



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



**Actividad antibacteriana y composición química del extracto de las  
hojas de *Sapindus saponaria* (jaboncillo) en cepas de referencia  
internacional**

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

**Autoras:**

**Dranyeli Andreina Bastidas Montilla**

**C.I: V- 26.412.646**

**Isabel Adriana Ferrer Piñero**

**C.I: V- 27.350.234**

**Tutor:**

**MSc. Joel José Lara Rincón**

**Mérida, Julio de 2024.**

## DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a **mi madre Maricela Montilla** quien fue, es y será el pilar más importante en mi vida, la persona que siempre estuvo pendiente de mi formación profesional y mi crecimiento como persona en la sociedad. Gracias a su esfuerzo y apoyo incondicional he podido cumplir con este sueño.

De igual forma dedico esta tesis a **mi abuelo Ramón Montilla** quien me cuida y me ayuda desde el cielo, ha estado a mi lado en cada paso que doy y hoy más que nunca está presente en mi alma.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

**Dranyeli Bastidas**

## DEDICATORIA

Con gran regocijo, amor y esperanza, dedico este trabajo de grado, a cada uno de mis seres queridos.

Es para mí una gran satisfacción poder dedicarles lo que con mucho esfuerzo, esmero y trabajo he logrado.

A **mi madre Ana Ferrer**, por su apoyo incondicional y amor eterno, por ser mi pilar y fortaleza a lo largo de la carrera, mi más grande ejemplo de perseverancia y lucha, por haberme edificado como una mujer de bien, trabajadora, independiente y dispuesta a lograr todas mis metas.

A **mi abuela Encarnación Piñero** por sus cuidados, atenciones y amor infinito. Su bendición y oraciones a diario a lo largo de mi vida me protegen y me guían. Eres mi norte, mi roca y mi más grande fuente de inspiración.

A la memoria de **mi abuelo Manuel Ferrer**, mi ángel protector que me cuida desde el cielo, por llevarme con tanto cariño a mis primeros días de clases de una forma muy particular y divertida. Por ser mí figura paterna y dejar huellas durante mis primeros años de vida.

**Isabel Ferrer**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a Dios por ayudarme en todos los procesos que pase y seguiré pasando para salir adelante y lograr mis sueños, aun sabiendo que hay tropiezos, sigo con fé porque todo lo que se quiere debajo del cielo tiene su hora.

A la Virgen María por iluminar mi camino con sabiduría e inteligencia en esta etapa de mi vida, del mismo modo al Beato José Gregorio Hernández a quien considero un santo, gracias por darme salud para poder alcanzar esta meta.

A mis padres por educarme para ser una mujer fuerte y con fé, gracias por ser mi sustento para llevar a cabo este logro en mi vida, además, hoy puedo decir que sus consejos me trajeron hasta aquí, es por eso que este logro es nuestro.

A mi abuelo Ramón, por escucharme y bendecirme desde el cielo.

A mi hermano y a mí querida abuela Chavela por haber estado presente desde el principio de mi formación académica, gracias por el apoyo incondicional.

A mis compañeras Josemar, Isabel, Oneimar, Soriany, Milagros y Leonymar, contar con su ayuda fue un regalo hermoso.

Finalmente doy gracias a Mauro quien se ha convertido en mi compañero de vida, la persona que me apoya, me hace sonreír y me motiva siempre para alcanzar mi propósito.

**Dranyeli Bastidas**

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por bendecirme con salud, con su amor y su bondad que me permiten sonreír ante todos mis logros que son resultados de su ayuda.

A mi Alma Mater, por haberme permitido formarme en su prestigiosa institución, compartiendo ilusiones y anhelos, que con constancia, dedicación y esfuerzo hoy se ven como sueños alcanzados.

A mis profesores, por su disposición, vocación, orientación y apoyo. Su sabiduría y experiencia fueron fundamentales para mi crecimiento académico y personal. Gracias por sembrar y cultivar cada día más el amor por tan hermosa profesión.

A mi familia, Mamá, abuela, mami Carmen, mami Eliana, primos, por enseñarme que el amor verdadero es el deseo inevitable de ayudar al otro para que este cumpla sus sueños, gracias por el apoyo y los consejos, por enseñarme a valorar todo lo que tengo y por fomentar en mí el deseo de superación y de triunfo en la vida.

A mi novio William Andrés, por ser mi refugio, descanso y soporte en mis momentos de debilidad, por ser los brazos que me brindan seguridad y apoyo, gracias por siempre estar a mi lado y ayudarme a creer en mí.

A mis amigos Alixmar, José David, Dranyeli, Leonymar, Daniel, Oneimar, Josemar y Brenda. Por ser los mejores compañeros, por su afecto y lealtad. Por caminar junto a mí, por estar en los mejores momentos y estar cuando más los necesite.

A la familia que Mérida me regaló, Marta, Fiorella, Yusmaili, Karla, Dayana, Lilibeth, por brindarme un hogar cuando me encontré a km del mío. Por regalarme tantos momentos especiales los cuales siempre llevare en mi corazón.

**Isabel Ferrer**

## Tabla de Contenido

	Pág.
Índice de tablas .....	x
Índice de figuras .....	xi
Índice de esquemas .....	xiii
<b>RESUMEN</b> .....	xiv
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>CAPÍTULO I. EL PROBLEMA</b> .....	4
Planteamiento del Problema .....	4
Justificación de la Investigación .....	5
Objetivos de la Investigación .....	6
Objetivo General .....	6
Objetivos Específicos .....	6
Alcances y Limitaciones de la Investigación .....	6
Alcances de la Investigación .....	6
Limitaciones de la Investigación .....	7
<b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO</b> .....	8
Trabajos Previos .....	8
Antecedentes Históricos .....	10
Bases Teóricas .....	12
Productos Naturales (Clasificación y Rutas Biosintéticas) .....	12
Familia Sapindaceae .....	24
Género <i>Sapindus</i> .....	27
Especie <i>Sapindus saponaria</i> .....	30
Extractos Vegetales (Métodos de Extracción) .....	35
Análisis Fitoquímico Preliminar o Tamizaje Fitoquímico .....	39
Bacterias (Clasificación y Mecanismos de Resistencia) .....	46
Antibiótico (Clasificación y Mecanismos de Acción) .....	53

## Tabla de Contenido (Continuación)

	Pág.
Actividad Antibacteriana .....	57
Definición Operacional de Términos .....	60
Operacionalización de las Variables .....	61
Hipótesis .....	64
<b>CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>65</b>
Tipo de Investigación .....	65
Diseño de Investigación .....	65
Población y Muestra .....	66
Unidad de Investigación .....	66
Selección del Tamaño de la Muestra .....	66
Sistema de Variables .....	66
Instrumento de Recolección de Datos .....	66
Procedimientos de la Investigación .....	67
Recolección y Preparación del Material Vegetal .....	67
Obtención de los Extractos .....	68
Tamizaje Fitoquímico .....	70
Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de <i>Sapindus saponaria</i> (jaboncillo) por el método de difusión en disco (Kirby- Bauer) .....	73
Diseño de Análisis .....	76
<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	<b>77</b>
Resultados .....	77
Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de <i>Sapindus saponaria</i> .....	77
Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de <i>Sapindus saponaria</i> .....	83
Discusión .....	87

## Tabla de Contenido (Continuación)

	<b>Pág.</b>
<b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	91
Conclusiones .....	91
Recomendaciones .....	92
<b>REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS</b> .....	93

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## Índice de Tablas

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de la familia Sapindaceae .....	25
<b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica del género <i>Sapindus</i> .....	27
<b>Tabla 3.</b> Clasificación taxonómica de la especie <i>Sapindus saponaria</i> .....	31
<b>Tabla 4.</b> Principales características que diferencian a las bacterias grampositivas y gramnegativas .....	48
<b>Tabla 5.</b> Principales características de la resistencia natural y la resistencia adquirida .....	51
<b>Tabla 6.</b> Operacionalización de la variable dependiente .....	63
<b>Tabla 7.</b> Operacionalización de la variable independiente .....	64
<b>Tabla 8.</b> Cepas de referencia internacional .....	74
<b>Tabla 9.</b> Características físicas de los extractos de las hojas de <i>Sapindus saponaria</i> .....	79
<b>Tabla 10.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de <i>Sapindus saponaria</i> .....	78
<b>Tabla 11.</b> Resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de <i>Sapindus saponaria</i> .....	83

## Índice de figuras

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Estructura General de una Saponina .....	21
<b>Figura 2.</b> Estructura Química de la Digoxina (Glicósidos Cardíaco) ..	22
<b>Figura 3.</b> Estructura Química de los Glicósidos Cianogénicos .....	22
<b>Figura 4.</b> Estructura Química de la Cocaína (Alcaloide del Tropano).	23
<b>Figura 5.</b> Principales Compuestos Químicos aislados del Géneroo <i>Sapindus</i> .....	28-29
<b>Figura 6.</b> Árbol de <i>Sapindus saponaria</i> .....	30
<b>Figura 7.</b> Compuestos químicos aislados de <i>Sapindus saponaria</i> ....	32-34
<b>Figura 8.</b> Extracción sólido-líquido .....	36
<b>Figura 9.</b> Equipo de extracción Soxhlet .....	37
<b>Figura 10.</b> Proceso de maceración .....	38
<b>Figura 11.</b> Extracción líquido-líquido .....	39
<b>Figura 12.</b> Reacción de precipitación con reactivo de Mayer .....	41
<b>Figura 13.</b> Reacción de precipitación con reactivo de Dragendorff....	41
<b>Figura 14.</b> Reacción de Liebermann-Burchard .....	42
<b>Figura 15.</b> Formación de complejo de fenoles con cloruro férrico acuoso.....	43
<b>Figura 16.</b> Fundamento químico para la identificación de saponinas	43
<b>Figura 17.</b> Reacción química: prueba de Shinoda para detección de flavonoides .....	44
<b>Figura 18.</b> Reacción química de Borntrager .....	45
<b>Figura 19.</b> Reacción de Baljet .....	45
<b>Figura 20.</b> Principales mecanismos de resistencia adquirida a los antibióticos .....	52
<b>Figura 21.</b> Clasificación de los antibióticos según su mecanismo de acción .....	57
<b>Figura 22.</b> Comprobante de identificación de la especie <i>Sapindus</i> <i>saponaria</i> .....	67

## Índice de figuras (Continuación)

	Pág.
<b>Figura 23.</b> Proceso de extracción .....	69
<b>Figura 24.</b> Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de <i>Sapindus saponaria</i> .....	79-83
<b>Figura 25.</b> Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de <i>Sapindus saponaria</i> frente a cepas de referencia internacional .....	84-86

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## Índice de Esquemas

	<b>Pág.</b>
<b>Esquema 1.</b> Vías generales del metabolismo secundario de las plantas .....	14
<b>Esquema 2.</b> Rutas de síntesis de compuestos fenólicos .....	16
<b>Esquema 3.</b> Proceso para la obtención de extractos a partir del material vegetal .....	70

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)



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

“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga Del Hierro”



**Actividad antibacteriana y composición química del extracto de las hojas de *Sapindus saponaria* (jaboncillo) en cepas de referencia internacional**

**Autoras:**

Dranyeli Andreina Bastidas Montilla

Isabel Adriana Ferrer Piñero

**Tutor:** MSc. Joel José Lara Rincón

**RESUMEN**

El árbol de *Sapindus saponaria* (jaboncillo), originario de Mesoamérica perteneciente a la familia Sapindaceae, ha sido utilizado por sus propiedades medicinales, tales como, bactericida, antifúngica, antiinflamatoria, entre otros. El objetivo de esta investigación fue confirmar la actividad antibacteriana y la composición química de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* en cepas de referencia internacional. Los extractos de las hojas fueron obtenidos mediante la técnica de extracción por reflujos utilizando como disolventes: hexano, metanol y agua. La composición química se determinó mediante el tamizaje fitoquímico. La actividad antibacteriana se realizó mediante el método de difusión en agar con discos. El resultado del tamizaje fitoquímico reveló la presencia de alcaloides, esteroides, compuestos fenólicos, saponinas, flavonoides y glicósidos cardiotónicos, la actividad antibacteriana evidenció sensibilidad frente a *E. coli* (7 mm) *E. faecalis* (8 mm) y *P. aeruginosa* (7 mm) a una concentración de 10 mg/mL y no presentó actividad frente a *S. aureus* y *K. pneumoniae*.

**Palabras claves:** *Sapindus saponaria*, Tamizaje fitoquímico, Actividad antibacteriana.

## INTRODUCCIÓN

La aparición de multiresistencia en las bacterias, en un rango cada vez más amplio de antibióticos y en un número cada vez mayor de bacterias patógenas, plantea una grave amenaza para la salud humana en la actualidad y esto se debe en parte al uso incontrolado de antibióticos. Proporcionando una alternativa para combatir enfermedades infecciosas, se han realizado estudios que comprueban que los compuestos activos contenidos en un material vegetal pueden tener un uso medicinal (Gonzales, Maguiña y Gonzales, 2019).

Un agente anti-infeccioso está definido por su espectro antibacteriano, es decir, por el conjunto de microorganismos patógenos que se ven afectados por las concentraciones del antibiótico sin causarle toxicidad. Los antimicrobianos son compuestos obtenidos de forma natural o biosintética, o totalmente en el laboratorio. La principal importancia de los mismos radica en inhibir el aumento de una población bacteriana o para eliminarla, a unas concentraciones que puedan ser toleradas por el huésped (Paredes y Roca, 2004).

*Sapindus saponaria* se distribuye desde el sur de Estados Unidos, Centroamérica, Venezuela, Ecuador, Perú, Colombia y Brasil. Se presenta en bosques abiertos húmedos o secos, o en orillas, frecuentemente plantado junto a las casas en suelos anaranjado-rojizos, arcillosos. Su distribución altitudinal varía de 0 a 1800 metros sobre el nivel del mar, donde se adapta a gran variedad de suelos desde calizos hasta volcánicos. Igualmente, se ha encontrado que el jaboncillo soporta bien la sequía (Sánchez y Silva, 2008). En la actualidad es utilizada como fuente industrial en el tratamiento de la tos, bronquitis, antihistamínico, antiinflamatorio, problemas cardíacos y otros problemas de salud. En esta investigación se estudiaron los extractos de las hojas de las cuales se ha demostrado que contienen sesquiterpenlactonas,

taninos, glicósidos saponínicos entre otros, asimismo presentan marcada actividad inhibitoria en los cultivos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. A pesar de que *Sapindus* posee una buena fuente de saponinas bioactivas, faltan estudios detallados sobre la composición química de la especie *S. saponaria* (Abreu, 2005; Grisi, Forim, Soares, Anese, Franco, Nogueira y cols., 2014).

En tal sentido el objetivo de este trabajo fue confirmar la actividad antibacteriana y la composición química de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* en cepas de referencia internacional.

El presente trabajo esta sistematizado de acuerdo a las normas de la Asociación Americana de Psicología (APA) 6ta edición, de la siguiente manera. 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, llamado Marco Teórico comprende: Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Definición Operacional de Términos, Operacionalización de las Variables e Hipótesis. El Capítulo III, titulado Marco Metodológico comprende los siguientes puntos: Tipo y Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Sistemas de variables, Instrumento de Recolección de Datos, Procedimientos de la Investigación y Diseño de Análisis. El capítulo IV denominado Resultados y Discusión. El Capítulo V, llamado Conclusiones y Recomendaciones. Por último, las Referencias Bibliohemerográficas.

## **CAPÍTULO I**

### **EL PROBLEMA**

#### **Planteamiento del Problema**

La situación de Venezuela en la zona tropical del mundo determina la permanencia de enfermedades propias del ambiente tropical, donde la transmisión de agentes etiológicos infecciosos es común a partir de permanentes ciclos en la naturaleza de afecciones virales, bacterianas, parasitarias y micóticas (Aguilar, 2017).

A pesar de la disponibilidad de fármacos para el tratamiento de estas infecciones, se presenta otro problema mencionado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la “pandemia silenciosa” que hace referencia a la aparición de nuevos mecanismos de resistencia de los patógenos a los antimicrobianos convencionales; muchos medicamentos disponibles actualmente se vuelven ineficaces en la prevención y tratamiento de las infecciones, debido principalmente a la aparición cada vez mayor de patógenos oportunistas multirresistentes (Organización Mundial de la Salud, 2016).

Actualmente las posibilidades terapéuticas se ven notablemente disminuidas por falta de nuevos medicamentos que actúen frente a diversos patógenos, que no posean restricción en el espectro de acción, alto costo y efectos adversos en el paciente (hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, fototoxicidad). Debido a estas razones los esfuerzos se orientan a la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos que superen dicha problemática como es el uso de productos naturales derivados de plantas, ya que permite encontrar compuestos bioactivos y una de las ventajas de

obtener este tipo de sustancias es que se reducen los efectos secundarios (Torres, León y Tomas, 2017).

En vista de la situación actual del problema descrito anteriormente, se plantea la siguiente pregunta de investigación ¿Cuál es la relación entre la actividad antibacteriana y la composición química del extracto de las hojas de *Sapindus saponaria* en cepas de referencia internacional?

### **Justificación de la Investigación**

A lo largo de la historia, los metabolitos de las plantas han sido utilizados por la humanidad, convirtiéndose en una fuente inagotable de compuestos químicos y complejas sustancias activas, que desde hace muchos años han sido explotadas por el hombre (Torres, 2004). En los últimos años el uso de productos naturales con fines terapéuticos ha sido cada vez más frecuente, llegando a alcanzar hasta aproximadamente el 80% de la población en los países en vías de desarrollo (Organización Mundial de la Salud, 2007). Hoy en día los organismos mundiales, encargados de velar por la salud humana, recomiendan y promueven el uso de productos naturales con fines medicinales, en el marco de terapias tradicionales y alternativas cuando éstas han demostrado su utilidad y representan un riesgo mínimo (Organización Mundial de la Salud, 2023).

