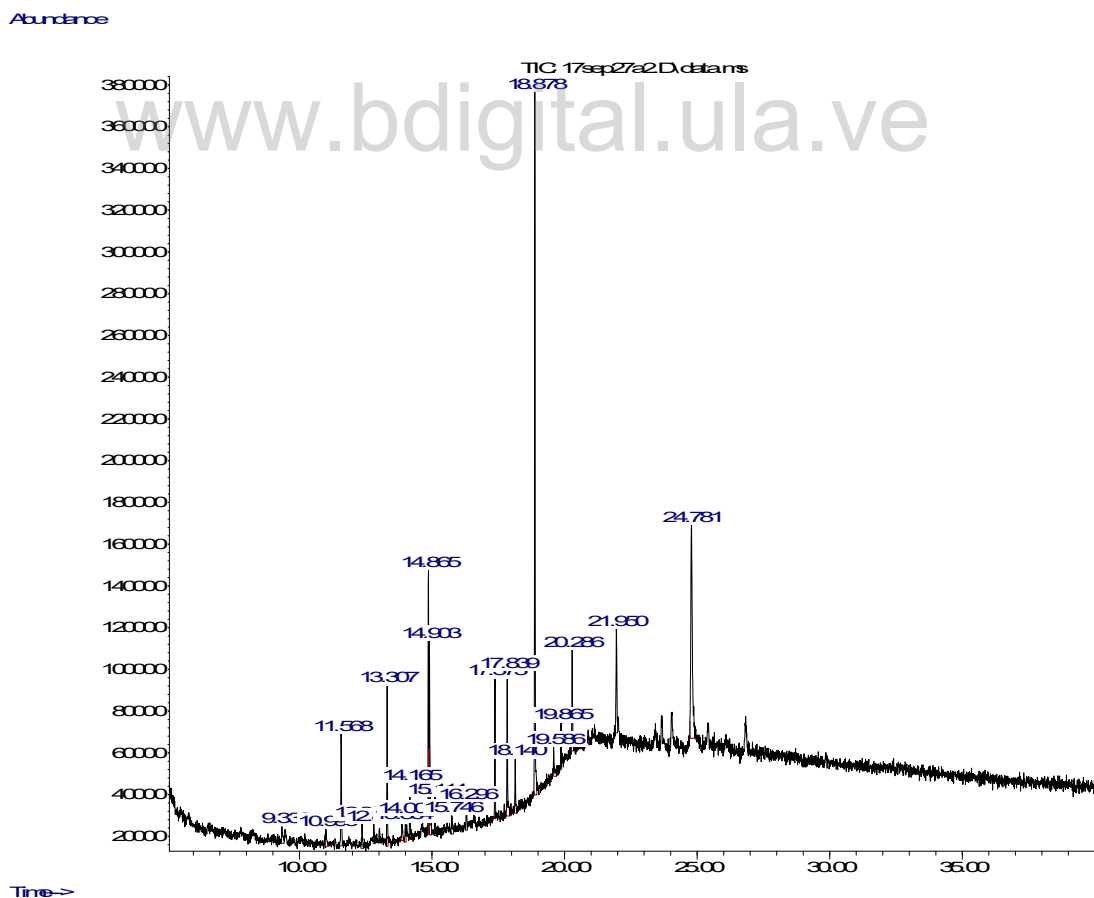


Tabla 13. Metabolitos identificados por CG-EM en el extracto diclorometanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

# de pico	Tiempo	% de área	Posibles nombres del compuesto
1	11,57	4,21	2-pentadecanona
2	11,31	5,01	Isopropilester del ácido palmítico
3	14,87	9,29	Isopropil linoleato
4	14,90	7,84	Ácido oleico
5	17,37	3,98	Octadecano
6	18,79	22,0	Octacosano
7	20,29	3,52	Tetratriacontano
8	21,91	4,82	17-Pentatriacontano
9	24,78	17,36	β -sitosterol

Figura 12. Estructura química de los componentes del extracto diclorometanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

Compuestos Identificados	Estructura Química
2-pentadecanona	$\text{CH}_3 - \text{CO} - (\text{CH}_2)_{28} - \text{CH}_3$
Isopropil ester del ácido palmítico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{COO} - \text{CH}(\text{CH}_3)_2$
Ácido oleico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$
Octadecano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{16} - \text{CH}_3$
Tetratriacontano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{32} - \text{CH}_3$

Extracto etanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

En cuanto al extracto de etanol (cáscara), el cromatograma (Figura 13) mostró la presencia de un alcano; el hexadecano (Figura 14) y el esterol; el β -sitosterol (ver estructura en la Figura 8). También, se identificaron 8 esteres de ácidos grasos; metil ester del ácido hexadecanoico, ácido 9,12-octadecadienoico, metil ester del ácido linolelaídico, etil ester del ácido hexadecanoico, etil ester del ácido linoleico, etil ester del ácido oleico, etil ester del ácido esteárico y metil elaidato (Figura 14). Otros compuestos

identificados fueron; el ácido oleico, 1-eicosanol y el β -sitosterol. En la tabla 14 se muestra los metabolitos del extracto con sus respectivos tiempos de retención y abundancia relativa

Figura 13. Cromatograma del extracto de etanol (cáscara) obtenido de *Jatropha curcas* L.