Las plantas representan la principal herramienta terapéutica de uso tradicional, desde la antigüedad la medicina tradicional ha desempeñado un rol importante aliviando las enfermedades y el dolor. Actualmente existe un gran interés por el mejor conocimiento y uso de alternativas de origen vegetal, entre las que destaca la medicina natural (Bonilla, Arroyo y Chávez, 2007). El uso de remedios naturales muchas veces se realiza en forma empírica y basada solo en la tradición; sin embargo, en este momento los estudios de fitoterapia son cada vez mayores, permitiendo tener una base científica sólida, por lo que va tomando mayor importancia la búsqueda de

nuevas fuentes vegetales de metabolitos con actividad antibacteriana (Alzamora, Morales, Armas y Fernández, 2001).

## **Objetivos de la Investigación**

### **Objetivo General**

Confirmar la relación entre la actividad antibacteriana y la composición química de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* en cepas de referencia internacional.

### **Objetivos Específicos**

- Obtener tres extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* utilizando disolventes de diferente polaridad (hexano, metanol, y metanol/agua (70:30)) por medio del método de reflujo en caliente.
- Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en los extractos mencionados anteriormente a través de pruebas químicas de coloración y/o precipitación.
- Determinar la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos usando el método de difusión en agar con discos (Kirby-Bauer), en cepas de referencia internacional.

## **Alcances y Limitaciones de la Investigación**

### **Alcances de la Investigación**

Los alcances de esta investigación están relacionados con la importancia que han tenido los estudios de productos naturales en los últimos años, que si bien es cierto el hombre ha utilizado milenariamente sus plantas de

manera intuitiva. Así pues, puede verse cómo las plantas, especialmente las medicinales, constituyen un eje en torno al cual giran y ha de darse lugar a grandes implicaciones sociales y económicas del mundo contemporáneo. En este sentido, esta investigación aporta desde el punto de vista científico nuevos datos sobre la composición química y la actividad antibacteriana de la especie *Sapindus saponaria* con el fin de que los mismos puedan ayudar a esclarecer su estatus taxonómico, además, considerando que ésta planta puede ser una rica fuente de recursos terapéuticos, otro alcance, es promover estrategias medicinales de origen vegetal como alternativa al creciente problema de resistencia bacteriana.

### **Limitaciones de la Investigación**

Durante el proceso de investigación se encontraron con algunas limitantes que pudieron alterar los resultados esperados del estudio, como las condiciones en las que se encuentra el Instituto de Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, que debido a una gran cantidad de hurtos, la situación actual del país y la crisis económica suscitada por la pandemia COVID-19, durante los años 2020-2022 han dejado en problema a dicho ente por la falta de material, reactivos y equipos. Como consecuencia, solo identificamos los metabolitos secundarios presentes en la planta ya que el aparato para medir sus concentraciones (cromatografía de alta resolución) no está funcionando pese al robo del software de dicho artefacto. Por otra parte la escasa información reciente (trabajos previos) que la sustenten con respecto a su actividad antibacteriana. Otras limitantes que se presentaron fueron las constantes fallas de servicios como la electricidad, el agua y el internet.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### Trabajos Previos

El presente problema de estudio ha sido divulgado por varios autores, en los últimos años. Se puede citar a García, Menicoze, Domingos, Polonio, Dos Santos, Dos Santos y cols (2023), llevaron a cabo un trabajo titulado: Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto crudo de la bacteria endofítica *Pseudomonas aeruginosa* (SS93) aislada de *Sapindus saponaria* L. El objetivo del estudio fue evaluar la capacidad antibacteriana y antifúngica del extracto crudo de metabolitos secundarios producidos por las bacterias endofítica. Para la obtención del extracto crudo se utilizó acetato de etilo como disolvente. La bacteria *P. aeruginosa* (SS93) aislada como endófito de hojas sanas de *S. saponaria* L fue recuperada de la Colección de Microorganismos Endofíticos y Ambientales (CMEA) del Laboratorio de Biotecnología Microbiana (LBIOMIC). Para evaluar la actividad antibacteriana, utilizaron el método de kirby-Bauer, para ello cultivaron las bacterias patógenas y posterior a eso se ajustaron a una concentración equivalente a la escala de McFarland 0,5, luego la suspensión bacteriana (100 µl). Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas. Este estudio arrojó resultados positivos contra *Enterococcus faecalis*, *Salmonella flexneri*, *Salmonella entérica* y *Staphylococcus aureus*. Para *E. faecalis* y *S. aureus*, se observó la formación de halos de inhibición en todas las concentraciones analizadas, especialmente en 500 y 700 µg. Mientras que contra *S. flexneri* y *S. entérica* se observó la formación de halos con valores estadísticamente significativos, sin embargo, menores que los obtenidos con los controles de

antibiótico. Y por último no hubo formación de halos contra *Escherichia coli* y *Pseudoma aeruginosa*. Este trabajo se incluye como antecedente ya que guarda relación con el tema, en cuanto a las actividades biológicas evaluadas de la planta en estudio.

Pujol, Tamargo, Salas, Calzadilla, Acevedo y Sierra (2020), quienes publicaron un trabajo titulado: Tamizaje fitoquímico de extractos obtenidos de la planta *Sapindus saponaria* L que crece en Cuba. El objetivo del estudio fue determinar los principales metabolitos secundarios de esta especie a través del tamizaje fitoquímico. Se recolectaron los frutos, la corteza del tallo y las hojas. Los extractos fueron obtenidos mediante la técnica de maceración con éter dietílico, etanol y agua. La identificación de los metabolitos secundarios presentes en los tres extractos, se realizó cualitativamente a través de reacciones y análisis químicos. En los tamizajes fitoquímicos realizado a los extractos de hojas, corteza del tallo y fruto, sugiere la presencia de abundantes compuestos grasos, alcaloides, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y triterpenos/esteroides, este último solo para el extracto con éter dietílico en el caso del fruto. Siendo, los de mayor abundancia saponinas, flavonoides, azúcares reductores y taninos, lo cual pudiera estar relacionado con las propiedades medicinales que se le atribuyen a la planta. Teniendo en cuenta la composición de los extractos se plantean promisorias las evaluaciones farmacológicas de la planta *Sapindus saponaria* L que crece en Cuba ante diversas patologías, razón por la cual se incluye este trabajo como antecedente de la presente investigación.

Saglik, Gucluer y Ozhak (2020), publicaron un trabajo titulado: Investigación de los efectos antimicrobianos de *Sapindus mukorossi* sobre patógenos endodónticos. El objetivo de este estudio fue evaluar si varias soluciones de extracto de *S. mukorossi* tienen actividad antibacteriana contra patógenos endodónticos específicos. Se obtuvieron cuatro extractos del pericarpio del fruto aplicando el método de extracción Soxhlet, utilizando

cuatro disolventes: metanol, etanol, butanol y agua destilada. Los extractos fueron evaluados con el ensayo de difusión en disco para determinar su actividad antibacteriana, para ello los extractos se llevaron a una concentración de 204,8 mg/mL de utilizando dimetilsulfóxido (DSMO) al 10% y agua destilada. Los resultados mostraron que los organismos de prueba fueron inhibidos por los cuatro extractos en el caso de *Fusobacterium nucleatum* (14 mm para los extractos de etanol y metanol, 12 mm para butanol y el extracto acuoso) y *Porphyromonas gingivalis* (15 mm para los extractos: etanol, metanol, butanol y 14 mm para el extracto acuoso). Según los resultados de las pruebas, no se detectó ningún efecto antibacteriano contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*. Sin embargo, tomando en cuenta que todos los extractos mostraron actividad antibacteriana contra microorganismos específicos con zonas de inhibición, estos efectos pueden hacer que la planta sea útil para aplicaciones de endodoncia. Este trabajo se incluye como antecedente debido a que la especie evaluada pertenece al mismo género en estudio, por lo tanto, es posible que el contenido de los extractos de *Sapindus saponaria* posea gran cantidad de sustancias activas.

### **Antecedentes Históricos**

*Sapindus saponaria* es una planta muy antigua, procedente de América Central, en el pasado era habitual encontrarla en cafetales, orillas de ríos, patios y huertos caseros, los primeros habitantes indígenas extraían la semilla redondeada negra del fruto ya maduro y la utilizaban como jabón (Valverde, 1999). De ahí que, en el Códice Florentino, escrito por Bernardino de Sahagún en el siglo XVI reporta que los indígenas la usaban para la caspa y para matar sanguijuelas en el cuerpo (Valdés, 1830). Carlos Linneo describe por primera vez esta planta y la publica en *Species Plantarum*, en el año 1753. Tiempo después, Francisco Hernández señala en uno de sus

libros que “las hojas presentan cierto sabor acre con alguna astringencia y amargor”, agrega, “quienes vengan después de mí, podrían fácilmente investigar los usos medicinales” (Hernández, 1986). Desde entonces se comenzó a estudiar esta especie, como muestra, a mediados de 1993 se realizó una investigación para descubrir los efectos de *S. saponaria* sobre diferentes parámetros de la digestión ruminal (Díaz, Avendano y Escobar, 1993), más adelante, en el año 1995 se llevó a cabo un estudio sobre las saponinas, con el fin de demostrar el efecto molusquicida de *Sapindus saponaria* L. a nivel de laboratorio (Ribeiro, Zani, De Almedia, Martinely, Hamburguer y Hostettmann, 1995), pero fue a partir del año 1998 cuando se descubrieron todas las propiedades de este árbol, desde allí, se han realizado diversos estudios con el fin de aprovechar los componentes del jaboncillo. Un ejemplo de ello, es una investigación realizada por una estudiante de la Universidad San Carlos en Guatemala, en el año 2000, quien evaluó las muestras de frutos de *Sapindus saponaria* para determinar si podían ser utilizados como fuente de materia prima para sintetizar hormonas sexuales y corticoides a gran escala (Quevedo, 2000).

Por lo tanto, debido a su amplia actividad biológica y farmacológica, hoy día esta planta se destaca por su efecto piscida, insecticida, también tiene acción espermicida, molusquicida y antihelmíntica, además, ha sido evidenciada en ensayos biológicos la capacidad inhibitoria hacia el crecimiento de bacterias y hongos y todos los estudios farmacológicos llevados a cabo sugieren que este material posee un gran potencial para ser utilizado en el desarrollo de medicamentos (Valdéz, Tamargo, Olivet, Paredes, Hernández, González y Cols., 2015).

## **Bases Teóricas**

### **Productos naturales**

Los productos naturales son sustancias derivadas del metabolismo secundario de los organismos vivos, las cuales generalmente participan directamente en los mecanismos de defensa y supervivencia. En sentido amplio un producto natural está formado por todos los compuestos de la Naturaleza. En sentido más restrictivo un producto natural sólo es un metabolito secundario (Gutiérrez y Estévez, 2009). Por otra parte, también son conocidos como productos químicos sintetizados por seres vivos en pequeñas cantidades y no de forma generalizada. Pueden ser útiles por sus posibilidades directas como agentes terapéuticos, pueden servir como modelos para la preparación de sustancias bioactivas, como materia prima para la síntesis de sustancias de interés farmacológico y/o interés industrial (Gutiérrez y Estevez, 2009).

#### ***Clasificación de los productos naturales***

Se estima que varios cientos de miles de productos naturales y biomoléculas han sido aislados y caracterizados a partir de plantas, hongos, organismos marinos y líquenes, entre otros. Sólo a partir de plantas se han aislado y caracterizado más de 110 mil metabolitos secundarios, y se estima que quedan varios millones de sustancias por descubrir, ya que sólo se ha analizado una íntima parte de las fuentes naturales disponibles. Ávalos y Pérez en el 2009 los agrupan en cuatro categorías según sus rutas biosintéticas:

- **Terpenos:** Entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales.

- **Compuestos fenólicos:** Cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.
- **Glicósidos:** Saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos
- **Alcaloides.**

Un amplio grupo de productos naturales también ha sido clasificado por Pérez y Jiménez (2011) según su aplicación, entre ellos se agrupan:

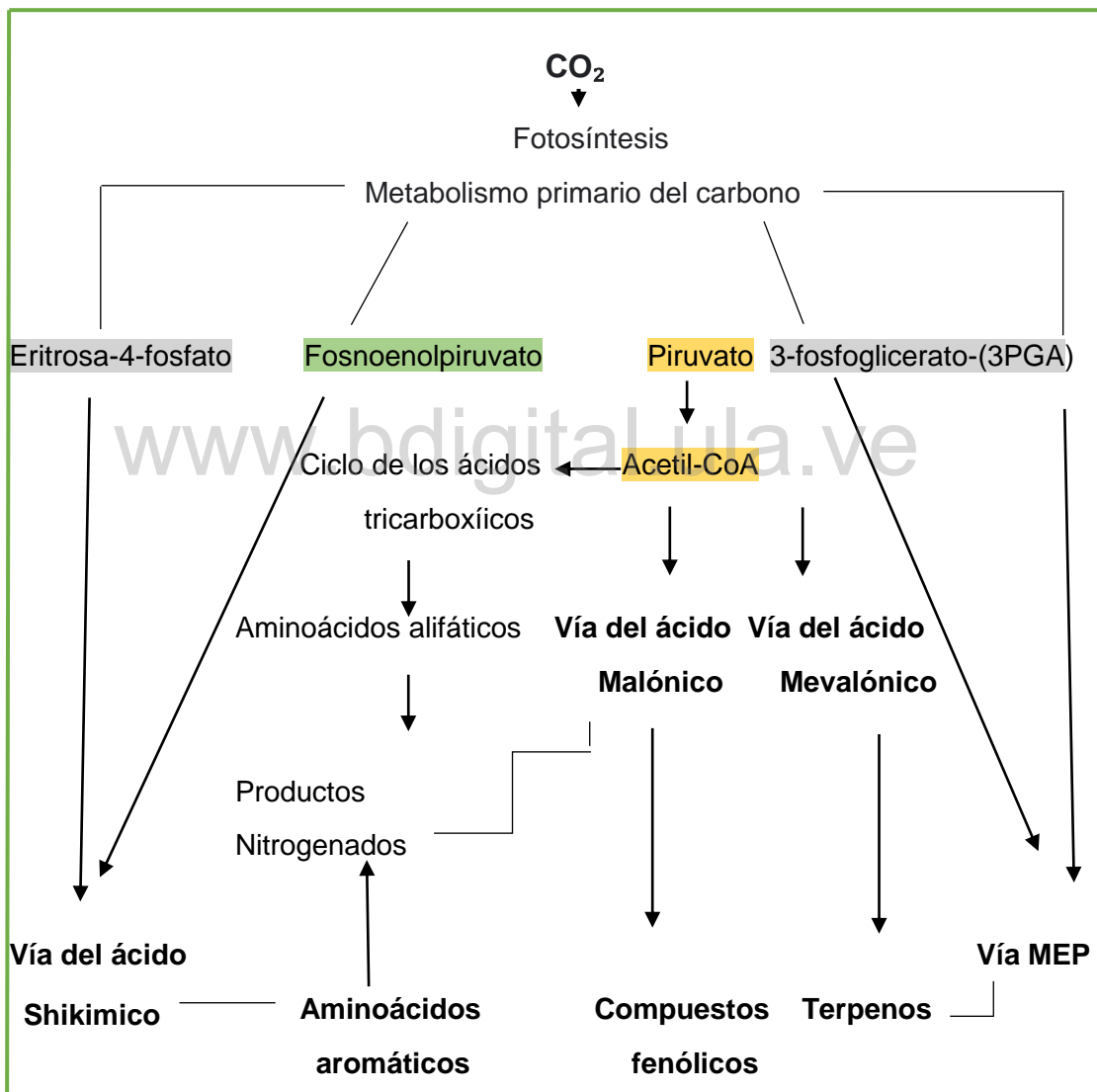
- **Los productos farmacéuticos** que incluyen alcaloides, saborizantes y flavonoides.
- **Los productos utilizados como pigmentos** y en la perfumería como los antocianinos, betalinos, el aceite de rosas y de jazmín.
- **Los productos utilizados con fines químicos** y agroquímicos como proteasas, vitaminas, lípidos, aceites, látex.

### ***Rutas Biosintéticas***

La importancia de los productos naturales radica en la propia función biológica en la que son biosintetizados. Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario del carbono (Esquema 1). Existen tres intermedios químicos principales como son el acetil-CoA, el ácido shikímico y el ácido mevalónico, a partir de estas tres rutas se biosintetizan los principales grupos de productos naturales como son los ácidos grasos, antraquinonas, terpenos, esteroides, alcaloides, cumarinas, lignanos, entre otros (Ávalos y Pérez, 2009; Gutiérrez y Estévez, 2009).

La síntesis de los productos naturales comienza con la fotosíntesis que tiene lugar en plantas superiores, algas y algunas bacterias. Es un proceso endotérmico que requiere de la luz solar. Aquellos organismos incapaces de absorber la luz obtienen su energía de la degradación de carbohidratos (Gutiérrez y Estevez, 2009).

La ruta del ácido shikimico se lleva a cabo en bacterias, hongos, algunos protistas y plantas, pero está ausente en el reino animal, por lo que algunos productos derivados de esta vía son nutrientes esenciales en la dieta del ser humano. Por otro lado, algunos de los derivados de esta ruta biosintética tienen actividad farmacológica y biológica, por lo que son ampliamente utilizados en la medicina y nutrición humana (Herrera, Reveles y Velásquez 2016).



**Esquema 1.** Vías generales del metabolismo secundario de las plantas. Vía del metileritritol fosfato (Vía MEP). Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009.

## ***Terpenos***

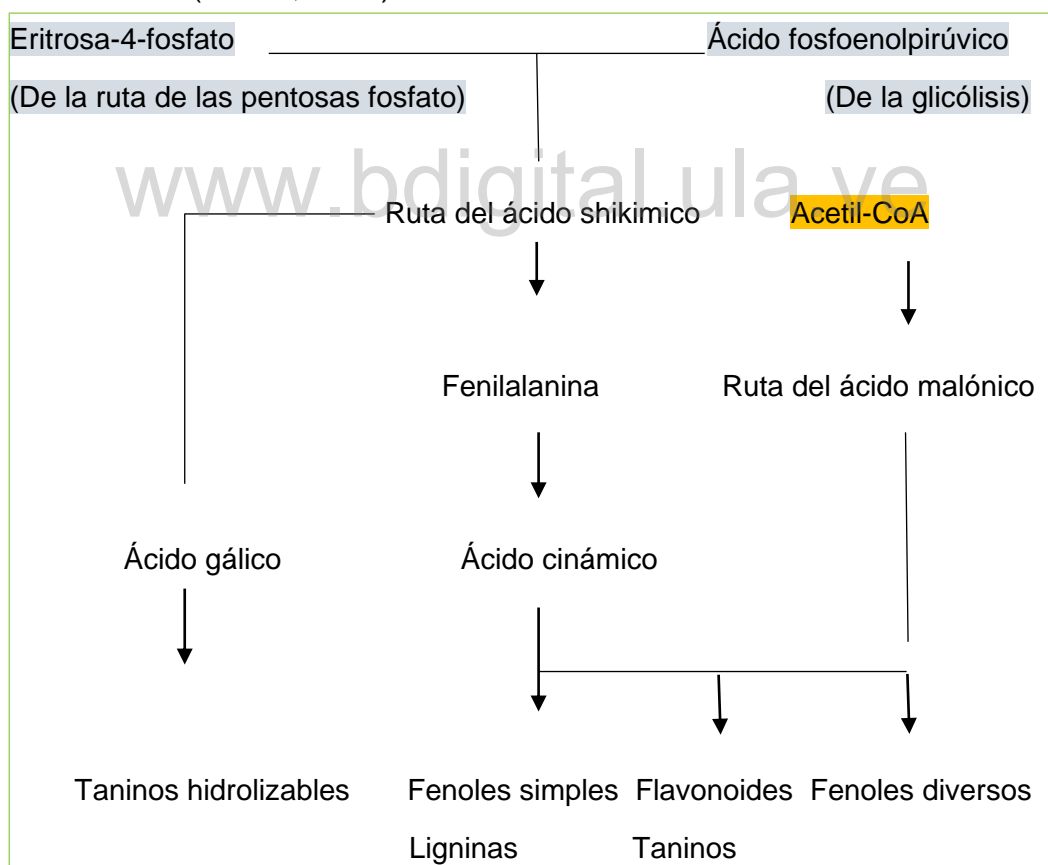
Los terpenos son metabolitos secundarios sintetizados por plantas y químicamente son derivados del isopreno (2-metil-1,3-butadieno) que se polimerizan bajo la acción enzimática de dos o más unidades; se clasifican de acuerdo al número de unidades de isopreno, ensambladas en hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterterpenos, triterpenos y tetraterpenos (Macías, Álvarez y Suárez, 2010).

Los terpenos o terpenoides se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico (MEV), la cual ocurre en el citosol, y la ruta del metileritritol fosfato (MEP), que se encuentra en los cloroplastos. En la ruta MEV tres moléculas de acetil-CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentenil difosfato (IPP), o bien la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera también IPP (Almeyda, 2017).

Los terpenos constituyen la familia más grande de productos naturales. La ruta metabólica biosintética de los isoprenoides genera metabolitos primarios y secundarios que son de gran importancia en el crecimiento y supervivencia de las plantas, por ejemplo, son reguladores del crecimiento vegetal, forman parte de los pigmentos fotosintéticos, transportan electrones y son componentes estructurales de las membranas (Almeyda, 2017). Los esteroides son derivados de triterpenos con una estructura tetracíclica que consta de tres anillos de seis miembros y un anillo de cinco miembros todos fusionados. Las estructuras que presentan un grupo alcohol en los esteroides son conocidas como esteroides, en plantas se encuentran: el estigmasterol y el sitosterol que hacen parte de las membranas celulares y realizando funciones protectoras frente a insectos (Ege, 1998).

## Compuestos fenólicos

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo (Isaza, 2007). Éstos se biosintetizan en las plantas por medio de rutas como la del ácido shikímico y la del acetato-malonato (ver Esquema 2). La ruta del ácido shikímico es la más importante para originar compuestos fenólicos a través de la cual las especies vegetales biosintetizan más de 8000 compuestos fenólicos y polifenólicos cuya característica más relevante es su comportamiento antioxidante (Martín, 2017).



**Esquema 2.** Rutas de síntesis de compuestos fenólicos. Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009.

Las siete reacciones enzimáticas de la ruta del ácido shikímico son responsables de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos presentes en las plantas y comienza con la interacción de productos del metabolismo primario: eritrosa 4- fosfato y fosfoenolpiruvato, procedentes de la vía de las pentosas y glucólisis, respectivamente (Herrera, Reveles y Velásquez, 2016). Por la ruta del shikimato se pueden producir ácidos aromáticos como el ácido corísmico, prefénico, quínico, gálico que pueden ser bloques de construcción de muchos otros compuestos más funcionalizados. También a partir del ácido cinámico se puede obtener grupos tan diversos como las cumarinas, las chalconas, los flavonoles, flavanonas, ligninas, lignanos. Si se hace referencia a la ruta del acetato malonato, se pueden generar fenoles simples como el ácido 6-metilsalicílico y otros derivados como el ácido orsellínico (Avalos y Pérez, 2009).

Los compuestos fenólicos son un grupo muy diverso de metabolitos secundarios, que han sido y seguirán siendo estudiados, principalmente gracias a su actividad biológica. Actualmente, cerca de 10,000 compuestos fenólicos diferentes han sido identificados en la naturaleza y la mayoría de ellos son de origen vegetal (Martín, 2017; Vermerris y Nicholson, 2006).

Existen numerosas clases de compuestos fenólicos, por lo tanto en el presente capítulo se dará una versión resumida de los distintos grupos que comprenden. Se describirán a continuación las principales características de los grupos más abundantes de compuestos fenólicos vegetales, entre ellos: fenólicos simples, flavonoides y estilbenos, ligninas y taninos (Herrera y cols., 2016).

**Compuestos fenólicos simples:** Los fenólicos simples abarcan a su vez tres grupos de relevancia: los fenilpropanoides simples, las cumarinas y los derivados del ácido benzoico (Herrera y cols., 2016).

- **Fenilpropanoides:** La vía de los fenilpropanoides es precursora de muchos metabolitos en las plantas ya que, por medio de esta, se realiza la biosíntesis de fitoquímicos a partir de la estructura de carbono de la fenilalanina. Los fenilpropanoides juegan un papel muy importante en la habilidad que tienen las plantas para contrarrestar el ataque de patógenos, entre estos se incluye de manera general a las ligninas y compuestos fenólicos como los flavonoides, los cuales toman parte en alguna de las múltiples rutas precedidas por esta vía (Herrera y cols., 2016).

- **Cumarinas:** son una amplia familia de lactonas, más de 1500 identificadas en más de 800 especies de plantas, que actúan como agentes antimicrobianos y como inhibidores de germinación. Algunas muestran fototoxicidad frente a insectos tras activarse por luz UV (Ávalos y Pérez, 2009).
- **Derivados del ácido benzoico:** tienen un esqueleto formado por fenilpropanoides que han perdido un fragmento de dos carbonos de la cadena lateral. Ejemplos de estos derivados son la vainillina y el ácido salicílico, el cual actúa como regulador del crecimiento vegetal, implicado en la resistencia de la planta frente a patógenos (Ávalos y Pérez, 2009).

**Flavonoides y estilbenos:** Los flavonoides son un grupo muy diverso de compuestos fenólicos, de los cuales se conocen más de 6000 estructuras diferentes. El esqueleto carbonado contiene 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos. Se clasifican en función del grado de oxidación del puente de tres carbonos, siendo los principales antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas (Ávalos y Pérez, 2009).

En la ruta de biosíntesis de flavonoides la primera etapa consiste en la condensación de 3 moléculas de malonil-CoA con una molécula de p-cumaril-CoA. Esta reacción está catalizada por calcona sintasa y da lugar a

naringerina calcona, precursor de los flavonoles y antocianinas. La misma condensación catalizada por la estilbeno sintasa conduce a la formación estilbenos implicados en mecanismos de defensa de plantas frente a patógenos. Las antocianinas son flavonoides pigmentados responsables de la mayoría de los colores de las flores y los frutos (Ávalos y Pérez, 2009; Herrera y cols., 2016).

**Ligninas:** Son polímeros altamente ramificados de fenilpropanoides. Después de la celulosa, son las sustancias orgánicas más abundantes en las plantas. Se forma a partir de tres derivados fenilpropanoides: los alcoholes coniferílico, cumarílico y sinapílico, de manera que cada uno de ellos puede formar numerosos enlaces y ramificaciones de los solventes orgánicos lo que hace muy difícil su extracción sin degradarla, haciendo que cada lignina pueda ser única. También tiene función protectora dado que su resistencia mecánica evita que las plantas sean alimento para animales (Ávalos y Pérez, 2009; Herrera y cols., 2016).

**Taninos:** Son compuestos fenólicos que se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, su estructura es compleja y presentan masas moleculares altas. Existen tres grupos estructurales que se producen por diferentes vías biosintéticas, los taninos hidrolizables derivan de la vía del ácido shikímico, los florotaninos provienen del malonilcoA y los taninos condensados derivan por biosíntesis mixta (Isaza, 2007).

Son una variedad de polifenoles vegetales usados en el proceso de curtiembre para convertir la piel de los animales en cuero y hacerla así resistente al agua, al calor y al ataque de los microorganismos. Los taninos aparecen en altas concentraciones en la corteza y leño de algunos árboles y en agallas vegetales. Sus aplicaciones en diversas industrias derivan en gran medida de su capacidad para formar complejos con alcaloides, iones metálicos (hierro, manganeso, vanadio, cobre, aluminio, entre otros) y con

macromoléculas como las proteínas (Ávalos y Pérez, 2009; Von, 2007). Los taninos se agrupan en dos clases principales:

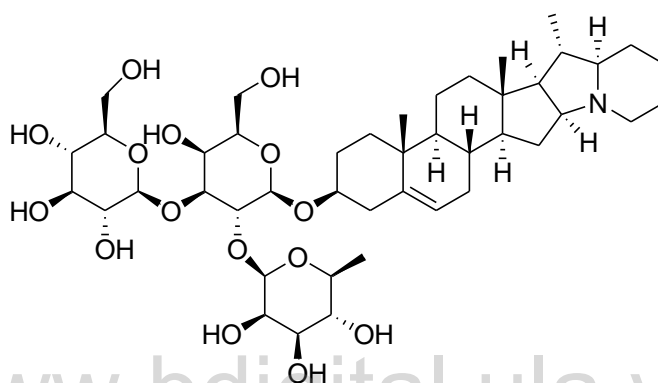
- Taninos hidrolizables: se caracterizan por presentar estructura de glicósidos. La porción no glucídica (aglicón) corresponde a moléculas de ácido gálico o su dímero, el ácido elágico. Dentro de los azúcares, generalmente está presente la glucosa (Von, 2007).
- Taninos condensados: se trata en este caso de polímeros cuyas estructuras están relacionadas con los compuestos flavonoides. Reciben también el nombre de proantocianidinas, proantocianidoles o leucoantocianidinas (Von, 2007).

**Glicósidos:** Son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal, de carácter anfílico y gran diversidad estructural. Estos metabolitos consisten en un residuo lipofílico de distinta naturaleza, unido a uno o más residuos oligosacáridos que pueden consistir desde un monosacárido a oligosacárido pudiendo presentar diversas modificaciones estructurales que son el origen de la enorme diversidad estructural que se encuentra en esta familia de productos naturales (Ferreira y Olivaro, 2015).

Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardíacos y glicósidos cianogénicos. Una cuarta familia, los glucosinolatos, se incluyen en este grupo debido a su estructura similar a los glicósidos (Ávalos y Pérez, 2009).

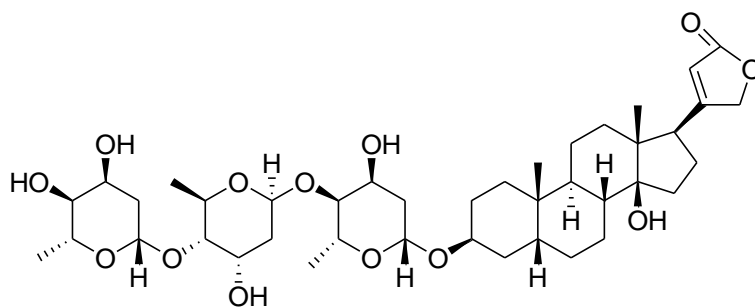
**Saponinas** se encuentran como glicósidos esteroideos, glicósidos esteroideos alcaloides o bien glicósidos triterpenos (Figura 1). Son por tanto triterpenoides o esteroides que contienen una o más moléculas de azúcar en su estructura. Se pueden presentar como agliconas, es decir, sin el azúcar (el terpeno sin el azúcar, por ejemplo), en cuyo caso se denominan sapogeninas. La adición de un grupo hidrofílico (azúcar) a un terpenoide

hidrofóbico da lugar a las propiedades surfactantes o detergentes similares al jabón que presentan las saponinas (Ávalos y Pérez, 2009). Se les conoce desde la antigüedad por su capacidad de formar espuma cuando se les agita con agua. El nombre saponina se le dio debido a este comportamiento como jabón. Se caracterizan también por su sabor amargo y por la hemólisis de eritrocitos. Muchas tienen propiedades farmacológicas por lo que se usan en fitoterapia, medicina popular y en la industria de cosméticos (Valencia, Mac Donald, Cuyos y Dueñas, 2005)



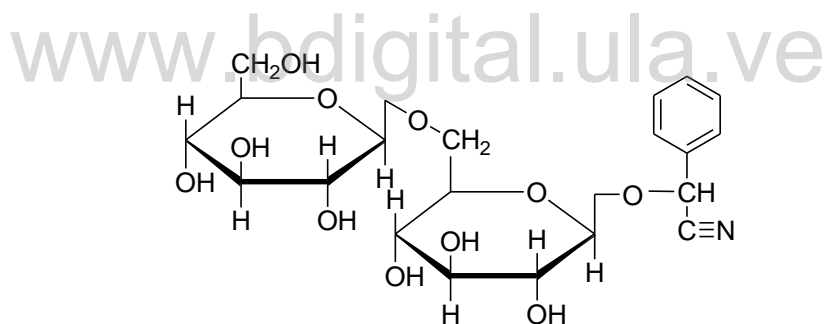
**Figura 1.** Estructura general de una saponina. Tomado y modificado de López, González, Méndez y Palma, 2022.

**Los glicósidos cardiacos o cardenólidos** son semejantes a las saponinas esteroideas, tienen también propiedades detergentes, pero su estructura contiene una lactona. Se encuentran de forma natural en forma de glicósidos o de agliconas. Quizá el más conocido sea la digitoxina (Figura 2) o su análogo digoxina, aislada de *Digitalis purpurea* y utilizada como medicamento en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca congestiva (Ávalos y Pérez, 2009).



**Figura 2.** Estructura química de la Digoxina (Glicósidos Cardíaco). Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009.

**Los glicósidos cianogénicos** son compuestos nitrogenados, que no son tóxicos por sí mismos pero se degradan cuando la planta es aplastada liberando sustancias volátiles tóxicas como cianuro de hidrógeno (HCN). Un ejemplo es la amigdalina (Figura 3) que se encuentra en las semillas de almendra, albaricoque, cereza o melocotón (Ávalos y Pérez, 2009).

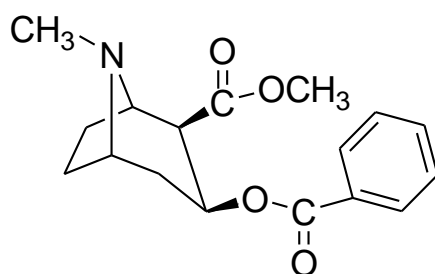


**Figura 3.** Estructura química de los glicósidos cianogénicos. Tomado y modificado de <https://quimicaencasa.com/la-quimica-de-las-cerezas/>.

**Los glucosinolatos**, también llamados glicósidos del aceite de mostaza, se degradan y desprenden sustancias volátiles responsables del aroma, el olor y el gusto de condimentos como la mostaza y de vegetales como el repollo, brócoli o coliflor (Brassicaceae) (Ávalos y Pérez, 2009).

**Alcaloides:** Constituyen un grupo de numerosos compuestos secundarios nitrogenados aislados tradicionalmente de plantas, aunque actualmente se ha reportado también la presencia de un número creciente de este tipo de metabolitos en algunos animales e insectos. Debido a que muchos alcaloides tienen fórmulas químicas complejas y múltiples carbonos asimétricos, el estudio de sus vías de biosíntesis ha sido relativamente difíciles de resolver, y en algunos casos permanecen aún incompletos. Las rutas biosintéticas son diversas y los precursores que utilizan las plantas son los aminoácidos: L-ornitina, L-arginina, L-lisina, histidina, L-fenilalanina, L-triptófano o L-tirosina y en menor proporción otros compuestos que pueden intervenir como la L-prolina, el ácido antranílico, el ácido nicotínico y otros (Ringuelet y Viña, 2013; Bruneton, 2001).

La síntesis se lleva a cabo en determinados órganos de las plantas, por Ejemplo: La morfina en el látex, la hiosciamina en la raíz, la cocaína (Figura 4) en hojas y algunos como la nicotina, se forman en la raíz y se translocan y almacenan en otras partes de la planta (en las hojas en el caso del tabaco) (Ringuelet y Viña, 2013).



**Figura 4.** Estructura química de la Cocaína (Alcaloide del tropano). Tomado y modificado de <https://www.shutterstock.com/es/imagevector/cocaine-chemical-formula-molecular-structure-vector-21046648>

La función de los alcaloides en las plantas no es aún clara, pero existe algunas sugerencias sobre el “rol” que juegan estas sustancias en los vegetales. La mayoría de ellos presentan acciones fisiológicas marcadas

sobre el organismo animal, o bien son tóxicos para los insectos (Ringuelet, y Viña, 2013).

Han sido citados algunos alcaloides con actividad antiviral (esparteína), bactericidas (lupinina, lupanina, angustifolina), nematocidas (anagirina, matrina y citisina), atrayentes o repelentes (Bruneton, 2001).