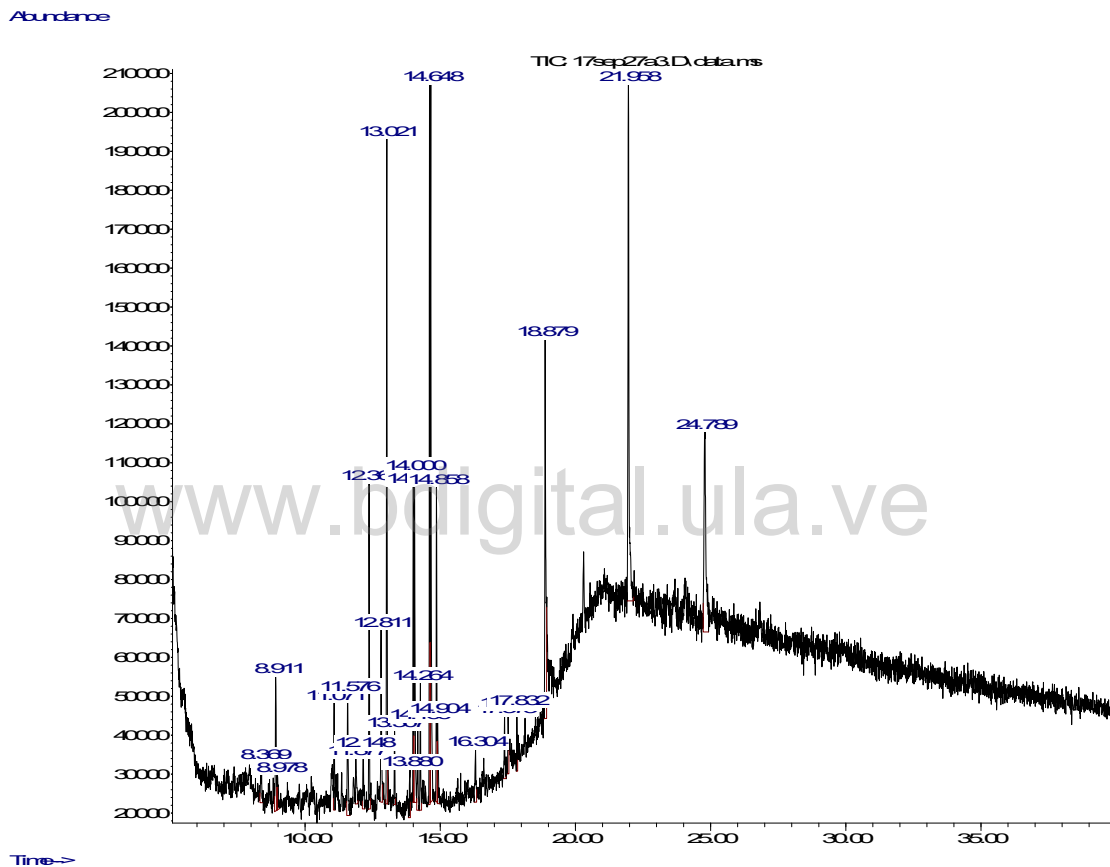


Tabla 14. Metabolitos identificados por CG-EM en el extracto etanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

# de pico	Tiempo	% de área	Posibles nombres del compuesto
1	8,91	2,78	Hexadecano
2	12,36	4,54	Metil ester del ácido Hexadecanoico
3	13,02	9,17	Etil ester del ácido Hexadecanoico
4	14,00	4,23	1) Acido-9,12-Octadecadienoico 2) Metil linoleaidato 3) Metil ester ácido Linoleaidico
5	14,05	5,56	1) ácido 9-Octadecenoico 2) Metil elaidato
6	14,60	9,65	Etil ester del ácido Linoleico
7	14,65	10,76	Etil ester del ácido Oleico
8	14,86	4,37	Etil ester del ácido esteárico
9	21,96	11,94	1-eicosanol
10	24,78	8,24	β -sitosterol

Figura 14. Estructura química de los componentes del extracto etanólico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

Compuestos identificados	Estructura química
Hexadecano	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{CH}_3$
Metil ester del ácido hexadecanoico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{COO} - \text{CH}_3$
Metil ester del ácido linoleaidico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_4 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COO} - \text{CH}_3$
Etil ester del ácido hexadecanoico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{COO} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$
Metil elaidato	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COO} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$
Etil ester del ácido oleico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COO} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$
Etil ester del ácido esteárico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{16} - \text{COO} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$
Etil ester del ácido linoleico	

Evaluación de la actividad antibacteriana

El ensayo con los extractos obtenidos de la especie *Jatropha curcas* L. mediante el método de difusión del disco en agar, mostró actividad antibacteriana frente a las cepas ATCC estudiadas, obteniéndose halos de inhibición contra *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, a excepción de *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. Estos microorganismos que mostraron halos de inhibición con una concentración de 1000 ppm, se les determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), preparando diluciones de 500, 250, 125, 62,5, 31,25 y 15,62 ppm con dimetilsulfóxido (DMSO) y etanol. Los resultados de la actividad antibacteriana se muestran en la tabla 15.

Los extractos de hexano (hojas), hexano, diclorometano y etanol (cáscara) presentaron una concentración mínima inhibitoria contra *Klebsiella pneumoniae* a 1000 ppm. Los extractos de hexano (hojas) y hexano (cáscara) también fueron activos frente a *Pseudomonas aeruginosa* a 500 ppm. Mientras que el extracto de diclorometano (cáscara) mostró inhibición del crecimiento de; *Klebsiella pneumoniae* a 1000 ppm, *Pseudomonas aeruginosa* a 500 ppm y *Escherichia coli* a 31,25 ppm. El extracto obtenido con etanol de la cáscara de *Jatropha curcas* L. también presentó actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* a 250 ppm. Sin embargo, en este ensayo algunos de los extractos presentaron halos de inhibición (7 mm), considerablemente cercanos al diámetro del disco y menores que para el antimicrobiano usado como control positivo, por lo que no fueron considerados para la CMI.

Estudios realizados en especies de la familia Euphorbiaceae han demostrado que poseen actividad analgésica, antifúngica, antiinflamatoria, antidiurética, antihumoral y anticancerígena (Bittner y col, 2001; De-Ji y col, 1991). Los investigadores peruanos Villegas y col, 1993 demostraron que la especie *Jatropha curcas* L., presenta actividad cicatrizante en tejidos

asociados con heridas internas y externas (úlceras gástricas). Estudios realizados en Mali, Nigeria, Camerún, Camboya, Filipinas y Malasia, indican que esta especie es activa contra la malaria y es eficaz en el tratamiento de la ictericia, el reumatismo y la diarrea (Villegas y col, 1993, Akintayo, 2004).

Los resultados de este estudio (Tabla 15) revelan que los extractos provenientes de las hojas y cáscara de *Jatropha curcas* L. presentan actividad antibacteriana sobre las cepas ensayadas, excepto en *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Los únicos extractos que no mostraron actividad sobre *Escherichia coli* fueron; el extracto de hexano (hojas) y hexano (cáscara). Estos resultados son consistentes con los reportados por Méndez y cols, 2018, en los que demostraron que los extractos de hexano y diclorometano (hojas) no presentaron actividad frente a *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. Además, indicaron que tales extractos tampoco mostraron actividad frente a *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, resultados contrarios a los obtenidos en este estudio.

En 2008 un estudio publicado por Reena y col, demuestra que extractos obtenidos de las hojas de *Jatropha curcas* L. contienen apigenina, vitexina e isovitexina, etc., que en conjunto con otros factores, les permiten ser usados contra la malaria. También reportan, un comportamiento antibacteriano del extracto etanólico frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* de 1,25 mg/mL. Mientras, Namuli y col, 2011 reportaron que el extracto de hexano de las hojas de *Jatropha curcas* L. mostró una CMI de 9,4 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y de 15,6 para *Bacillus subtilis*. En el análisis realizado por CG-EM, del extracto de hexano (hojas) se logró identificar el β -sitosterol como componente mayoritario; al cual le atribuyen el efecto antibacteriano sobre las cepas mencionadas anteriormente.