### **Familia Sapindaceae**

El orden Sapindales de acuerdo al sistema de clasificación de Cronquist (1981), se encuentra representado por 15 familias y cerca de 5.400 especies ubicadas principalmente en las familias Sapindaceae (ver taxonomía en la tabla 1) y Rutaceae. El sistema APG (Grupo de Filogenia de Angiospermas) lo reduce a nueve familias, cerca de 460 géneros y 5.700 especies. Siguiendo la clasificación de Cronquist (1981), indica que en Venezuela las familias del orden Sapindales que se encuentran son Anacardiaceae, Burseraceae, Hippocastanaceae, Meliaceae, Sapindaceae, Simaroubaceae, Staphyleaceae, Rutaceae y Zygophyllaceae. De acuerdo a APG, las familias de Sapindales en Venezuela se reducen de nueve a seis ya que excluye a las familias Hippocastanaceae, Staphyleaceae y Zygophyllaceae (León, 2013).

Sapindales es un orden de interés en el país ya que incluye especies de alto valor como *Sapindus saponaria* (Sapindaceae) *Anacardium excelsum* (Anacardiaceae), *Astronium graveolens* (Anacardiaceae), *Cedrela odorata* (Meliaceae), *Swietenia macrophylla* (Meliaceae), *Bulnesia arborea* (Zygophyllaceae), entre otras. Igualmente, desde el punto de vista frutal, hay especies de importancia como *Mangifera indica* (Anacardiaceae), *Spondias mombin* (Anacardiaceae) y *Melicoccus bijugatus* (Sapindaceae) (León, 2013).

Actualmente Sapindaceae, comprende alrededor de 141 géneros y 1900 especies, presentan una amplia distribución en el mundo, es cosmopolita,

representada en América tropical con 968 especies, en África tropical existen 234, en la parte sur de África hay 27, en la India 37. Esta familia es de gran importancia en Venezuela desde el punto de vista florístico. Se encuentra bien representada en la mayor parte del territorio nacional y algunas de sus especies son utilizadas en el campo medicinal, ornamental y en el aprovechamiento de la madera. Se distribuye principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del país, mientras que en las zonas áridas el número de especies es menor (Calónico, 2019; León, 2011).

**Tabla 1.** Clasificación Taxonómica de la Familia Sapindaceae

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Sapindales
<b>Familia</b>	Sapindaceae

**Fuente:** Tomado y modificado de <https://www.botanicalonline.com/productos-naturales/jaboncillo-sapindus-saponaria>

### ***Compuestos químicos o metabolitos secundarios aislados***

La familia Sapindaceae se caracteriza por la presencia de numerosas sustancias bioactivas de diversa naturaleza química en corteza, hojas frutos y raíz. Las investigaciones químicas de esta familia han llevado al aislamiento de saponinas, diterpenos, triterpenos y flavonoides (Grisi, Forim, Soares, Anese, Franco, Nogueira, y cols., 2014).

Otros estudios fitoquímicos realizados en especies de la familia Sapindaceae reportan además la presencia de alcaloides, ácidos grasos, taninos condensados y productos cianogénicos. También se ha detectado la presencia de fenoles y esteroides, y se ha demostrado que el extracto de muchas de sus especies posee actividad hipoglucemiante y que el uso de

estos metabolitos sirve como estimulantes y para el tratamiento de diarreas ligeras. Asimismo, se han reportado varios extractos con actividad antibacteriana y se han aislado los metabolitos como escopoletina y estigmasterol (Polanco, 2011).

### ***Usos etnobotánicos y actividades biológicas***

La familia Sapindaceae presenta una gran cantidad de usos que van desde la utilización de sus troncos como madera de construcción, hasta ser aprovechada por sus beneficios terapéuticos. Varias especies se cultivan por su valor ornamental y usos diversos, como la elaboración de jabón casero, jarabes e incluso para la preparación de bebidas, o bien por sus frutos comestibles (Polanco, 2011).

Es decir que esta familia vegetal posee usos agrícolas, medicinales y domésticos. Es por ello que tiene un elevado valor económico. Las semillas de varias especies se han reconocido como venenosas, mientras que otras se emplean para la elaboración de collares y artículos de adorno similares. (Calderón y Rzedowski, 2006). Las especies de la familia Sapindaceae son conocidas por sus usos medicinales tradicionales como diurético, estimulante, expectorante, tensioactivo natural, sedante, antihelmíntico y agente contra el dolor de estómago y la dermatitis en muchas partes del mundo (Grisi y cols., 2014).

Recientemente, se reportó que el extracto de hojas, raíz y otras partes de las plantas de algunas especies pertenecientes a esta familia, poseen actividad hipoglucemiante, leishmanicida e incluso poseen actividad frente a *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. Además algunos bejucos son utilizados para tratar apostemas, fístulas, infecciones, vómitos, dolor de cabeza y diarrea (Polanco, 2011).

## Género *Sapindus*

El género *Sapindus* está formado por unas doce especies de árboles o arbustos, originario de Mesoamérica, distribuidos por los trópicos y subtrópicos del mundo. Su nombre genérico deriva de las palabras del latín *sap* que significa "jabón", e *indicus*, que significa "India". Las especies pertenecientes a este género presentan árboles, arbustos, bejucos con zarcillos y ocasionalmente hierbas, plantas polígamas o dioicas. Tallos en los bejucos con madera compuesta de un haz central y varios periféricos. Hojas alternas, ocasionalmente opuestas, persistentes, simples, lobadas, trifolioladas, biternadas, paripinnadas, imparipinnadas o pinnaticompuestas. Flores bisexuales o unisexuales con apéndices petaloideas de formas complejas, simples o bifurcadas. Frutos cápsulas infladas, bayas, drupas o esquizocarpos alados o inflados, septifragas, loculicidas. Semillas ovoides a esféricas o comprimidas de color pardo o negro, con o sin arilo (Abreu, 2005; Calónico, 2019).

Varias especies de *Sapindus* se valoran en algunos países por su madera, utilizada para carpintería de interior, construcciones rurales, horcones, mangos de herramientas y postes de cerca (León, 2013). Este género se clasifica taxonómicamente (Tabla 2) de la siguiente manera:

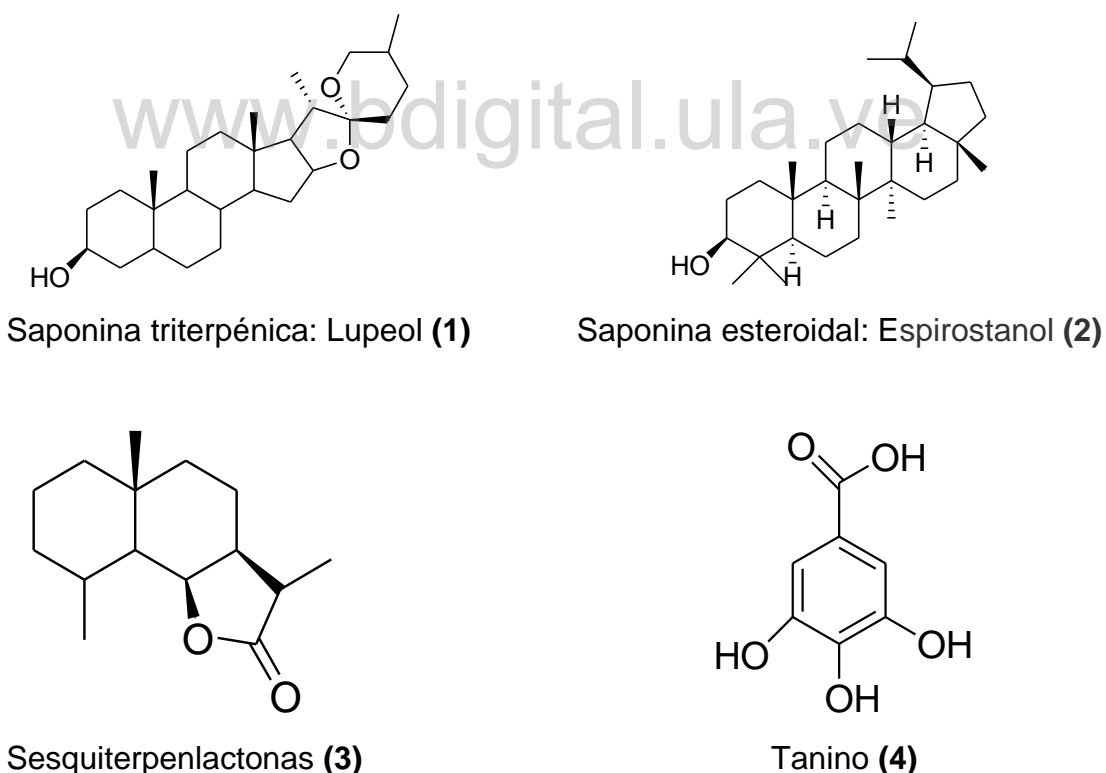
**Tabla 2.** Clasificación Taxonómica del Género *Sapindus*

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Sapindales
<b>Familia</b>	Sapindaceae
<b>Género</b>	<i>Sapindus</i>

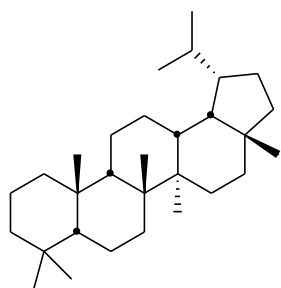
**Fuente:** Tomado y modificado de <https://www.botanical-online.com/productos-naturales/jaboncillo-sapindus-saponaria>

### Compuestos químicos o metabolitos secundarios aislados

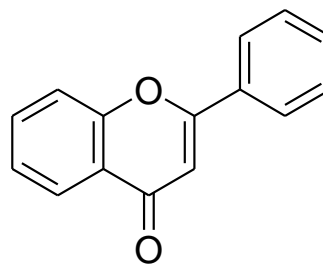
Estudios detallados sobre la composición química de este género reportan saponinas triterpénicas (lupeol) **(1)** y esteroidales (espirostanol) **(2)**, oligoglucósidos y sesquiterpénicos acíclicos como Farneseo como las principales sustancias bioactivas encontradas en sus frutos (Grisi y cols., 2014). El potencial medicinal de *Sapindus* ha sido estudiado por autores de varios países en los últimos años, evidenciando la presencia de sesquiterpenlactonas **(3)**, y taninos **(4)** en hojas y tallos. Además se ha demostrado que contiene terpenos (lupano) **(5)** los cuales se encuentran abundantemente en este género. También han dilucidado la presencia de otros metabolitos como flavonoides (isoflavonoide) **(6)** en todos los estudios realizados a las hojas (ver estructuras en la Figura 5) (Abreu, 2005).



**Figura 5.** Principales compuestos químicos aislados del género *Sapindus*. Tomado y modificado de Góngora, Mendoza, López, López, y Quihui, 2023.



Lupano (5)



Flavonoide: Isoflavonoide (6)

**Figura 5.** Principales compuestos químicos aislados del género *Sapindus*. Tomado y modificado de Góngora, Mendoza, López, López, y Quihui, 2023. (Continuación).

### ***Usos etnobotánicos y actividades biológicas***

Hasta ahora se informan 55 usos tradicionales y 29 efectos biológicos comprobados. Entre estos usos, con más referencias para las especies del género *Sapindus* están el tratamiento de la epilepsia y afecciones de la piel, como abortivo y piscida, distribuidos casi la totalidad en *S. saponaria*, *S. trifoliatum* y *S. mukorossi*, en ese orden. El fruto (pericarpio) es la parte más empleada, aunque también hay referencias del uso de la hoja, ramas, corteza y semillas. Una gran diversidad de hábitos tradicionales se refieren por los pueblos de varias zonas geográficas para el género *Sapindus*, el efecto de muchos de estos usos es posible agruparlos en sistemas de órganos o acciones como: Sistema Genitourinario, Nervioso y Respiratorio; biocidas y sobre la piel (Abreu, 2005). Se destaca el empleo del género en otros países en situaciones de salud que competen a la Ginecoobstetricia como abortivo, inductor del parto y para el tratamiento del dolor uterino y también en usos tan diversos como: emético, en la histeria, antiepiléptico, contra la halitosis, antimicrobiano, en el cólera, parálisis, emenagogo, piscida y exorcismo, entre otros. Adicionalmente, está demostrado que sirve como

detergente, además la madera es utilizada para la fabricación de mangos de herramientas y como leña (Valverde, 1999).

### **Especie *Sapindus saponaria***

El árbol de *Sapindus saponaria* (Figura 6) tiene una altura entre 8 a 15 m, con un diámetro de 45 a 50 cm y el tronco ramificado. Se identifica por su copa redonda a ovalada estrecha. La corteza tiende a ser escamosa de color grisácea a verdosa, levemente fisurada. Sus ramitas terminales son cilíndricas, glabrescentes. Las hojas son compuestas, alternas, imparipinadas con borde entero, lanceoladas, longitud de 10-20 cm, ápice obtuso, base asimétrica, borde entero, y el raquis alado (Jorgensen y León, 1999).

Es una planta monoica; es decir, posee flores unisexuales con características como color blancas, diámetro de 0,5 cm, en inflorescencias de racimo compuesto o panoja. El fruto es una drupa monosperma de color castaño con un diámetro de 2-3 cm, cáscara semi-transparente de una sola semilla de color negro, lustrosa y dura (Ministerio del Ambiente Ecuador, 2012).



**Figura 6.** Árbol de *Sapindus saponaria*, tomado y modificado de <https://catalogovallsgarden.com.ar/producto/sapindus-saponaria>

La especie *Sapindus saponaria* se conoce con diferentes nombres comunes, entre los que se encuentran chambimbe, chambimba, michú, pepo, parapara, jaboncillo y chumbimba. Importante destacar que florece de enero a mayo y de octubre a diciembre, fructifica en enero y de marzo a diciembre (Sánchez y Silva, 2008; Calónico, 2019). Se ubica dentro de la familia Sapindaceae (Tabla 3) por lo que sigue el siguiente orden taxonómico:

**Tabla 3.** Clasificación Taxonómica de la especie *Sapindus saponaria*.

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Sapindales
<b>Familia</b>	Sapindaceae
<b>Género</b>	<i>Sapindus</i>
<b>Especie</b>	<i>Sapindus saponaria</i>

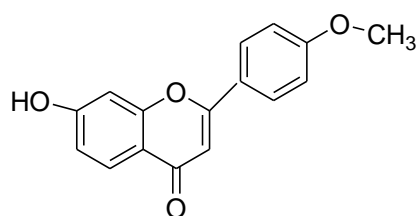
**Fuente:** Tomado y modificado de [https://www.botanical-online.com/productos naturales/jaboncillo-sapindus-saponaria](https://www.botanical-online.com/productos-naturales/jaboncillo-sapindus-saponaria)

La *Sapindus saponaria* originaria de América tropical, se distribuye desde el sur de Estados Unidos, Centroamérica, Venezuela, Ecuador, Perú, Colombia y Brasil. Ha sido introducida además en los trópicos del viejo mundo, a las islas Filipinas, parte de Oceanía y el oeste de la India. En Venezuela se distribuye ampliamente en regiones cálidas, el árbol crece con frecuencia en la región del Orinoco y el Amazonas (Pujol y Cols., 2020; Pittier, 1939). Además se presenta en bosques abiertos húmedos o secos, o en orillas, frecuentemente plantado junto a las casas en suelos anaranjado-rojizos, arcillosos. Su distribución altitudinal varía de 0 a 1800 metros sobre el nivel del mar, donde se adapta a gran variedad de suelos desde calizos

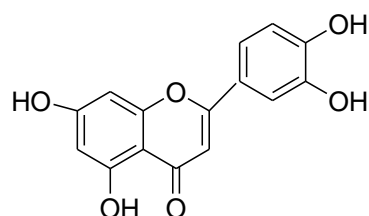
hasta volcánicos. Igualmente, se ha encontrado que el jaboncillo soporta bien la sequía (Sánchez y Silva, 2008).

### **Compuestos químicos o metabolitos secundarios aislados de *S. saponaria***

En los estudios realizados a esta planta se han identificado flavonoides como la 4-metoxiflavona (**7**), luteolín (**8**) y rutín (**9**) en las hojas y en los tallos y la presencia de saponinas monoglicosilada; ácido 3-O- $\beta$ -D glucopiranosil oleanólico (**10**) y trómeros epicatequínico (**11**) en el pericarpio del fruto. La semilla contiene los triterpenos y el esteroles como beta-sitosterol (**12**). En las partes aéreas se han detectado el estigmasterol (**13**), el ácido oleanólico (**14**), el orientin el isoorientin, la luteolina-7-O- $\beta$ -glucurónido y la rutina (Pujol y cols., 2020). Otros estudios fitoquímicos han planteado la presencia de alcaloides además de saponinas triterpénicas del tipo hederagenina (**15**) (ver estructuras en la Figura 7). Las principales sustancias bioactivas encontradas en sus frutos son las saponinas. En base a esta información las hojas pueden producir compuestos biológicamente activos y poseer fuentes potenciales de herbicidas naturales (Grisi y cols., 2014).

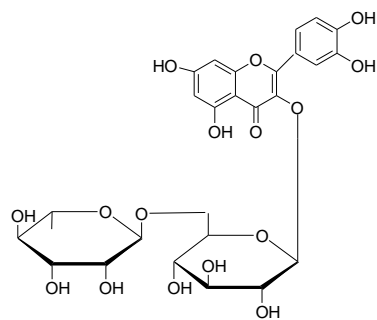


4-metoxiflavona (**7**)

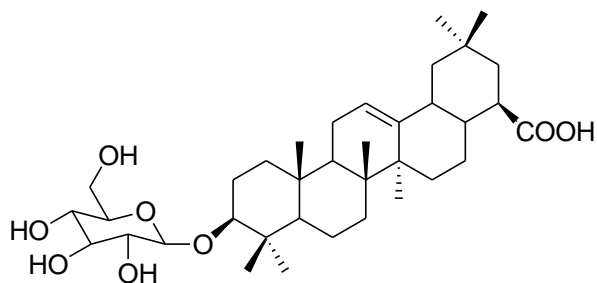


luteolín (**8**)

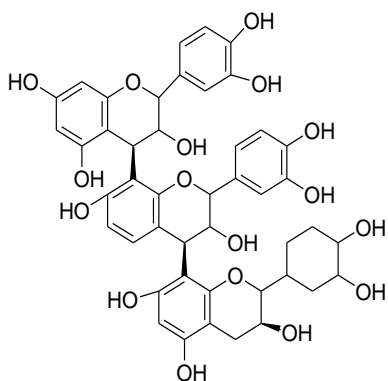
**Figura 7.** Compuestos químicos aislados de *Sapindus saponaria*. Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009.



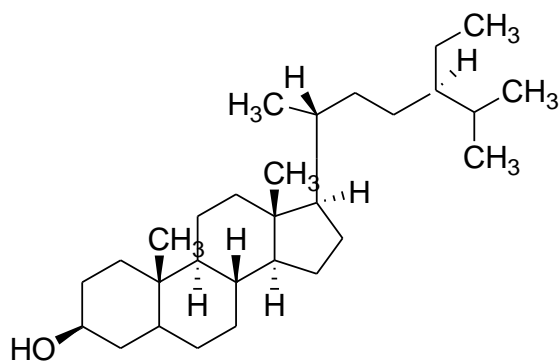
Rutín (9)



Saponina monoglicosilada: ácido 3-O-  $\beta$ -D glucopiranosil oleanólico (10)

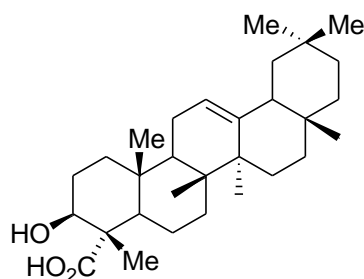
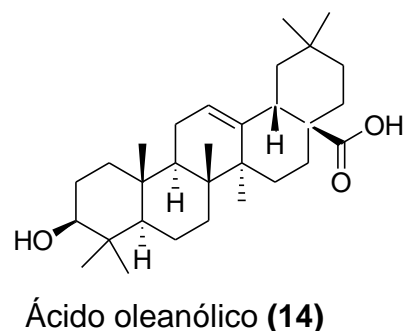
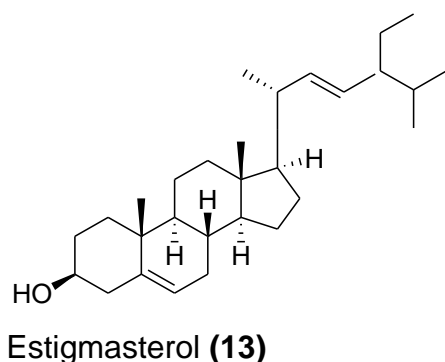


Trímeros epicatequínico (11)



Beta-sitosterol (12)

**Figura 7.** Compuestos químicos aislados de *Sapindus saponaria*. Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009 (Continuación).



**Figura 7.** Compuestos químicos aislados de *Sapindus saponaria*. Tomado y modificado de Ávalos y Pérez, 2009; Ruiz, Díaz y Rojas, 2015. (Continuación).

### ***Usos etnobotánicos y actividades biológicas de S. saponaria***

De esta especie se han informado 32 usos tradicionales y 14 efectos biológicos comprobados. A escala internacional para *S. saponaria* hay también diversos reportes etnobotánicos, puesto que desde la antigüedad se usa como antídoto contra la picadura de alacrán en las gallinas, la madera se utiliza para artesanías y leña, la cáscara del fruto se emplea para lavar oro y ropa, las semillas para elaborar collares, y también los niños las usan como canicas para jugar (Abreu, 2005).

Las conocidas propiedades deterativas de esta especie se la confieren las saponinas que contienen en el pericarpio, estas también pueden ejercer una

amplia actividad biológica y farmacológica: antiedematosa, venotónica, broncolítica, citotóxica frente a varias neoplasias, antiinflamatoria, hipocolesterolémica, entre otras. La corteza, raíz y frutos se utilizan en la medicina popular como tranquilizante, astringente, diurético, expectorante, tónico, depurativo de la sangre, cicatrizante y para contrarrestar la tos, siendo también un neutralizador de hemorragias. Adicionalmente, se ha reportado que el extracto de *Sapindus saponaria* tiene actividad como antifúngico, antibacteriano y larvicida (Abreu, 2005; Rashed, Sirit, Glamollija, Calhelha, Ferreira y Sokovit, 2013).

### **Extractos Vegetales**

Los extractos vegetales son productos obtenidos de distintas partes de la planta: tallos, hojas, flores, corteza, etc. Éstos están compuestos por varias sustancias, de las cuales son los compuestos aromáticos, lo que tienen las propiedades antimicrobianas y se hallan en la fracción oleosa o aceites esenciales. Se obtienen a partir de diversos procesos utilizando solventes apropiados tales como agua, etanol o éter (Herman, Ayepa, Shittu, Fometu, y Wang, 2019; Tongnuanchan y Benjakul, 2014).

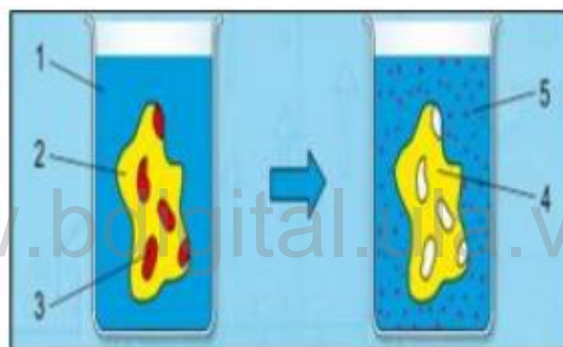
### ***Métodos de Extracción***

Existen varios métodos de separación o de extracción para analizar las propiedades bioactivas de una droga vegetal, sin embargo los más empleados son los siguientes:

- **Extracción sólido – líquido**

Es un proceso en el que se separan uno o varios constituyentes solubles contenidos en un sólido inerte usando un disolvente adecuado (Figura 8). Los factores más importantes que influyen en la

velocidad de extracción son: Tamaño de las partículas sólidas, tipo de disolvente, temperatura y agitación del disolvente-soluto. Esta operación se realiza con aparatos llamados extractores, que pueden trabajar a régimen permanente o por lotes; se pretende tener el contacto más íntimo posible entre las fases para favorecer la extracción. La operación recibe también el nombre de lixiviación, nombre más empleado al disolver y extraer sustancias inorgánicas en la industria minera o percolación cuando se hace con un disolvente caliente o a punto de ebullición (Aguado, Calles, Cañizares, López, Santos, Serrano y cols., 2010).



**Figura 8.** Extracción sólido-líquido. Leyenda: 1: Disolvente, 2: Material de extracción, 3: Solute, 4: Fase portadora sólida lixiviada. 5: Disolvente con el soluto de transición en el disuelto. Tomado y modificado de Procesosbio, 2012.

- **Extracción por Soxhlet**

Este es un proceso de extracción continua de un material sólido que contiene algunos de los compuestos deseados, se coloca dentro de un dedal de papel filtro grueso, que se carga en la cámara principal 37 del extractor Soxhlet (Figura 9), donde se hace pasar el solvente, este ciclo puede repetirse muchas veces, durante horas o días. Para la extracción del material vegetal se puede dividir en: Parte aérea

(flores, frutos, semillas, hojas, tallo y raíz), el estudio fitoquímico puede ser de la planta completa o una de sus partes para un análisis específico (Rivas, Oranday y Verde, 2016).



**Figura 9.** Equipo de Extracción Soxhlet. Tomado y modificado de Rivas y cols., 2016.

- **Extracción por reflujo**

Es una técnica experimental de laboratorio, para el calentamiento de reacciones que ocurren a una temperatura superior a la temperatura ambiente. En el proceso para evitar que por un calentamiento excesivo se evapore el solvente es utilizado un sistema de reflujo que consiste en enfriar el vapor del solvente, con un

refrigerante y devolverlo al balón que contiene el material para continuar el proceso (Marriott, Méndez, Espinoza y Martínez, 2024).

- **Maceración**

Este es un método de extracción sólido-líquido (Figura 10) donde el material vegetal que se pretende extraer contiene compuestos solubles en el líquido de extracción. Para realizar este proceso el material vegetal se corta en pequeños trozos o molido, fresco o seco se coloca en recipientes adecuados, añadiendo el solvente seleccionado por polaridad: hexano (o éter de petróleo), cloroformo y finalmente metanol o etanol en reposo o en un equipo con agitación continua, a temperatura ambiente durante 5 días cada extracción, otra opción es obtenerlo en una forma directa agregando una mezcla de solventes: metanol: cloroformo: hexano en la proporción 7:2:1, obteniendo un extracto de manera directa (Rivas y cols., 2016).



**Figura 10.** Proceso de maceración. Tomado y modificado de Rivas y cols., 2016.

- **Extracción líquido- líquido**

Consiste en la separación de los constituyentes de una mezcla líquida por contacto con otro líquido inmiscible (parcial o totalmente inmiscible), de esta manera no existe cambio de estado físico (Figura 11). Constan de 2 fases: La fase acuosa (agua o dilución acuosa) y la

fase orgánica (disolución o disolvente orgánico inmiscible con el agua) (Gomis, 2010).



**Figura 11.** Extracción líquido-líquido. Tomado y modificado de Gomis, 2010.

- **Infusión**

Es un proceso simple de extracción con agua, en el que se le agrega agua caliente o fría al material molido y luego se filtra para hervirlo por 15 minutos (López, Loimig y Ortega, 2022).

- **Decocción**

El procedimiento para la obtención de una decocción es similar al de la infusión, con la diferencia que en la decocción una vez que el agua alcanza la temperatura de ebullición se agrega la parte de la planta a utilizar al agua hirviendo y se mantiene en la fuente de calor entre 5 y 10 minutos aproximadamente (López y cols., 2022).

### **Análisis fitoquímico**

El ensayo fitoquímico o “screening” fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y, a partir de allí, orientar la extracción o fraccionamiento de los

extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. De manera que el tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y precipitación. Este método permite la evaluación rápida con reacciones sensibles reproducibles y de bajo costo (Sharapin, 2000).

Para conocer el tipo de compuestos presentes en las plantas pueden usarse diferentes técnicas, tales como el tradicional tamizaje fitoquímico, cromatografía de gases, cromatografía de capa delgada, cromatografía de líquidos de alta resolución, espectrofotometría de masas, espectrofotometría infrarrojo, entre otras (Lock, 1988).

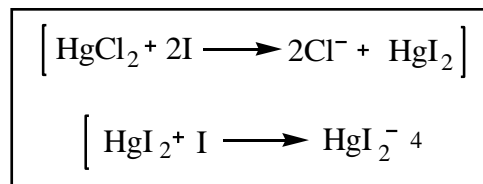
Aunque en la actualidad existen técnicas avanzadas para determinar la naturaleza química de los metabolitos de las plantas, los ensayos fitoquímicos tradicionales aún constituyen una forma confiable de realizar un análisis cualitativo de los extractos, ya que arrojan información preliminar acerca de su composición. Los resultados de las reacciones son reportados como (+) o (-) para el metabolito de que se trate (Sharapin, 2000). A continuación se describen las pruebas aplicadas para la determinación cualitativa de los metabolitos secundarios más estudiados en la materia vegetal:

#### **Determinación de alcaloides: Ensayo Dragendorff y Mayer**

Debido a la propiedad que presentan los alcaloides de combinarse con metales pesados como el bismuto, mercurio y yodo se dan las siguientes reacciones:

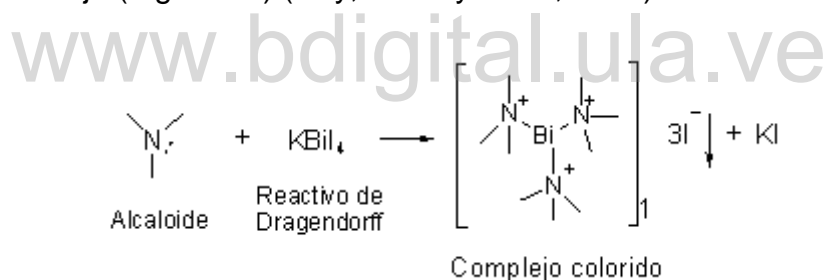
- Reacción de precipitación con reactivo de Mayer: Este reactivo precipita la mayoría de los alcaloides en medio ácido favoreciendo la formación de precipitados cristalinos de color blanco. Cuando el yoduro de potasio reacciona con el cloruro de mercurio forma un precipitado rojo de yoduro de mercurio (Figura 12), el cual es soluble

en exceso de iones de yoduro dando la formación de un anión complejo incoloro (Coy, Parra y Cuca, 2014).



**Figura 12.** Reacción de precipitación con reactivo de Mayer. Tomado y modificado de Coy, Parra y Cuca, 2014.

- Reacción de precipitación con reactivo de Dragendorff: Este reactivo contiene yoduro de bismuto potasio, donde al reaccionar  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  con el ácido (HCl) y con yoduro de potasio, forma complejos de color naranja (Figura 13) (Coy, Parra y Cuca, 2014).

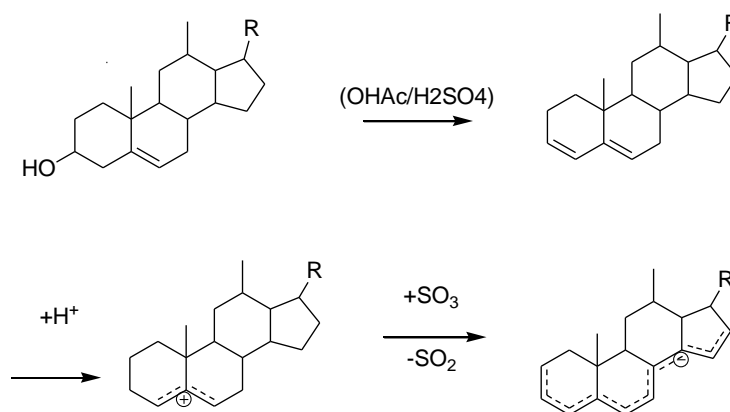


**Figura 13.** Reacción de precipitación con reactivo de Dragendorff. Tomado y modificado de Coy, Parra y Cuca, 2014.

### Determinación de triterpenos y esteroides: Ensayo de Lieberman-Burchard

El ensayo de Liebermann-Burchard consiste en una reacción donde el esteroide se oxida por la presencia del ácido sulfúrico que forma una molécula que contiene un doble enlace adicional. En la etapa inicial de esta prueba ocurre la protonación del grupo OH del esteroide habiendo una pérdida de agua y obteniéndose el ión carbonio 3,5 colestadieno que constituye la primera

parte para la formación de color (Figura 14) (Carvajal, Hata, Sierra y Rueda, 2009).

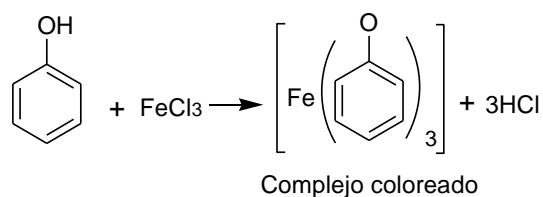


**Figura 14.** Reacción de Lieberman-Burchard. Tomado y modificado de Carvajal y cols., 2009.

Para la identificación de esteroides también se utiliza el ensayo de Vainillina- ácido ortofosfórico el cual detecta el núcleo esteroidal presente en la molécula (Carvajal y cols., 2009).

#### **Determinación de compuestos fenólicos: Ensayo de Cloruro Férrico**

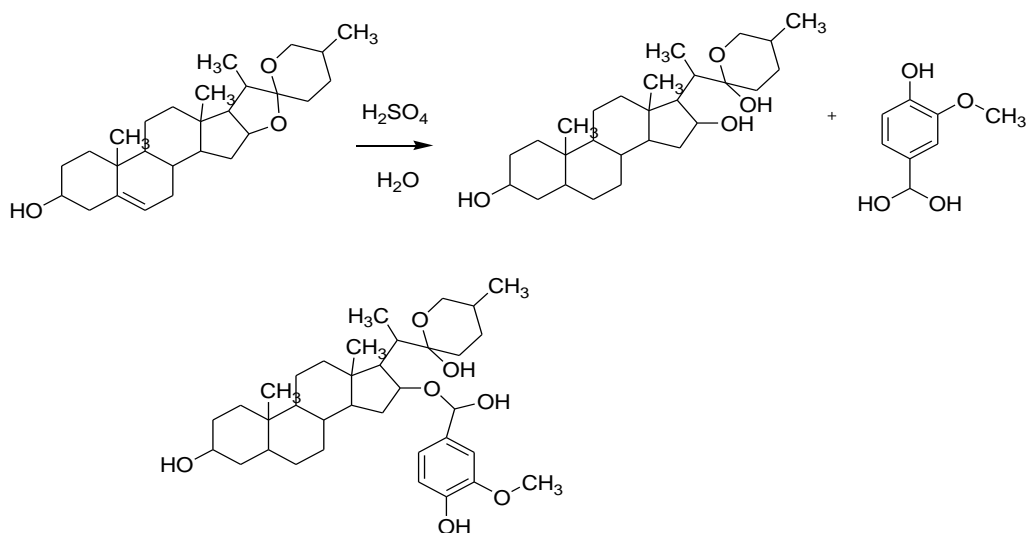
Los fenoles reaccionan con cloruro férrico (Figura 15) dando distintas coloraciones dependiendo del compuesto con que reaccionan. Una coloración negra grisácea puede corresponder a catecol, pero si su coloración es negro azulado hay una posible presencia de pirogalol, esta prueba identifica compuestos fenólicos mediante la formación de un complejo de fenol (Carvajal y cols., 2009).



**Figura 15.** Formación de complejo de fenoles con cloruro férrico acuoso. Tomado y modificado de Carvajal y cols., 2009.

### Determinación de saponinas: Ensayo de la Espuma

Las saponinas se pueden valorar por métodos físicos como el llamado Test Afrosimétrico y el Índice de Espuma o Índice Afrosimétrico. Estos métodos de evaluación están basados en la propiedad físico-química que presentan las soluciones acuosas de saponinas, de disminuir la tensión superficial de los líquidos acuosos, provocando abundante espuma por agitación (Figura 16). La prueba es positiva cuando la aparición de espuma es muy persistente y la persistencia en minutos de la espuma se califica con cruces: 5 - 20 min. (+); 20 - 25 min. (++); 30 - Más (+++) (Valencia, Mac Donald, Cuyos y Dueñas, 2005).