Al comparar los resultados del estudio fitoquímico y el análisis por CG-EM, se puede presumir que los posibles compuestos responsables de la actividad antibacteriana en los extractos de hojas y cáscara son: los

terpenos, esteroides (hojas y cáscara), ácidos grasos y los ésteres de ácidos grasos (presentes solo en la cáscara). Entonces se considera que el hecho de que las bacterias Gramnegativas sean sensibles a los compuestos antibacterianos de los extractos de *J. curcas* L. Puede deberse, a las diferencias estructurales de las bacterias; la pared celular de las Gramnegativas es más delgada y tiene una membrana externa con un alto porcentaje de lípidos. Lo cual supone que los principios activos de naturaleza lipídica, sean capaces de atravesar la pared celular rápidamente para que produzcan su acción. Estos resultados son importantes porque permiten validar el uso medicinal de las hojas y la cáscara, ya que fueron activos contra bacterias Gramnegativas y grampositivas.

Tabla 15. Halos de inhibición expresados en mm (milímetros) de los extractos obtenidos de *Jatropha curcas* L. frente a las bacterianas ensayadas.

Bacterias	Extractos Vegetales																											
	Hojas							Cáscara																				
	Hexano							Hexano					Diclorometano					Etanol										
	1000	500	250	125	62,5	31,3	15,6	1000	500	250	125	62,5	31,3	15,6	1000	500	250	125	62,5	31,3	15,6	1000	500	250	125	62,5	31,3	15,6
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>K. pneumoniae</i>	9	7	7	7	7	7	0	10	7	7	7	7	7	0	9	7	7	7	7	7	0	8	7	7	7	7	7	0
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7	7	7	0	9	9	9	9	9	8	7	9	7	7	7	7	7	0
<i>P. aeruginosa</i>	10	9	7	0	0	0	0	8	8	7	7	7	7	0	8	8	7	7	7	7	0	10	10	8	7	7	7	0

○ CIM (Concentración inhibitoria mínima).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Considerando la interpretación de los resultados obtenidos en esta investigación, el autor menciona las siguientes conclusiones:

- El tamizaje químico de los extractos de hojas y cáscara de *Jatropha curcas* L. determinó la presencia solamente de esteroides, que pueden ser responsables de la actividad antibacteriana.
- El extracto obtenido con hexano de las hojas de *Jatropha curcas* L., reveló la presencia de compuestos que inhiben el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* a 1000 ppm y *Pseudomonas aeruginosa* a 500 ppm. Sin embargo, este extracto no tuvo efecto alguno en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.
- Los extractos obtenidos de la cáscara de *Jatropha curcas* L. mostraron ser más activos frente *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, que el extracto de hexano (hojas). Específicamente, el extracto diclorometano (cáscara) inhibió el crecimiento de *Escherichia coli* a bajas concentraciones (31,25 ppm).
- Las cepas bacterianas inhibidas por los extractos que presentaron actividad antibacteriana son; Gramnegativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*).
- Al comparar los resultados obtenidos de las diluciones de los extractos de hexano (hojas), hexano, diclorometano y etanol (cáscara), se determinó que las diluciones de la cáscara presentaron halos de

inhibición de mayor diámetro que las del extracto hexánico de las hojas, por lo que se presume que los esteroides y ésteres de ácidos grasos presentes en la cáscara de *Jatropha curcas* L., producen un aumento en la actividad de estos extractos.

- El estudio realizado sugiere que los principios activos extraídos de las hojas con hexano y de la cáscara con hexano, diclorometano y etanol, pueden jugar un rol significativo en la acción inhibitoria contra otras cepas bacterianas. Demostrando el potencial antimicrobiano de la especie *Jatropha curcas* L. recolectada en el Estado Mérida.

Recomendaciones

- Se recomienda realizar estudios enfocados en aislar, identificar, separar y elucidar las moléculas presentes en los extractos obtenidos de las hojas y la cáscara de *Jatropha curcas* L., responsables de la actividad antibacteriana con la finalidad de generar alternativas, para la obtención de nuevos antibióticos a partir de una fuente de origen natural.
- Se recomienda determinar el efecto antibacteriano de los extractos estudiados de *Jatropha curcas* L. frente a otros microorganismos, en especial con patógenos humanos.
- Se recomienda investigar la actividad antimicótica de estos extractos, para confirmar, si los compuestos activos que inhiben las bacterias también tienen efecto sobre los hongos.
- Se recomienda determinar la eficacia y/o toxicidad de los principios activos *in vitro* con el fin de determinar la estabilidad del extracto

obtenido frente a agentes físicos y químicos que puedan interferir en la actividad antibacteriana descrita en el presente estudio.

- Se recomienda realizar estudios sobre los rendimientos y las concentraciones de los metabolitos secundarios identificados en el presente estudio, con la finalidad de saber si pueden o no ser aprovechados por la industria farmacéutica.
- Se recomienda aislar y ampliar los estudios sobre los principios activos de cada extracto obtenido para analizar detalladamente la actividad antibacteriana de cada uno.
- Se recomienda realizar extracción con otros solventes orgánicos que puedan generar otro tipo de compuestos, con la finalidad de comprobar si poseen actividad antimicrobiana en las cepas estudiadas y en otros microorganismos.
- Se recomienda compartir estos resultados con grupos de investigación que desarrollan líneas relacionadas con la resistencia antibacteriana.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Achten, W., Verschot, L., Fraken, Y., Singh, E., Aerts, V. Ymuys, B. (2008). Uso y producción de Bio-diesel de *Jatropha*. *Revista de Biomasa y Bioenergía*, 32: 1063-1084.
- Agnese, A., Pérez, C. y Cabrera J. (2001). Adesmia aegiceras: antimicrobial activity and chemical study. *Phytomedic International Journal*, 8(5): 389-394.
- Agnieszka, N., Ali, F., Almehemdi, A. y Zabar, I. (2013). Composición química y valor nutricional de las hojas de *Jatropha curcas*. *Revista de Genética y Conversación de Recursos Naturales*, 1(3): 221-226.
- Aguilar, Y., Rodríguez, F. y Saavedra, M. (2002). Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (maraño). *Revista Cubana de Plantas medicinales*, 17(4): 320-329.
- Akintayo, E. (2004). Characteristics and composition of *Parkia globbosa* and *Jatropha curcas* L. oils and cakes. *Bioresource Technol*, 92(3):307-310.
- Árdila, D. (2014). Evaluación de la actividad citotóxica de los extractos etanólicos de las plantas *Annona muricata*, *Annona cherimola* y *Physalis peruviana* en línea celular mcf-7 de adenocarcinoma de seno. Trabajo de Grado, Pontificia Universidad Jerviana, Bogotá.
- Asociación Española para la Cultura, el Arte y la Educación (ASOCAE ONGD). (2001). Plantas medicinales: uso y técnicas de extracción y preparación, 28-32. Disponible en: <http://www.asocae.org>.

- Ávila, R. (2001). Metodología de la investigación: cómo elaborar la tesis y/o investigación ejemplos de diseños de tesis y/o investigación. Lima, Perú. Ediciones R.A.
- Badui, S. (2006). Química de alimentos. México: Editorial Pearson Educación.
- Bakht, N., Humaira, F., Madiga, N. y Haq, I. (2015). Recent trends and methods in antimicrobial drug discovery from plant sources. *Austin Journal of Microbiology*, 1(1): 1002-1015.
- Bártoli, A. (2008). Manual para el cultivo de piñón (*Jatropha curcas*) en Honduras.
- Berra, M., Vides, A., Rodríguez, G., Soto, L. y Peña, J. (2016). Caracterización fisicoquímica y actividad antibacteriana del aceite de semillas de uva (*Vitis vinifera*) variedad Malisic. *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)*; 33:39-58.
- Biollanos C.A. (2006). Cultivo de *Jatropha curcas* en Venezuela. Investigación y desarrollo. Disponible: <https://www.biollanos.com.ve/investigación-y-desarrollo/>
- Bittner, M., Alarcón, J., Aquereque, P., Becerra, J., Hernández, V. y Silva, M. (2001). Estudio químico de especies de *Jatropha curcas* en Venezuela.
- Bonilla, R. y Airteaga, M. (2005). Infecciones estafilocococicas. *Revista de la Sociedad Bolivariana de Pediatría*, 44(3): 438-443.
- Bruneton, J. (2001). Elementos de fitoquímica y de farmacognosia (2ª ed.). Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Bucay, J. y Waizel, H. (2005). Algunas plantas utilizadas popularmente en el tratamiento de enfermedades respiratorias. Parte I. *Revista Anales de Otorrinolaringología Mexicana*, 50(4): 76-87.

- Cabal, A. (2011). Analisis de secuencias expresadas diferencialmente de la variedad "Calcutta 4"(Musa AA) en respuesta a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet mediante microarreglos. Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.
- Cabrera, C., Gómez, R. y Zuñiga, A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Revista Colombia Médica*, 38(2): 149-158.
- Calvo, J. y Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Revista Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*; 27(1): 44-52.
- Canesca, J., Chong, L., Rabanales, M. y López, L. (2016). Flores de *Jatropha curcas* del sur de México: perfil químico y morfológico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87: 1321-1327.
- Cartaya, O. y Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Revista Cultivos Tropicales*, 22(2): 5-14.
- Catania, C. y Avagnina, S. (2007). La maceración. Curso superior de degustación de vinos.
- Chang-Wei, L., Li, K., Chen, Y. y Sun, Y. (2007). Floral display and breeding system of *Jatropha curcas* L. forestry studies in China, 9(2): 114-119.
- Coy, C, Parra, J. y Cuca, E. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (Rutaceae). *Revista Elementos*, 4(1): 31-39.
- Cultivos Energéticos S.R.L. (2007). Ficha técnica de *Jatropha curcas* L. disponible en <https://www.jatrophacurcas.web.com.ar>

- Dada, E., Ekundayo, O. y Makanjuala, O. (2014). Actividad antibacteriana de *Jatropha curcas* (LINN) en coliformes aislados de aguas superficiales en Akure, Nigeria. *Revista Internacional de Ciencias Biomédicas*, 10(1): 25-30.
- Del Rocio, N. (2010). Estudio de la variabilidad genética de tres poblaciones de piñón (*Jatropha curcas* L.) en la providencia Manabi, mediante la utilización de técnicas moleculares ISSR'S. Tesis de Grado, Escuela Politécnica del Ejercito. Ecuador.
- Domingo, D. y Brea, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*, 16(4): 385-393.
- Duque, L., Ríos, L. y López, F. (2016). Caracterización composicional del fruto de 15 variedades de *Jatropha curcas* L. en el departamento de Tolima, Colombia. *Revista Corpoica de Ciencia y Tecnología Agropecuaria, Mosquera (Colombia)*, 17(3): 379-390.
- Eloff, J. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Journal of Medicinal Plants*, 64(8): 711-713.
- Escudero, M. (2012). Las plantas de extractos. Bases para un plan de desarrollo del sector. Fundación Alfonso Martin Escudero.
- García, E., González, R. y Schettino, M. (2014). Características generales de *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(1): 28-48.
- García, e., Hernández, S. y Palencia, P. (2016). Actividad antimicrobiana. *Revista Omnia Science*, 27(1): 77-100.
- García, J., Martínez, M. y Sánchez, E. (1999). Antibióticos betalactámicos. Antimicrobianos en medicina (1ª ed.). Barcelona: Editorial Prous Science.

- García, M. (2007). Curso internacional "Investigación Fitoquímica de Plantas Medicinales y Elaboración de fitoquímicos". Lima: Centro de Investigación Bioquímica y Nutrición. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Gargulio, G. (2005). Alimentos funcionales. El uso de fitoesteroles como una forma natural de reducir el colesterol. Cuadernos del CE Agro, 7:75-76.
- Garrity, G. (2004). Bergey's manual of systemati, Bacteriology (2ª ed.). Editorial Sciences.
- Gennaro, A. (2003). Remington Farmacia (20ª ed.). Buenos Aires: Editorial Panamericana.
- González, E. y Tena, A. (2004). Plantas medicinales del Estado de Durango y zonas aledañas. *Revista Arsenal para Productos Secundarios de Plantas*, 5(1): 27-31.
- González, J. (2013). Efectos de los esteroides y estanoles vegetales en el metabolismo enterohepático del colesterol y triglicéridos. Tesis de grado, Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España.
- Gubitz, G., Mittelbach, M. y Trabi, M. (1999). Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. *Biose Source Technology*, 67(1):37-42.
- Gutiérrez, C. y Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. Boletín INTEXTER (U.P.C) N° 22.
- Harris, D. (2001). Análisis químico cuantitativo (2ª ed.). España: Editorial Reverté.
- Harris, D. (2007). Análisis químico cuantitativo (3era ed.). Caracas, Venezuela: Editorial Reverté.