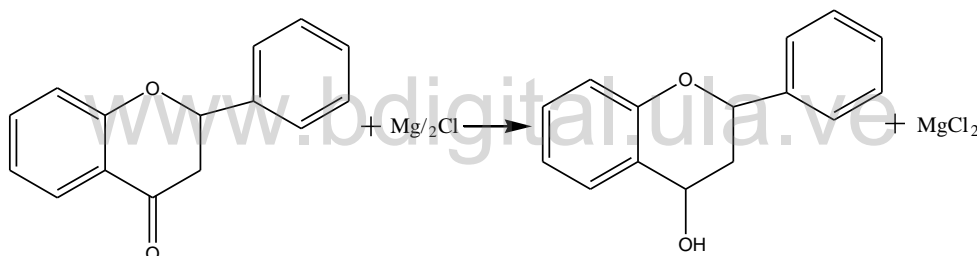
**Figura 16.** Identificación de saponinas. Tomado y modificado de Valencia y cols., 2005.

### Determinación de taninos: Prueba de la gelatina

Para la determinación de los taninos se utiliza el Ensayo de gelatinas al que consiste en la observación de un precipitado, ya que los taninos tienen la propiedad de reaccionar con las proteínas formando compuestos insolubles (Isaza, 2007).

### Determinación de flavonoides: Ensayo de Shinoda

La identificación de estos metabolitos secundarios se realiza por medio de las pruebas de Shinoda (Zn/HCl) y Leucoantocianidinas. La primera, es la reacción del magnesio en medio ácido (Figura 17) que reduce el flavonoide generando un producto coloreado que va del rojo anaranjado al violeta (Delporte, 2010), presentándose la siguiente reacción química:



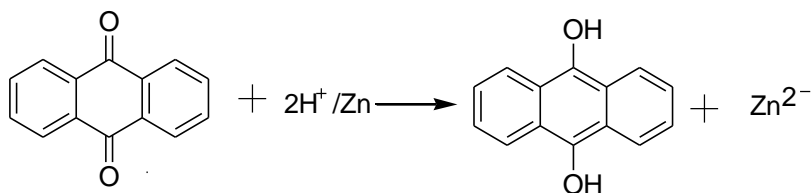
**Figura 17.** Reacción química: prueba de Shinoda para detección de flavonoides. Tomado y modificado de Delporte, 2010.

### Determinación de cumarinas: Ensayo de Fluorescencia

La prueba para su identificación se basa en la fluorescencia en medio básico, las cumarinas se caracterizan por su intensa absorción en la región ultravioleta del espectro, las cuales al ser examinadas a la luz ultravioleta presentan coloración exaltada en presencia de hidróxido de amonio (Jain y Joshi, 2012).

### Determinación de quinonas y antraquinonas: Prueba de Borntrager

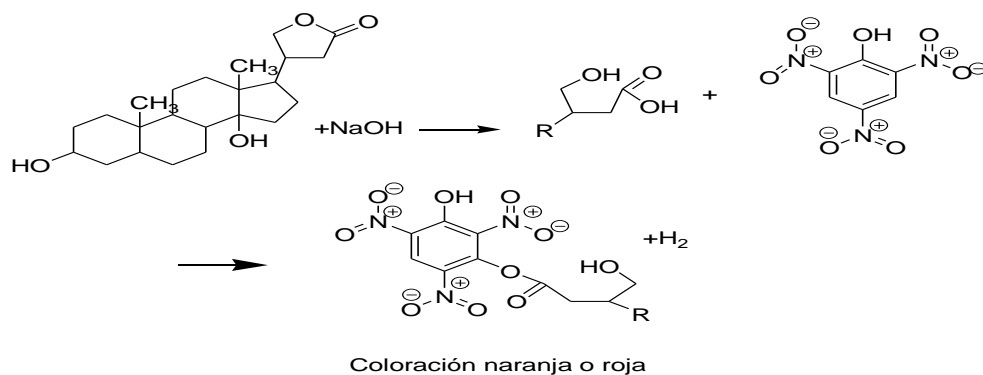
Se fundamenta en la hidrólisis de los enlaces glicosídicos y se produce una oxidación de las antronas y los antranoles hasta antraquinonas generando la formación de complejos de color rojo (Figura 18) (Carvajal y cols., 2009).



**Figura 18.** Reacción química de Borntrager. Tomado y modificado de Carvajal y cols., 2009.

### Determinación de lactonas: Reacción de Baljet.

En la identificación de estos compuestos se realiza la prueba de Baljet que identifica lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas (Figura 19) y se basa en la formación de un complejo formado entre el ácido pícrico y la lactona  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  insaturada, que presenta coloración rojo claro a oscuro (Martino y Sulsén, 2019).



**Figura 19.** Reacción de Baljet. Tomado y modificado de Martino y Sulsén, 2019.

## **Bacterias**

Las bacterias son organismos unicelulares que pertenecen al grupo de los procariontes; esto quiere decir que carecen de un núcleo celular y de orgánulos como las mitocondrias, los cloroplastos o el aparato de Golgi, por lo que su material genético (ADN) se encuentra libre en el citoplasma. A pesar de su sencilla organización celular, presentan una gran diversidad de formas conocidas como filamentos, cocos, bacilos, vibrios y espirilos. Las bacterias miden entre 0,5 y 5  $\mu$  de longitud; son tan pequeñas que es imposible verlas a simple vista, excepto cuando se agrupan en colonias (Sánchez, Gonzales, Ayora, Martínez y Pacheco, 2017).

Estos microorganismos cuentan con una pared que envuelve a la célula y le proporciona solidez y protección contra el ambiente externo. La pared celular que rodea a las bacterias es compleja, y existen dos formas básicas: una pared celular grampositiva con una gruesa capa de peptidoglucano y una pared celular gramnegativa con una delgada capa de peptidoglucano, así como una membrana externa. Algunas bacterias carecen de pared celular y compensan su ausencia sobreviviendo tan sólo en el interior de células del organismo anfitrión o en un ambiente hipertónico (Murray, Rosenthal y Pfäuer, 2011).

### ***Clasificación de las bacterias***

Las morfologías microscópica y macroscópica de las bacterias fueron las primeras características utilizadas para identificarlas y aún constituyen unos elementos fundamentales en la mayoría de los algoritmos de identificación utilizados actualmente. Por ejemplo, las bacterias se pueden clasificar según su capacidad de retención de la tinción de Gram (microorganismos grampositivos y gramnegativos) y por la forma de cada célula (cocos, bacilos, espirilos). Además, el aspecto macroscópico de las colonias bacterianas (propiedades hemolíticas en un medio de agar sangre, la pigmentación, el

tamaño y la forma de las colonias y el olor de las colonias) también se emplea en la identificación de las bacterias (Murray y cols., 2011).

Sin embargo, de todos los métodos que existen para clasificar y estudiar la morfología de las bacterias, la tinción Gram ha sido uno de los que más han resistido el paso del tiempo. Esta técnica de estudio, desarrollada en 1884 por el bacteriólogo danés Hans Christian Gram, permite hacer la diferenciación de las bacterias en dos grupos de acuerdo con las propiedades de sus membranas para teñirse. Son bacterias grampositivas las que después de la tinción se visualizan al microscopio con un color morado; en cambio, las bacterias gramnegativas se visualizan de color rosa, rojo o grosella. Este método que permite hacer un estudio muy general de las bacterias puede complementarse con otros rasgos de estos microorganismos que resultan útiles para agruparlos y clasificarlos, tal como se muestra en el tabla 4 (Sánchez y cols., 2017).

Se piensa que la diferencia entre los dos grupos se debe a un mayor grosor de la pared celular, específicamente en una capa de las grampositivas, en donde el yodo y el colorante precipitan y tiñen la pared de color violeta. En cambio, en el grupo de las bacterias gramnegativas el colorante cristal violeta (o violeta de genciana) se pierde fácilmente. Sin embargo, existen algunas bacterias en las que este método de identificación no se puede aplicar debido al alto contenido de lípidos que presenta la capa de la pared celular; tal es el caso de las micobacterias (*Mycobacterium tuberculosis*, causante de la tuberculosis) (Sánchez y cols., 2017).

**Tabla 4.** Principales características que diferencian a las bacterias grampositivas y gramnegativas.

<b>Características</b>	<b>grampositiva</b>	<b>gramnegativa</b>
<b>Reacción Gram</b>	Retiene el colorante cristal violeta y se tiñe de violeta o purpura	Se decolora y posteriormente retiene el colorante safranina, se tiñe de rojo o rosa.
<b>Capa de peptidoglicano</b>	Gruesa (multicapas)	Delgada (unicapa)
<b>Ácidos teicoicos</b>	Presentes en la mayoría	Ausente
<b>Espacio periplasmico</b>	Ausente	Presente
<b>Membrana externa</b>	Ausente	Presente
<b>Contenido de lipopolisacáridos</b>	Nulo	Alto
<b>Contenido de lípidos y lipoproteínas</b>	Bajo	Alto
<b>Resistencia al rompimiento celular de manera mecánica</b>	Alta	Baja
<b>Susceptibilidad a detergentes aniónicos</b>	Alta	Baja
<b>Resistencia a la desecación</b>	Alta	Baja

**Fuente:** Tomado y modificado de Sánchez y cols., 2017.

Basado en la tinción Gram y más enfocado en la clasificación de las distintas especies de bacterias conocidas de interés médico se diferencian cuatro categorías mayores de bacterias según sus rasgos fenotípicos (aquellas características observables, como su morfología, crecimiento,

propiedades bioquímicas, fisiología y comportamiento) (Brenner, Krieg, Staley y Garrity, 2005).

- 1) **Eubacterias gramnegativas que tienen pared celular:** En esta categoría hay un gran número de bacterias aerobias y anaerobias, de distintas formas y con diversas capacidades para asimilar sus fuentes de carbono. Dentro de este grupo se encuentran varias especies patógenas, como *Yersinia pestis*, causante de la peste negra que mató a miles de personas en los siglos VI y XIV; *Vibrio cholerae*, responsable del cólera; *Neisseria gonorrhoeae* y *N. meningitidis*, causantes de la gonorrea y la meningitis, respectivamente; y *Helicobacter pylori*, asociada a problemas de gastritis, úlceras gástricas y cáncer gástrico en humanos. Por otra parte, en este grupo también se encuentran géneros que tienen otras aplicaciones, como los que favorecen la mineralización de los suelos. Un ejemplo es *Rhizobium*, que se asocia en simbiosis (con beneficios mutuos) con plantas leguminosas, fija el nitrógeno y favorece el crecimiento de las mismas. Igualmente, especies del género *Acinetobacter* se utilizan en biotecnología para la biorremediación de suelos, pues degradan ciertos compuestos aromáticos y complejos provenientes de algunos derivados del petróleo (Brenner y cols., 2005).
- 2) **Eubacterias grampositivas que tienen pared celular:** En esta categoría figuran los microorganismos grampositivos con bajo 50 contenido en guanina y citosina (dos moléculas del ADN). Estas bacterias provocan enfermedades en los humanos, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium botulinum* y *Bacillus anthracis*, los dos últimos son causantes del botulismo y el ántrax, respectivamente. Dentro de este grupo también está el género *Lactobacillus*, bacterias que

viven en simbiosis con los humanos y se encuentran en la flora intestinal; varias de estas especies son utilizadas para la producción de yogur, queso, pepinillos, chocolate, etcétera. También en este grupo están las bacterias grampositivas con alto contenido en guanina y citosina. Entre los géneros más conocidos están *Mycobacterium*, *Corynebacterium* y *Streptomyces*. Este último género es muy importante porque incluye bacterias productoras de antibióticos, como *S. griseus* y *S. rimosus*, las cuales biosintetizan las sustancias estreptomina y tetraciclina, respectivamente (Brenner y cols., 2005).

- 3) **Eubacterias que carecen de pared celular:** Este grupo está representado por microorganismos pleomórficos (que tienen dos o más formas estructurales durante su ciclo de vida) y sin pared celular. El género más conocido es *Mycoplasma* y algunas de sus especies son patógenas para los seres humanos, como *M. genitalium* y *M. pneumoniae* (Brenner y cols., 2005).
- 4) **Arqueobacterias:** Son bacterias muy primitivas y genéticamente diferentes a las eubacterias. Se caracterizan por estar adaptadas a ambientes extremos. Algunas especies producen metano (metanógenas), otras utilizan azufre (sulfatorreductoras); unas pueden desarrollarse en ambientes con altas concentraciones de sal (halófilas extremas) y las hay también que crecen a altas temperaturas (termófilas e hipertermófilas) (Brenner y cols., 2005).

### ***Mecanismo de resistencia de las bacterias***

Las bacterias, por su tremenda capacidad de adaptación, pueden desarrollar mecanismos de resistencia frente a los antibióticos. Existe una resistencia natural (Tabla 5) o intrínseca que es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano y su aparición es previa al uso de los antibióticos. Por ejemplo, todos los gérmenes gramnegativos son resistentes a la

vancomicina, y esta situación no es variable. Se transmite de forma vertical de generación en generación. La resistencia adquirida es variable y es adquirida por una cepa de una especie bacteriana. Esta resistencia puede llevar a un fracaso terapéutico cuando se utiliza un antibiótico supuestamente activo sobre la bacteria que produce la infección. La aparición de resistencia antibiótica en una bacteria puede producirse a través de mutaciones, por cambios en la secuencia de bases del cromosoma, o por transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias. En este último caso, la transferencia de genes se realiza horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético móvil como transposones e integrones (Treviño y Molina, 2022; Pérez, 1998).

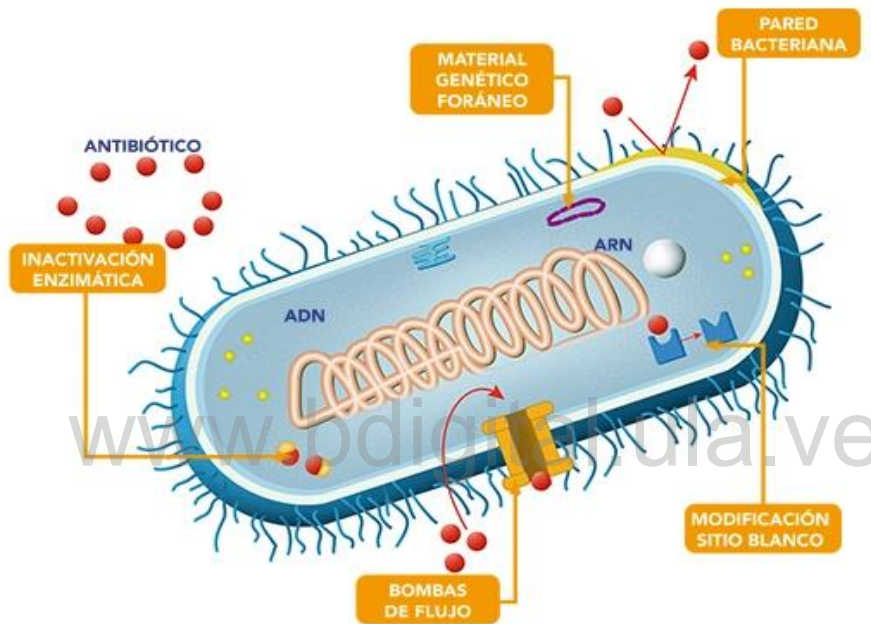
**Tabla 5.** Principales características de la resistencia natural y la resistencia adquirida.

	RESISTENCIA NATURAL	RESISTENCIA ADQUIRIDA
<b>Características</b>	Resistencia propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. El sitio de acción está ausente o es inaccesible.	Variable. Puede estar presente en una cepa bacteriana habitualmente sensible al antibiótico.
<b>Mecanismo de adquisición</b>	Genes de resistencia	Mutaciones en el cromosoma bacteriano
<b>Mecanismo de adquisición</b>	Genes de resistencia	Elementos genéticos móviles: plásmidos trasposones.
<b>Formas de transmisión</b>	Vertical (a las células hijas)	Vertical (a las células hijas) Horizontal a través de elementos genéticos móviles

**Fuente:** Tomado y modificado de Treviño y Molina, 2022

A continuación, se describen los principales mecanismos de resistencia adquirida a los antibióticos (figura 20):

- 1) Inactivación enzimática
- 2) Impermeabilidad
- 3) Alteración por parte de la bacteria de su punto diana
- 4) Eflujo



**Figura 20.** Principales mecanismos de resistencia adquirida a los antibióticos. Tomado y modificado de Treviño y Molina, 2022.

- 1) **Inactivación enzimática:** La bacteria produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las betalactamasas y muchas bacterias son capaces de producirlas. En los Gram positivos suelen ser plasmídicas, inducibles y extracelulares y en las Gram negativas de origen plasmídico o por transposones, constitutivas y periplásmicas. También hay enzimas modificantes de aminoglucósidos y aunque no es éste su principal mecanismo de resistencia, también el cloranfenicol, las

tetraciclinas y los macrólidos pueden ser inactivados por enzimas (Pérez, 1998).

- 2) **Impermeabilidad:** Las porinas son proteínas de membrana de la bacteria que están especializadas en el transporte de sustancias al interior celular. Ciertos antibióticos pueden utilizar las porinas bacterianas para ingresar al medio intracelular. Diversas mutaciones en los genes que codifican a las porinas pueden alterar su estructura o disminuir su expresión, impidiendo así el ingreso del Antibiótico. Este mecanismo de resistencia es propio de bacterias Gram negativas (Treviño y Molina, 2022).
- 3) **Alteración por parte de la bacteria de su punto diana:** Impidiendo o dificultando la acción del antibiótico. Aquí podemos contemplar las alteraciones a nivel del ADN girasa (resistencia de quinolonas), del ARNr 23S (macrólidos) de las enzimas PBPs (proteínas fijadoras de penicilina) necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a betalactámicos) (Pérez, 1998).
- 4) **Eflujo:** Las bombas de eflujo son proteínas de membrana encargadas del transporte de metabolitos y compuestos tóxicos desde el interior de las bacterias al exterior. Por medio de este mecanismo, las bacterias pueden expulsar al antibiótico, reduciendo la concentración del antibiótico dentro de la bacteria. Este tipo de resistencia es inespecífica y puede afectar a varias familias de antibióticos (quinolonas, aminoglucósidos, macrólidos, betalactámicos) (Treviño y Molina, 2022).