- Harvey, D. (2002). Química analítica moderna. Madrid, España: Editorial McGraw Hill.
- Heller, J. (1996). Physic nut *Jatropha curcas* L. In promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. *International Plant Genetic Resources Institute*.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2010). Metodología de la Investigación (5ª ed.). México: Editorial McGrawHill.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2017). Metodología de la investigación (4ª ed.). México: Mc Graw Hill Interamericana..
- Hernández, Y., Téllez, C., Manzanares, A., Ramírez, J. y Cavazos, M. (2018). Usos tradicionales y composición química de la semilla de *Jatropha* spp. (Euphorbiaceae) en Tehuacán-Cuicatán, México. *Revista de Biología Tropical*, 66(1): 266-279.
- Huerta, A., Carrizo, G. y Brizuela, C. (2016). Contenido y calidad del aceite obtenido de semillas de *Jatropha curcas* cosechadas en Argentina. Instituto de Tecnología Agropecuaria. Disponible en: <https://www.inta.gob.ar/documentos/inta-bc-inf-20-10-calidad-de-aceite-dejc.pdf>.
- Hurtado, J. (2010). El proyecto de investigación. Comprensión holística de la metodología y la investigación (4ª ed.). Caracas, Venezuela: Quirón Ediciones.
- Igbinosa, O., Igbinosa, J. y Etinosa, O. (2011). Contenido polifenólico y potencial antioxidante de extractos de corteza madre de *Jatropha curcas* L. *Magazine International Journal of Molecular Sciences*, 12(9): 2958-2971.

- Jara, C., Victoria, A., Gómez, G. y Cándica, R. (2010). Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. Tesis de pregrado, Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Jáuregui, A., Ureta, C. y Zelada, C. (2011). Fitoesteroles y fitoestanoles: Propiedades saludables. *Revista Horizonte Médico*, 11(2): 93-110.
- Kovats, E. (1915) Retentinsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und hetone. *Helvetica Chemical Acta* XLI
- Lamarque, A., Zydalgo, J., Labuckos, D. y Torres, M. (2008). Extracción de compuestos orgánicos. Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica (3ª ed.). Argentina: Editorial Encuentro.
- Lincoln, T. y Zeiger, E. (2006). Fisiología vegetal (Volumen I). Universitat Jaume. Castellón, España.
- Linnaei, C. (1753). Species platarum: exhibentes plantas rite cognitatas, ad genea relatas, cum differentiis secificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum sistema sexuale digestas, 9: 1006. Disponible en <https://www.botanicus.org/item/3175300002832>.
- LLoria, M. (2009). Infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*. Manejo de infecciones por organismos multirresistentes. Comité de Infectología Crítica.
- López, A., Pérez, J. (2011). Potencial etnomedicinal de dos especies tropicales del genero *Jatropha curcas* L. *Revista Medicina Naturista*, 5(1):8-12.
- López, M., Triana, J., Perez, F. y Torres, M. (2005). Métodos físicos de separación de sustancias orgánicas. Universidad de las Palmas de Gran Canaria: Servicio de Reprografía, Encuadernación y Autoedición.

- Loraine, S. y Mendoza, J. (2010). Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, prevalencia en México. *Revista Mexicana en Ciencias Farmacéuticas*, 41(4): 18-27.
- Madigan, M., Martinke, J. y Parker, J. (2004). *Biología de los microorganismos* (1ª ed.). España: Editorial Prentice Hall.
- Manzo, G., Flores, H. y Soto, Y. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomedica*, 25(3): 129-143.
- Marcano, D. y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica Orgánica* (2ª ed.). Caracas, Venezuela: Editor Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
- Martilla, M. (2014). Pervivencia de los remedios vegetales tradicionales americanos en la terapéutica española actual. Tesis de doctorado, Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
- Martínez, A., Valencia, G., Jiménez, N., Mesa, M. y Galeano, E. (2008). *Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica*. Medellín Universidad de Antioquia.,
- Martínez, J. y Sánchez, F. (2007). *Mecanismos de acción de los antibióticos*. Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Clínico Barcelona. España, N° 1160.
- Martínez, M. (1990). *Las plantas medicinales de México* (1º ed.). México D.F: Editorial Botas, S.A.
- Martínez, S., González, J., Culebras, M. y Tuñón, J. (2002). Revisión sobre los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Revista Nutrición Hospitalaria*. 12(6): 271-278.
- Mejía, K. y Rongijo, E. (2000). *Plantas medicinales de uso popular en la Amazonia peruana*. Lima, Perú. Agenda Española de Cooperación

- Internacional (AECI) e Instituto de investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP).
- Mendez, L., Rojas, J., Billmary, C., Velazco, J. Rosezweig, P. y Celis, M. (2018). Actividades biológicas analizadas de los extractos de *Jatropha curcas* L. *Revista Ciencias e Ingeniería*, 39(2): 153-160.
- Montenegro, A. (2011). Establecimiento *in vitro* de *Jatropha curcas* L. a partir de hojas cotiledonares y su respuesta a 6-benciladenina y ácido indol-3-butírico. Tesis de grado, Escuela Agrícola Panamericana Zambrano. Honduras.
- Muñoz, J., Valerin, K., Alvarenga, S. y Alan, E. (2003). Cultivo *in vitro* de Tempate (*Jatropha curcas*). *Revista Tecnología en Marcha*, 16(4): 53-59.
- Murray, p. (2007). Manual de microbiología clínica (9ª ed.). Sociedad Americana de Microbiología.
- Namuli, A., Abdullah, N., Sieo, C., Oskoueia, E. (2011). Phytochemical compounds and antibacterial activity of *Jatropha curcas* L. extracts. *Journal Of Medicinal Plants*, 5(16):3982-3990.
- Navarro, E. (1992). Diccionario terminológico de ciencias médicas (12ª ed.). Barcelona: Editorial Salvat.
- Norber, H. y perer, R. (2008). Potencial de producción de semilla de *Jatropha curcas* L. en Sinaloa. Tesis de postgrado. Universidad Autónoma de México, Juriquilla, México.
- Nychas, E. (1995). Natural antimicrobials from plants. Glasgow, UK. *Publisher: Blackie Academic and Professional*. 10: 217-220.
- Ochoa, S., Montiel, F., Escalona, G., Córdova, A., Dávila, L., Martínez, B., Tapia, Y., Giano, S., Eslava, G., Castro, R. y Cortez, J. (2013). Características de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a