### **Antibióticos**

Los antimicrobianos son moléculas naturales producidas por un organismo vivo (hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos. En particular, los antibióticos, son un grupo de antimicrobianos que ejercen su

acción sobre las bacterias. Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico, que ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función de la bacteria con elevada potencia biológica a bajas concentraciones y mínima toxicidad para las células humanas. El objetivo de la antibioticoterapia es controlar y disminuir el número de microorganismos viables, colaborando con el sistema inmunológico en la eliminación de los mismos (Calvo y Martínez, 2009; Treviño y Molina, 2022).

### ***Clasificación de los antibióticos***

**1) Según el efecto que producen en las bacterias:** (Calvo y Martínez, 2009).

- Antibióticos bactericidas: producen la muerte bacteriana.
- Antibióticos bacteriostáticos: inhiben el crecimiento bacteriano.

**2) Según el espectro de acción,** es decir, las bacterias afectadas por un antibiótico (Calvo y Martínez, 2009).

- Antibióticos de amplio espectro: afecta un amplio tipo de bacterias Gram (+) y Gram (-).
- Antibióticos de espectro reducido: afecta solamente a un grupo de bacterias Gram (+) o Gram (-).

**3) Según el mecanismo de acción del antibiótico** (Figura 21):

- **Inhibición de la síntesis de la pared:** Los betalactámicos constituyen una familia extensa de antibióticos y son los más utilizados en la práctica clínica. Son antibióticos bactericidas y de amplio espectro.

Los betalactámicos inhiben la síntesis de la pared bacteriana. El mecanismo de acción se basa en la inhibición de la última etapa de la síntesis de la pared celular. Estos antibióticos se unen a enzimas conocidas como PLP (proteínas ligadoras de penicilina), necesarias para la síntesis del peptidoglucano e interrumpen la síntesis de la pared celular. Además, activan enzimas líticas (autolisinas) que llevan a la muerte bacteriana (Calvo y Martínez, 2009).

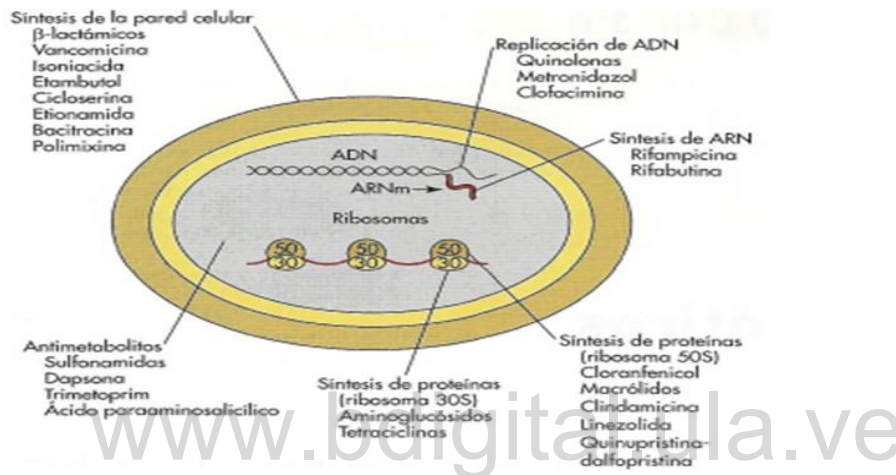
Otro grupo de antibióticos que actúan sobre la pared bacteriana son los Glicopéptidos. Estos antibióticos inhiben la última etapa de síntesis y ensamblado del peptidoglucano de la pared celular y ejercen un efecto bactericida. Además, dañan los protoplastos bacterianos alterando la permeabilidad de la membrana citoplasmática y la síntesis de ARN. Este grupo de antibióticos poseen múltiples mecanismos de acción que contribuyen a la baja frecuencia de resistencia. Los glicopéptidos son de uso restringido para pacientes infectados graves en el ambiente hospitalario (Calvo y Martínez, 2009).

- **Acción sobre la membrana citoplasmática:** Las moléculas de polimixina se difunden a través de la membrana externa y pared celular de células susceptibles hacia la membrana citoplásmica. Estas se unen a la membrana citoplásmica y la alteran y desestabilizan. Esto causa el derrame del citoplasma hacia el exterior de la célula lo que resulta en muerte celular. Los agentes antimicrobianos que interfieren con la membrana citoplasmica son bactericidas (Cavalieri, Harbeck, McCarter, Ortez, Rankin, Sautter y cols., 2005).
- **Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos:** Causada por dos antibióticos, las fluoroquinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina y gemifloxacina) interfieren con la síntesis de ADN bloqueando la enzima ADN girasa. La ADN girasa ayuda a enrollar

y desarrollar el ADN durante la replicación de ADN. La enzima se adhiere al ADN e introduce rupturas dobles en las cadenas que permiten al ADN desenrollarse. Las fluoroquinolonas se unen al complejo ADN girasa-ADN y permiten a las cadenas de ADN rotas liberarse dentro de la célula lo que conduce a la muerte celular. Por otra parte, la rifampicina se une a la ARN polimerasa ADN dependiente lo que bloquea la síntesis de ARN y resulta en la muerte de la célula (Cavaliere y cols., 2005).

- **Inhibición de la síntesis proteica:** Una amplia variedad de antibióticos actúa inhibiendo la síntesis proteica. Esta inhibición es selectiva, gracias a las diferencias estructurales entre los ribosomas bacterianos y eucariotas. Los antibióticos pueden unirse al ribosoma bacteriano, inhibir el inicio de la transcripción, bloquear la unión del ARNt con el ARNm, bloquear la traslocación dentro del ribosoma, para inhibir finalmente la síntesis proteica. Ejemplos de antibióticos que actúan en esta etapa son los aminoglucósidos y los macrólidos. Los aminoglucósidos se unen de forma irreversible a la subunidad 30S del ribosoma, interfiriendo con la lectura correcta del código genético con el consiguiente bloqueo de la síntesis proteica de la bacteria. Los macrólidos se unen a la subunidad 50S del RNA ribosómico (rRNA) en forma reversible. Esto provoca un bloqueo en las reacciones de transpeptidación y traslocación del ribosoma bacteriano (Calvo y Martínez, 2009).
- **Acción sobre el metabolismo:** Para muchos organismos el ácido para-amino benzoico (PABA) es un metabolito esencial y está involucrado en la síntesis de ácido fólico, un importante precursor para la síntesis de ácidos nucleicos. Las sulfonamidas son estructuras análogas del PABA y compiten con el PABA por la enzima dihidropteroato sintetasa. La trimetoprima actúa en la ruta

de síntesis del ácido fólico en un punto posterior al de las sulfonamidas. Este inhibe la enzima dihidrofolato reductasa. La trimetoprima y las sulfonamidas se pueden usar por separado o en conjunto. Cuando se usan en conjunto producen un bloqueo secuencial de la ruta de síntesis del ácido fólico y tienen un efecto sinérgico. Tanto la trimetoprima como las sulfonamidas son bacteriostáticas (Cavalieri y cols., 2005).



**Figura 21.** Clasificación de los antibióticos según su mecanismo de acción. Tomado y modificado de Murray y cols., 2011.

### Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana es la capacidad de matar, destruir, e inactivar microorganismos impidiendo su proliferación y acción patógena. El uso de mezclas y combinaciones de antimicrobianos ofrece un medio poderoso para combatir la propagación de bacterias patógenas resistentes a los antibióticos. La capacidad antibacteriana frente a patógenos viene determinada por la estructura química de los componentes vegetales con dicha actividad (Funke, Case y Tortora, 2007).

Diferentes métodos de laboratorio pueden ser usados para determinar

la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos, pero estos no son igualmente sensibles o no se basan en los mismos principios, permitiendo que los resultados sean influenciados por el método seleccionado, los microorganismos usados y el grado de solubilidad de cada compuesto evaluado (Ramírez y Marín, 2009).

### ***Métodos para determinar actividad antibacteriana***

Los métodos para evaluar la actividad antibacteriana están clasificados, en tres grupos principales: métodos de difusión y métodos de dilución, un tercer método es el análisis conductimétrico, el cual detecta el crecimiento microbiano como un cambio en la conductividad eléctrica o impedancia del medio de cultivo. Las técnicas de difusión han sido ampliamente usadas para evaluar extractos de plantas con actividad. En general se propone usar los métodos de difusión (en papel o en pozo) para estudiar compuestos polares, y los métodos de dilución para sustancias polares y no polares (Funke y cols., 2007).

- **Método de Difusión o Método de Kirby y Bauer.** Es el método más empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico. Comprende lo que se denomina un antibiograma o prueba de susceptibilidad frente a drogas específicas. El método de difusión en agar presenta la ventaja que sus resultados son altamente reproducibles. La técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer y colaboradores, este método de difusión en disco o en pozo fue estandarizado y es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS, de Estados Unidos. El fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas

bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos (Ramírez y Marín, 2009).

En este sentido, el método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia. A continuación, se procede a su incubación a la temperatura adecuada por 24 horas, luego se mide el halo de inhibición y se comparan los efectos de las distintas sustancias sobre el microorganismo estudiado, con el antibiótico control. La lectura de los resultados representa la actividad *in vitro* de la sustancia (Ramírez y Marín, 2009).

- **Método de Dilución.** Es utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibitoria (CMI), la cual es definida como la concentración más baja de sustancia que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de incubar por 24 horas, mientras que la (CMB) es la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento de un organismo después de subcultivar en un medio libre del compuesto evaluado. En la técnica de dilución en caldo, son utilizados tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones crecientes del extracto vegetal. El organismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las microplacas y la CMI es determinada después de la incubación (Ramírez y Marín, 2009).

En el método de dilución en agar, las cajas se siembran por profundidad con una determinada concentración de extracto vegetal, luego se inoculan con el microorganismo en estudio y se incuban por

24 horas, después de ésta, se examina si el microorganismo crece o no en cada una de las cajas, la principal desventaja de este método es la cantidad necesaria de muestra a evaluar. Sin embargo, la ventaja sobre los métodos de difusión radica en un aumento de la sensibilidad para cantidades pequeñas, lo cual es importante cuando se trabaja con productos naturales, además permite diferenciar entre un efecto bactericida o bacteriostático (Ramírez y Marín, 2009).

### **Definición Operacional de Términos**

#### ***Fitoquímica***

Comprende el estudio de metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, los cuales pueden ser fenoles y polifenoles, quinonas, flavonas y flavonoides, taninos, cumarinas, terpenoides y aceites esenciales, alcaloides, lactonas y polipéptidos, glucósidos y saponinas, así como esteroides y xantonas (Prashant, Bimlesh, Mandeep, Gurpreet y Harleen, 2011).

#### ***Solvente***

Se refiere a una sustancia química en la que se disuelve un soluto bien sea, en estado sólido, líquido o gas. Por eso, el solvente es el compuesto presentado en una disolución con mayor cantidad (Rodríguez y Gutiérrez, 2013).

#### ***Metabolismo primario***

Son los procesos químicos que realizan una función principal debido a que participan de manera directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción de las plantas como por ejemplo la fotosíntesis, la respiración, el transporte de solutos, la translocación, la síntesis de proteínas, la asimilación de nutrientes, la diferenciación de tejidos y en general la síntesis de carbohidratos, lípidos y proteínas (Aválos y Pérez, 2009).

### ***Plantas medicinales***

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos (Oliveira, Velázquez y Bermúdez, 2005).

### ***Sustancias bioactivas***

Son compuestos químicos naturales que se encuentran tanto en animales como en plantas, pueden ejercer una actividad determinada en funciones fisiológicas específicas, lo que implica, sobre todo, una mejora en la prevención de algunas patologías o enfermedades no transmisibles (Gómez, Gómez, Aránzazu y Cifuentes, 2022).

### ***Comportamiento farmacocinético***

Se refiere al cambio de concentración del fármaco mediante su absorción, distribución, metabolismo y excreción. Una forma de representar este cambio de concentración es con una gráfica de concentración de fármaco contra tiempo (Carrillo, Zavaleta, Álvarez, Carrillo y Carrillo, 2013).

### ***Comportamiento farmacodinámico***

Trata del estudio de los efectos farmacológicos del fármaco en su sitio de acción, en el caso de los antibióticos, la relación entre la susceptibilidad del microorganismo y su efectividad para tratar la infección (Carrillo y cols., 2013).

## **Operacionalización de las Variables**

Según Palella y Martins (2012) una variable es un concepto abstracto y por ende no medible. Por esto, la operacionalización es un proceso en el cual

se determinan los indicadores que caracterizan las variables de una investigación. Todo esto con el fin de hacerlas medibles y observables con un grado de precisión y facilidad. Por consiguiente, la operacionalización de las variables queda establecida de la siguiente manera, observada en la tabla 6 y 7 presentada a continuación:

**Tabla 6.** Operacionalización de la Variable Dependiente.

<b>Variable</b>	<b>Tipo de Variable</b>	<b>Definición conceptual ¿Qué es?</b>
Actividad antibacteriana de los extractos de <i>Sapindus saponaria</i>	Dependiente	La actividad antibacteriana es la capacidad de matar, destruir, e inactivar microorganismos impidiendo su proliferación y acción patógena (Funke, Case y Tortora, 2007).
<b>Definición operacional ¿Cómo se mide?</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Indicador</b>
Método de difusión en agar (Kirby-Bauer)	<b>Bacterias Gram positivas</b> <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC <b>Bacterias Gram negativas</b> <i>Escherichia coli</i> ATCC <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC	Tamaño del halo de inhibición de crecimiento microbiano (medición del diámetro de la zona de crecimiento en mm).

**Fuente:** Bastidas, Ferrer y Lara, 2023.

**Tabla 7.** Operacionalización de la Variable Independiente

Variable	Tipo de variable	Definición conceptual ¿Qué es?
Composición química de los extractos de las hojas de <i>Sapindus saponaria</i>	Independiente	Los extractos vegetales son productos obtenidos de distintas partes de la planta: tallos, hojas, flores, corteza, etc. Éstos están compuestos por varias sustancias, de las cuales son los compuestos aromáticos, lo que tienen las propiedades (Herman, Ayepa, Shittu, Fometu, y Wang, 2019)
Definición operacional ¿Cómo se mide?	Dimensiones	Indicador
A través de un tamizaje fitoquímico empleando pruebas químicas cualitativas.	<b>Compuestos químicos:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Alcaloides</li> <li>▪ Saponinas</li> <li>▪ Fenoles</li> <li>▪ Taninos</li> <li>▪ Flavonoides</li> <li>▪ Cumarinas</li> <li>▪ Quinonas</li> <li>▪ Glucosidos</li> <li>▪ Terpenos/ Esteroles</li> <li>▪ Antraquinonas</li> <li>▪ Lactonas sesquiterpénicas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Color</li> <li>▪ Fluorescencia</li> <li>▪ Espuma</li> <li>▪ Precipitado</li> </ul>

**Fuente:** Bastidas, Ferrer y Lara, 2024.

## Hipótesis

Numerosos estudios científicos han demostrado las distintas propiedades beneficiosas que tiene *Sapindus saponaria* para la salud. La especie en estudio ha sido utilizada desde la antigüedad por su amplia actividad biológica asociada a la corteza, hojas, raíz y frutos, por lo tanto es de esperar que el extracto de las hojas de esta planta sea una fuente de metabolitos secundarios que puedan presentar actividad antibacteriana relevante sobre cepas de referencia internacional.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

#### Tipo de investigación

Existen 10 tipos de investigación, tales como: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. El tipo de investigación se define según el objetivo que se persigue (Hurtado, 2012). Por lo tanto, esta investigación es de tipo confirmatoria, ya que desea confirmar la relación entre la actividad antibacteriana y la composición química del extracto obtenido de las hojas de *Sapindus saponaria* en cepas bacterianas de referencia internacional.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

#### Diseño de la Investigación

Hace referencia a los métodos o técnicas que serán utilizadas por el investigador de manera razonable, con el fin de manejar eficientemente el problema de la investigación. Tales estrategias están representadas por el dónde, cuándo y la amplitud de la información que se quiere recolectar. Específicamente, el dónde es mixto por contener un diseño de campo (al recolectar los datos en un ambiente natural) y de laboratorio (al procesar la muestra en el laboratorio del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes). Respecto al cuándo, el diseño es contemporáneo y transeccional, ya que, la información se recolecta en el presente y una sola vez. Y por último la amplitud de la información es bivariable; debido a que hay una variable dependiente y otra independiente.

## **Población y Muestra**

### ***Unidad de Investigación***

La unidad de estudio de esta investigación estuvo representada por la especie *Sapindus saponaria*., ubicada en los alrededores del cementerio Municipal de Lagunillas, Municipio Sucre, estado Mérida.

### ***Selección del Tamaño de la Muestra***

La muestra en esta investigación estuvo representada por las hojas de la especie vegetal *Sapindus saponaria*, que pertenece a la familia Sapindaceae.

## **Sistema de Variables**

Las variables de esta investigación están representadas por:

- Variable dependiente: Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria*
- Variable independiente: Composición química de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria*.