- carbapenémicos, asociados con la formación de biopelículas. *Boletín Hospitalario Medico Infantil*. 70(2): 138-150.
- Oliveira, J., Leite, P., Sousa, L., Mello, V., Silva, E. y Rubim, J. (2009). Characteristics and composition of *Jatropha gossypifolia* and *Jatropha curcas* L. oils and application for biodiesel production. *Journal Biomass*, 33(3): 449-453.
- Ortíz, L. (2012). Composición química de *Jatropha curcas* tóxica, no tóxica y detoxificada, y efecto de su consumo sobre parámetros nutricionales y tóxicos en pollos. Tesis de postgrado. Universidad Autónoma de Querétaro. México.
- Osoniyi, Q. y Onajobi, F. (2003). Coagulant and anticoagulant activities in *Jatropha curcas* L. latex. *Journal Ethnopharmacol*, 89(1): 101-105.
- Oyuela, S., Hernández, E., Svetlana, S., Brueso, C. y Ponce, O. (2011). Guía técnica-ambiental para el cultivo de la *Jatropha curcas* L (piñón). Secretaria de Recursos Naturales y Ambientales.
- Pabón, L. y Hernández, P. (2012). Importancia química de *Jatropha curcas* L. y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales, *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(2): 194-209.
- Pabón, L., Gordillo, J., Fernández, M., Arias, R. y Rodríguez, P. (2013). Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la Orinoquia, Colombia. 18(1): 57-70.
- Patiño, V. (2002). Historia y dispersión de los frutales nativos del neotrópico. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.
- Peña, A. (2013). Efecto antimicrobiano del látex de *Jatropha curcas* frente a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. Tesis de grado, Universidad San Francisco de Quito. Quito, Ecuador.

- Peréz, H. y Contreras, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista Médica MD*, 4(3):156-191.
- Pérez, M., Martínez, C. y Zhurbenko, R. (2010). Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 48(2): 147-161.
- Pinedo, R. (2012). Compendio de química orgánica experimental I (1ª ed.). Lima, Perú: Editorial Universitaria.
- Porte, L., Herre, B., Prat, S. y Chanqueo, L. (2007). *Enterococcus* sp. Parte I. *Revista Chilena de Infectología*, 24(3): 231-245.
- Rakshit, K., Dorukeshwara, J., Rothin, K., Narasimhamurthy, K., Sababa, P. y Bhagya, S. (2008). Toxicity studies of detoxified *Jatropha* meal (*Jatropha curcas*) in rats. *Journal of Foot Chemical Toxic*, 46(12): 3621-3625.
- Ramírez, A., García, E., Longa, A., Sánchez, K., Nieves, M., Velazco, J., Araque, M. y Mosqueda, N. (2006). Manual práctico de bacteriología general. Editorial Venezolana C.A. Mérida.
- Ramírez, L. y Marin, D. (2009). Metodología para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de los compuestos de origen vegetal. *Revista Scientia et Technica*, 15(42): 263-268.
- Reena, T., Sah, N. y Sharma, P. (2008). Therapeutic biology of *Jatropha curcas*: A min. *Review Current Pharmaceutical Biotechnology*, 9(4):315-324.
- Rodríguez, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Revista Salud Pública de México*, 44(5): 464-476.

- Saetae, D. y Suntornsuk, W. (2010). Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake. *Journal Microbiology Biotechnology*, 20(2): 319-324.
- Saosoong, K. y Ruanbvireya-Chay, C. (2016). Antimicrobial activity and chemical constituents of the extract from *Jatropha curcas* L. *Oriental Journal of Chemistry*, 32(3):1163-1169.
- Schoomk, B., Serralta, P. y Ku-Vera, J. (1997). *Jatropha curcas*: distribution and uses in the Yucatan Peninsula. Proceedings of first. International symposium on biofuel and industrial products from *Jatropha curcas* and other tropical oil seed plants. Managua, Nicaragua.
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos (1ª ed.). Colombia: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo CYTED.
- Sideman, A. (2010). Estudio exploratorio de la producción de Biodiesel a partir del aceite de *Jatropha curcas* en Chile. Memoria de Grado, Universidad de Chile. Santiago de Chile, Chile.
- Silvera, A. (2018). Ahora los venezolanos también exportan enfermedades. Diario Tal Cual. Disponible en: <http://www.talcualdigital.com/index.php/2018/23/ahora-venezuela-también-exporta-enfermedades>.
- Sinha, A. y Tripath, Y. (2016). Caracterización fitoquímica, actividad antimicrobiana y potencial reductor del aceite de semilla y látex de *Jatropha curcas*. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6(4): 366-375.
- Staubmann, R., Ncube, I., Gubitz, G., Steine. W. y Read, J. (1999). Esterase and lipase activity in *Jatropha curcas* L. seeds. *Journal Biotechnology*. 75(2): 117-126.

- Terranova, m., Campos, R. y Sánchez, H. (2014). Uso de los metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Journal Agroecosystems*, 17(3): 489-499.
- Ugaz, O. (2003). Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios. Manual de fitoterapia. Universidad católica del Perú, Perú.
- Válcarcel, M. y Gómez, A. (1988). Técnicas analíticas de separación (1era ed.). Barcelona: Editorial Reverte.
- Vargas, C. (2013). Uso racional de antibióticos (2ª ed.). Perú: Editorial Merck Peruana S.A.
- Vidal, J. (2003). *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP): una causa frecuente de diarrea infantil. *Revista Salud en Tabasco*, 9(11): 188-193.
- Villar, A. (1999). Farmacognosia general (2ª ed). España: Editorial Síntesis, S.A.
- Villegas, L., Fernandez, L., Maldonado, H., Torres. R., Zabaleta, A., Vaisberg, A. y Hammod, G. (1993). Evaluation of the wound-healing activity of the selected traditional medicinal plants from Perú. *Journal of Ethnopharmacol*, 53(3):193-200.
- Vizcaíno, R., Torres, C., González, R. y Mercado, J. (2005). Fitoquímica preliminar y evaluación de la toxicidad aguda oral del extracto etanólico de las semillas de *Jatropha curcas* LINNEO. (Euphorbiaceae). *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 27(1): 109-111.
- Wayne, P. (1999). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test national committee for clinical laboratory standards (NCCLS). Disponible en: <https://www.nccls.org/es/source/orders/free/me-ac.pdf>

Willey, J. (1999). Microbiología de Prescott, Harley y Klein (7ª ed.). España: Editorial McGraw Hill.

World Health Organization. (1998). Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva, Switzerland.

www.bdigital.ula.ve

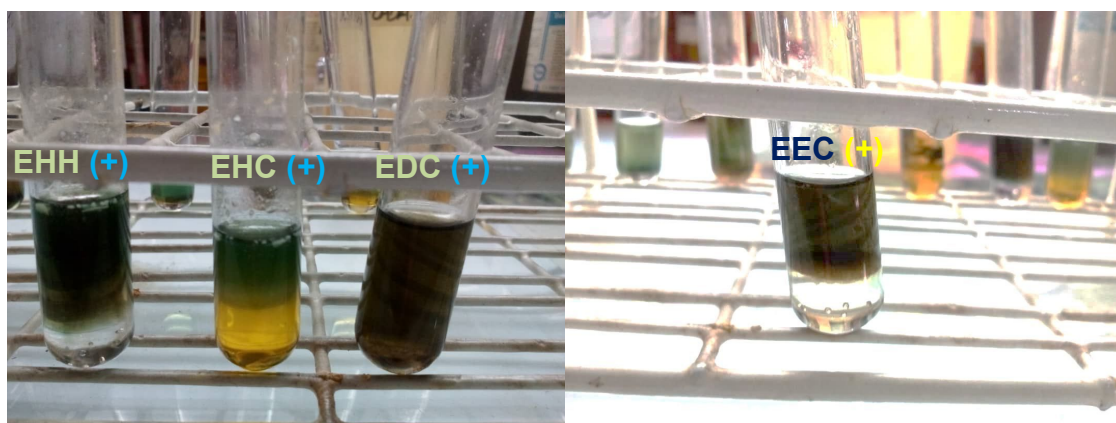
ANEXOS

Obtención de los extractos de *Jatropha curcas* L.

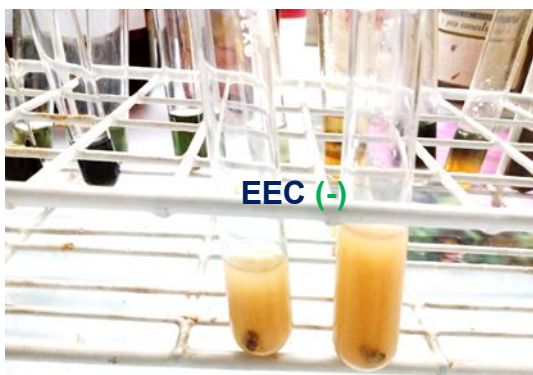


Resultados del tamizaje Fitoquímico de los extractos de *Jatropha curcas*

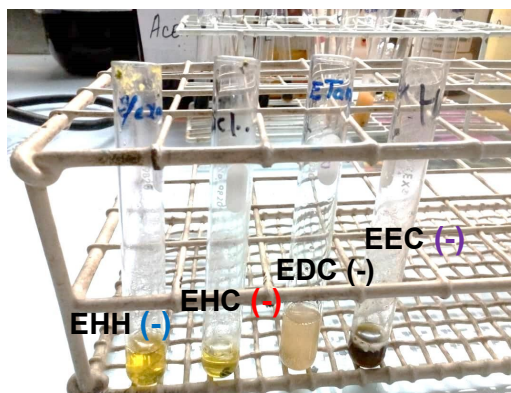
www.bdigital.ula.ve



Reacción de Lieberman-Burchard



Reacción de Tricloruro Férrico



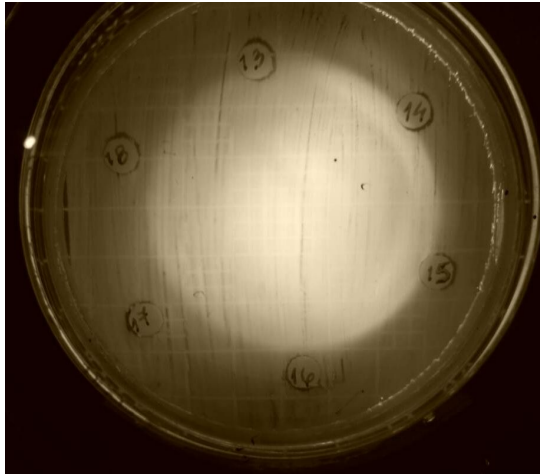
Reacción de Shinoda



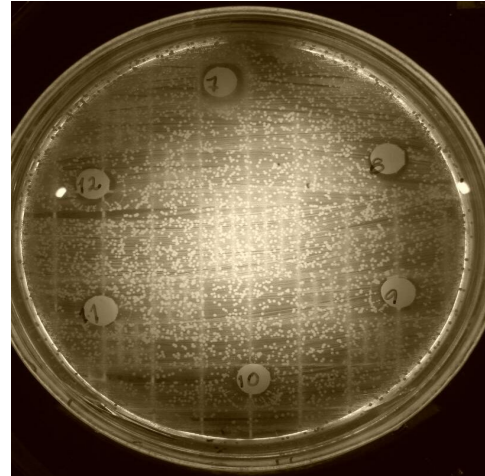
Pruebas de Alcaloides: Extracto Etanólico de la cascara de *Jatropha curcas* L.

EHH: extracto de Hexano (hojas), **EHC:** Extracto de Hexano (cáscara), **EDC:** extracto de Diclorometano (cáscara), **EEC:** Extracto de Etanol (cáscara)

Halos de inhibición del extracto de hexano obtenido de las hojas de *Jatropha curcas* L. frente a las cepas ensayadas.

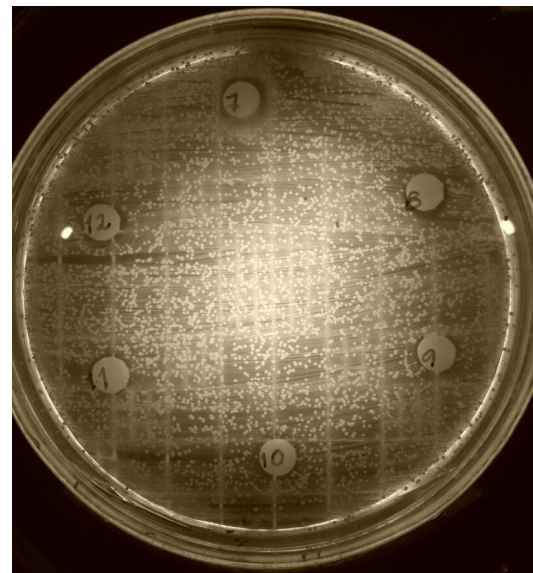
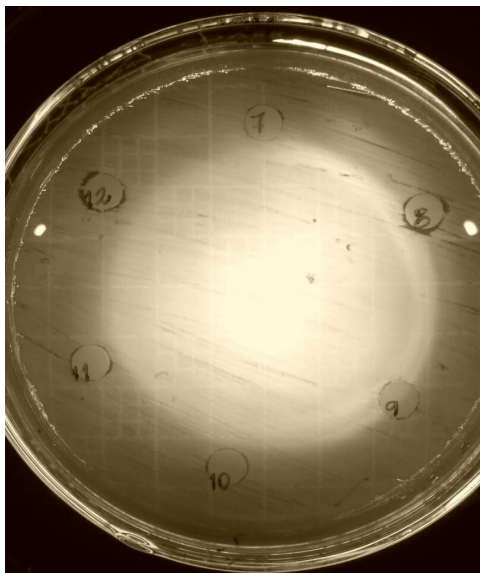


K. pneumoniae

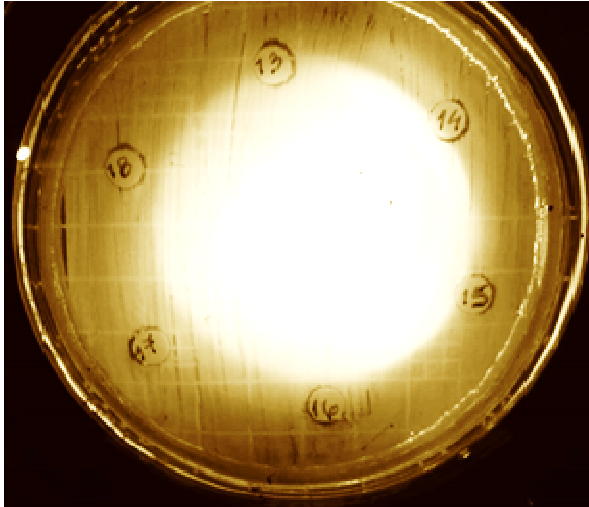


P. aeruginosa

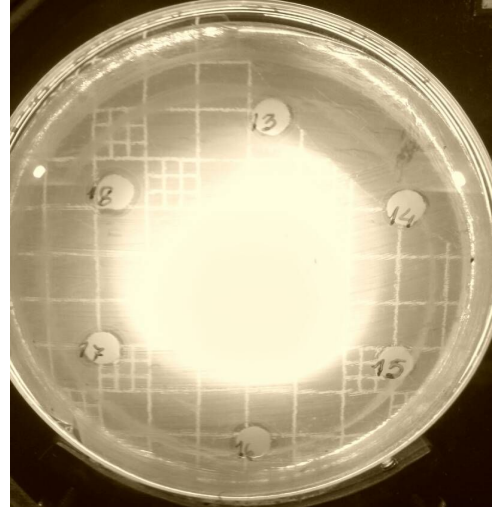
Halos de inhibición del extracto de hexano obtenido de la cáscara de *Jatropha curcas* L. frente a las cepas ensayadas



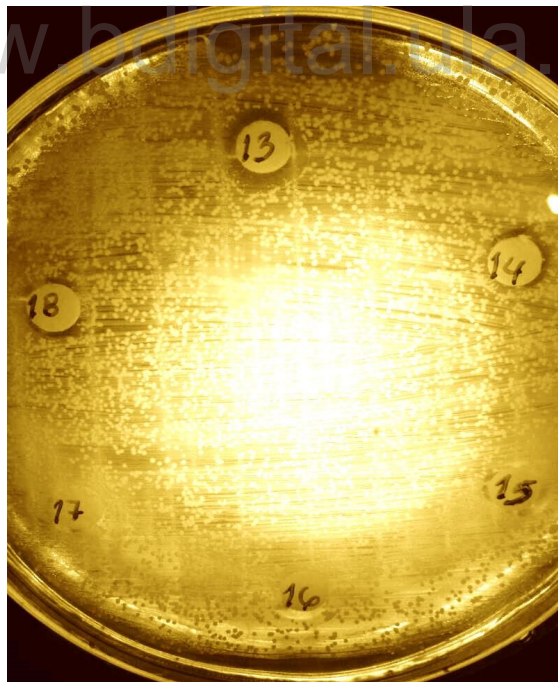
Halos de inhibición del extracto de diclorometano obtenido de la cáscara de *Jatropha curcas* L. frente a las cepas ensayadas



K. pneumoniae

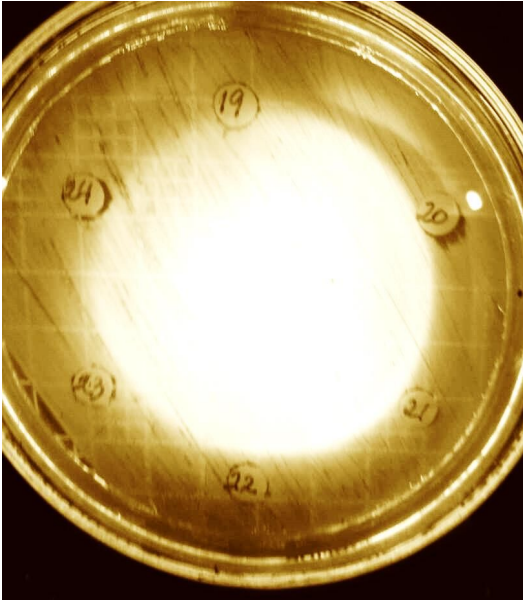


E. coli

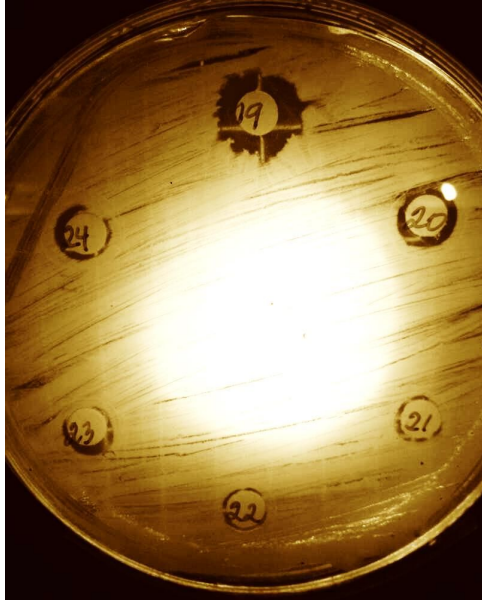


P. aeruginosa

Halos de inhibición del extracto de etanol obtenido de la cáscara de *Jatropha curcas* L. frente a las cepas ensayadas



K. pneumoniae



P. aeruginosa

www.bdigital.ula.ve