## **Instrumento de Recolección de Datos**

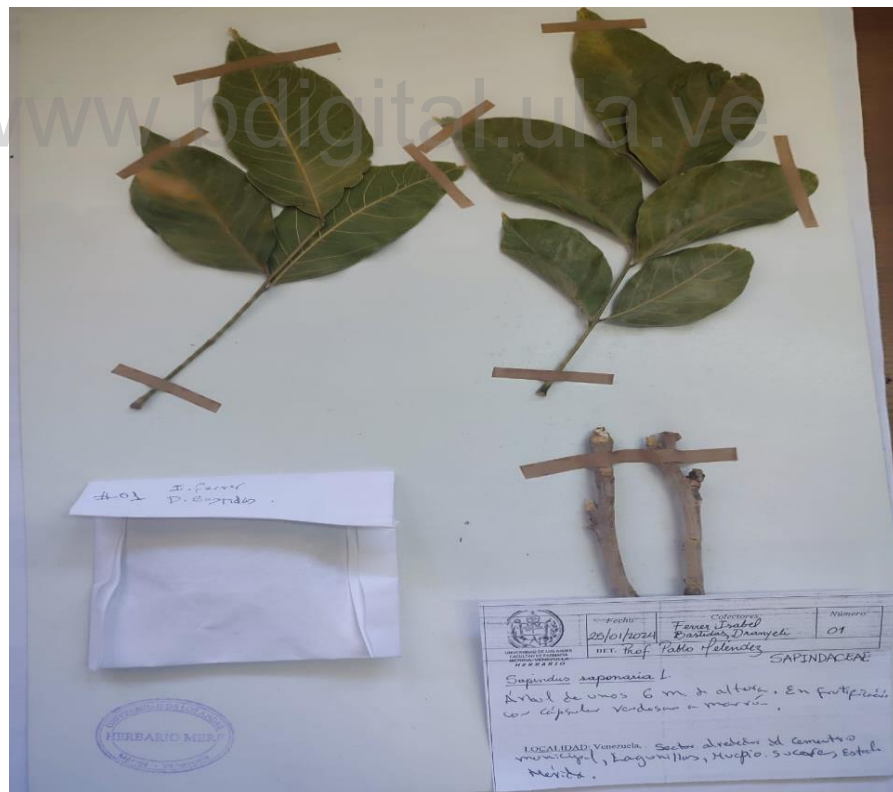
En este proyecto de investigación se utilizaron tablas y fotos para registrar la presencia o ausencia de los diferentes compuestos de los extractos de la planta, a través de reacciones químicas cualitativas, de igual manera, se registró la sensibilidad o resistencia en las cepas de referencia internacional, frente a la concentración de los extractos obtenidos de *Sapindus saponaria*, mediante la medición de los halos de inhibición.

## Procedimientos de la Investigación

### *Recolección e Identificación de la Muestra*

La muestra fue recolectada en los alrededores del Cementerio Municipal de Lagunillas, Municipio Sucre, estado Mérida. Las hojas se retiraron de la copa del árbol a una altura no mayor de 2 metros sobre el nivel del suelo. Se recolectaron 431 gramos, los cuales se colocaron en la estufa a 40 °C hasta completar sequedad (10 días).

La especie fue identificada por el profesor Pablo Meléndez y el ejemplar comprobante (Voucher N° 01) fue depositado en el Herbario de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes (Figura 22).

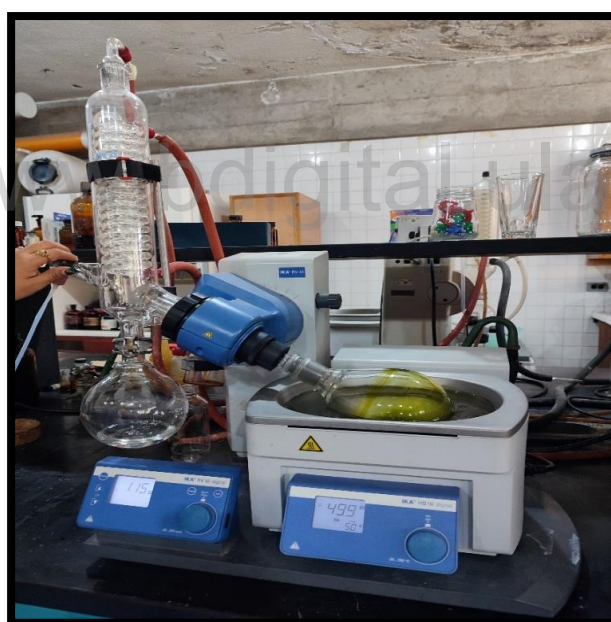


**Figura 22:** Comprobante de identificación de la especie *Sapindus saponaria*

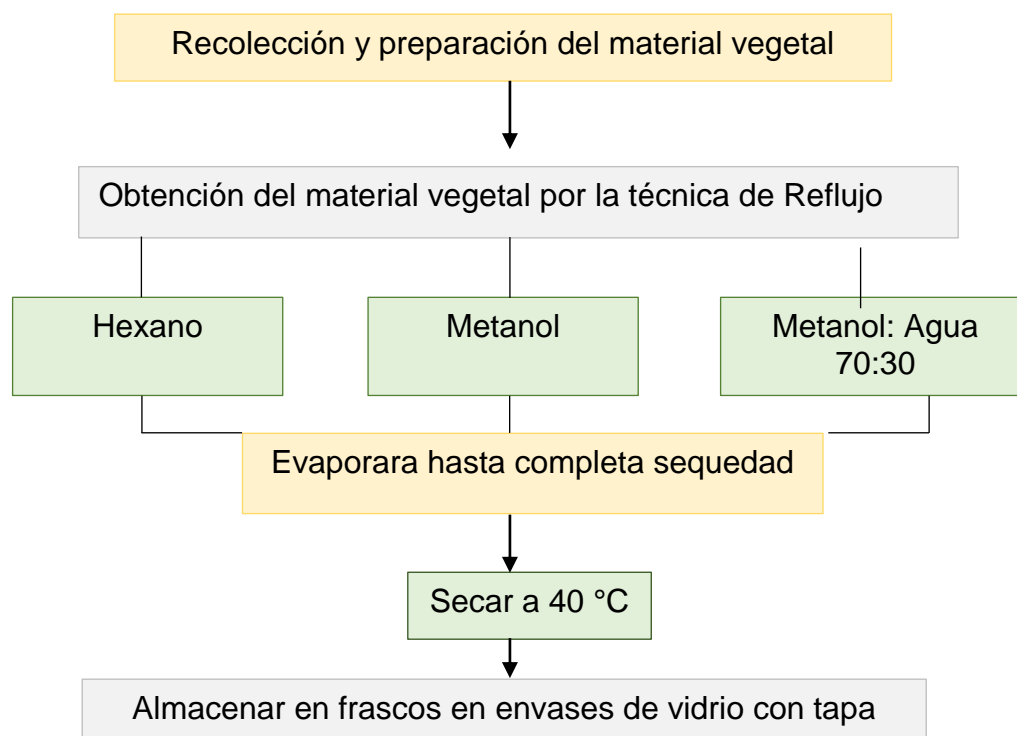
### ***Obtención de los Extractos***

La obtención de los extractos fue realizada en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (IIFFB) bajo la asesoría de la Profesora Rosa Aparicio.

El material vegetal seco (231 g), fue molido utilizando un equipo especial de carpintería, luego se tomaron 100 g de la molienda de hojas para realizar un proceso de extracción mediante la técnica de reflujo, empleando como solvente hexano (500 mL), lo cual tardo aproximadamente hora y media, pasado este tiempo se filtró utilizando un embudo, papel filtro y un matraz aforado, el extracto obtenido se llevó a un rotavapor, para evaporar el solvente (hexano), por 10 minutos, obteniéndose así el primer extracto. Lo que quedo del filtrado se usó para la segunda extracción por reflujo pero en este caso agregando metanol (500 mL) como solvente. Finalmente se realizó la tercera extracción aplicando la misma técnica y la misma cantidad de muestra, utilizando dos solventes: metanol y agua, en una proporción 70:30 (800 mL de metanol y 340 mL de agua). En ambos casos el solvente se filtró y evaporó hasta completa sequedad en un rotavapor para obtener los correspondientes extractos (Figura 23). Los cuales se llevaron a secar a la estufa a 40 °C almacenados en envases de vidrio con tapa para su posterior análisis (ver Esquema 3).



**Figura 23:** Proceso de extracción. **Fuente:** Elaboración propia



**Esquema 3.** Proceso para la obtención de extractos a partir del material vegetal. **Fuente:** Elaboración propia.

### ***Tamizaje Fitoquímico***

Para la identificación de metabolitos secundarios de manera cualitativa en los 3 extractos obtenidos de las hojas de *Sapindus saponaria*, se llevó a cabo una serie de pruebas químicas para lograr la identificación de los mismos. Entre estas pruebas se encuentran:

#### **Detección de alcaloides**

Los extractos se disolvieron individualmente en ácido clorhídrico (10 %) diluido (HCl), se calentaron en baño de maría, y se filtraron. Luego se trataron de la siguiente manera: cada filtrado se dividió en tres tubos de ensayo al primer tubo se le adicionó de cinco a diez gotas del reactivo de Wagner, al segundo tubo de cinco a diez gotas del reactivo de Mayer y al

último tubo de cinco a diez gotas del reactivo de Dragendorff. La formación de precipitado color crema en Wagner y un precipitado anaranjado y café rojizo en la prueba de Dragendorff y Mayer, respectivamente, indican la presencia de alcaloides en el extracto vegetal (Guerra, Gómez, Castillo, Toloza, Sánchez, Avalos y cols., 2018).

#### **Detección de esteroides y triterpenos:**

Prueba de Liebermann-Burchard: Los extractos se disolvieron en 1mL de cloroformo. Se adicionó 1mL de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo se dejó correr 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio de coloración. El color verde o azul indica la presencia de esteroides y el rosa a morado indica la presencia de terpenos y triterpenos (Bermejo, Pereira, Cintra, Mirta y Morales, 2014).

#### **Detección de saponinas**

Prueba de Espuma: En cada tubo de ensayo se colocó una porción de cada extracto con 2 mL de agua y se agitó fuertemente durante 5-10 minutos. La presencia de saponinas se confirma por la formación de espuma persistente durante 2 minutos (Bermejo y cols., 2014).

#### **Detección de fenoles**

Prueba de Cloruro Férrico: A los 3 extractos se le adicionaron 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 10% en solución salina fisiológica, el desarrollo de una coloración rojo-vino, indica la presencia de compuestos fenólicos en general (Bermejo y cols., 2014).

#### **Detección de taninos**

Prueba de Gelatina: Se añadieron a los extractos una solución de gelatina al 1 % que contiene cloruro de sodio (NaCl), solo a los tubos que den positivo para compuestos fenólicos. La presencia de taninos se confirma por la

formación de un precipitado blanco o la ruptura de la gelatina (García, Cruz, Alarcón, Nieto y Gallegos, 2019).

#### **Detección de flavonoides:**

Prueba de Shinoda: Implicó la disolución de aproximadamente 1 g de cada extracto, se utilizó como disolvente metanol (2 mL), seguido de la adición de virutas de magnesio (Mg) y de 3-5 gotas de ácido clorhídrico concentrado por las paredes del tubo. Dicho proceso se realizó de la misma manera para los diferentes extractos. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo, intensos en todos los casos (Guerra y cols., 2018).

Prueba de Reactivo Alcalino NaOH 10 % (confirmatoria): Una pequeña porción de los extractos fueron tratados con unas gotas de solución diluida de hidróxido de sodio (NaOH 10 %). La formación de un color amarillo intenso a rojo, confirma la presencia de flavonoides (García y cols., 2019).

#### **Detección de quinonas y antraquinonas:**

Prueba de Ácido Sulfúrico: se disolvieron 500 mg de cada uno de los extractos en agua destilada y metanol y se le adicionó 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. La formación de color rojo indica la presencia de quinonas (García y cols., 2019).

Prueba de Hidróxido de Amonio: En un tubo de ensayo se colocaron pequeñas porciones de los extractos con 10 gotas del hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH). La presencia de un color rojo es indicativa de antraquinonas (Rodríguez, Hernández y Méndez, 2020).

#### **Detección de glucósidos cardiotónicos:**

Prueba de Keller-Kilani: Se disolvieron 200 mg de los extractos en 1 mL de agua destilada, se agregaron 2 mL de ácido acético glacial y posteriormente se adicionaron algunas gotas de cloruro férrico al 5 %. Las

soluciones se vertieron en tubos de ensayo con 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. La formación de un anillo marrón en la interfaz indica la presencia de glucósidos cardiotónicos, al igual que la formación de un anillo violeta debajo del anillo marrón o bien en la fase de ácido acético, un anillo verdoso también puede formarse gradualmente, indicando la presencia de estos compuestos (García y cols., 2019).

#### **Detección de cumarinas:**

Prueba de Fluorescencia ( $\text{NH}_4\text{OH}$  concentrado): Se colocó alrededor de 1 g de cada extracto en un tubo de ensayo y se diluyó con metanol, para agregarle 10 gotas de hidróxido de amonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) concentrado. Dicho proceso se realizó de la misma manera para los diferentes extractos. La fluorescencia azul-violeta intensa bajo la luz ultravioleta indica la presencia de cumarinas (Rodríguez y cols., 2020).

#### **Detección de lactonas sesquiterpénicas:**

Prueba de Baljet: 500 mg de cada uno de los extractos se diluyeron en agua destilada en un tubo de ensayo, luego se adicionó de 3 a 4 gotas del reactivo de Baljet, un cambio de coloración de naranja a rojo demuestra la presencia de lactonas sesquiterpénicas (García y cols., 2019).

#### ***Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* (jaboncillo) por el método de difusión en agar con disco (Kirby- Bauer)***

La determinación de la actividad antibacteriana se realizó siguiendo el procedimiento del ensayo de difusión en agar descrito por Sierra, Romero y Orduz en el 2012, bajo la asesoría de las Profesoras Yndra Cordero e Ysbelia Obregón, y el auxiliar de Laboratorio TSU. José Emilio Salazar, en el Laboratorio de Actinomicetos, adscrito al IIFFB.

### **Bacterias Estudiadas**

Para este estudio se seleccionaron cinco especies de bacterias: dos especies Gram positivas y tres Gram negativas, de referencia internacional de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC por sus siglas en inglés), las cuales fueron obtenidas del cepario del Laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes (ULA), a cargo de la Licenciada Yacneli Infante (Tabla 8).

**Tabla 8.** Cepas de referencia internacional

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

**Fuente:** Elaborado por Bastidas, Ferrer y Lara, 2024.

El orden en el que se llevó a cabo el procedimiento para la determinación de la actividad antibacteriana fue el siguiente:

### **Preparación de las muestras**

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

### ***Preparación de los discos***

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

### ***Preparación de los Inóculos Bacterianos***

El inóculo bacteriano se preparó con la ayuda de un asa estéril, tomándose de esta manera, una pequeña cantidad de colonias, a partir de un cultivo fresco y purificado de cada cepa bacteriana repicada en agar Müller-Hinton, para luego ser suspendidas en tubos, previamente estériles, que contienen 5 mL de una solución salina fisiológica estéril de Cloruro de Sodio (NaCl) al 0,85 %, hasta que alcance una turbidez equivalente al patrón de Mac Farland N° 0,5 ( $10^{6-8}$  UFC/mL).

### ***Inoculación de las Placas y Determinación de la Actividad Antibacteriana***

Se realizó la inoculación de las placas de agar Müller-Hinton, tomando un inóculo de cada bacteria con un hisopo estéril impregnado por la placa, rotando la misma sin dejar ningún espacio libre, hasta lograr una siembra uniforme, se dejó secar. Posteriormente se colocaron en forma equidistante los discos de papel, los cuales fueron impregnados con 10 µL de la solución en estudio, adicionalmente se colocaron también los discos de los respectivos controles tanto positivo (Ampicilina®, Eritromicina® y Piperacilina®) como negativo (dimetilsulfóxido). Estas se dejaron en la nevera a 4 °C

aproximadamente durante 30 minutos (pre-incubación), con la finalidad de que los discos impregnados con las diferentes muestras difundan a través del agar, para luego llevarlas a la estufa durante 24 horas a 37 °C en posición invertida, en atmosfera aeróbica.

### ***Lectura de las Placas***

Luego de ser incubadas cada una de las placas, por un lapso de tiempo de 24 horas, se realizó la lectura de las mismas con una regla milimétrica. Donde se consideró un resultado positivo o sensible (presencia de actividad antibacteriana) cuando se observó un halo de inhibición alrededor del disco, y se tomó como resultado negativo o resistente (sin actividad antibacteriana) la ausencia de dicho halo. El diámetro de la zona de inhibición producto de la actividad antibacteriana de las muestras en estudio se expresó en milímetros (mm).

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

### **Diseño de análisis**

Los datos recolectados durante la fase interactiva de la investigación fueron analizados a través del enfoque cualicuantitativo. Tal como lo refieren Palella y Martins (2012), el enfoque cuantitativo se refiere al tipo de datos que puede ser medido numéricamente, en el presente estudio viene dado por la actividad antibacteriana, debido a la medición de los halos de inhibición. Por otro lado, el enfoque cualitativo se basa en métodos de recolección de datos sin medición numérica, sin conteo, utiliza las descripciones y observaciones, este enfoque está dado por el ensayo fitoquímico y sus diferentes pruebas. El universo de esta investigación fueron las plantas. A su vez, la población de estudio fue la especie *Sapindus saponaria*, la muestra estuvo representada por las hojas de la especie a estudiar.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### Resultados

Los extractos obtenidos de las hojas de *Sapindus saponaria* con los solventes de distinta polaridad (hexano, metanol y agua) mediante el método de reflujo presentaron las siguientes características físicas (Tabla 9).

**Tabla 9.** Características físicas de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria*

Características	Extractos de las hojas		
	Hexano	Metanol	Metanol/Agua
Aspecto	Sólido	Sólido	Sólido
Color	Verde	Verde	Verde
Olor	Característico	Característico	Característico
Peso del material seco	100 g	100 g	100 g
Peso del extracto	1,15 g	5,69 g	12,55 g
Rendimiento	1,15 %	5,69 %	12,55 %

**Fuente:** Bastidas, Ferrer y Lara, 2024.

#### Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria*

El tamizaje fitoquímico de los extractos obtenidos de las hojas de *Sapindus saponaria* se realizó cualitativamente aplicando reacciones de coloración, precipitación, fluorescencia y formación de espuma que revelaron la presencia de alcaloides, esteroides, compuestos fenólicos, saponinas,

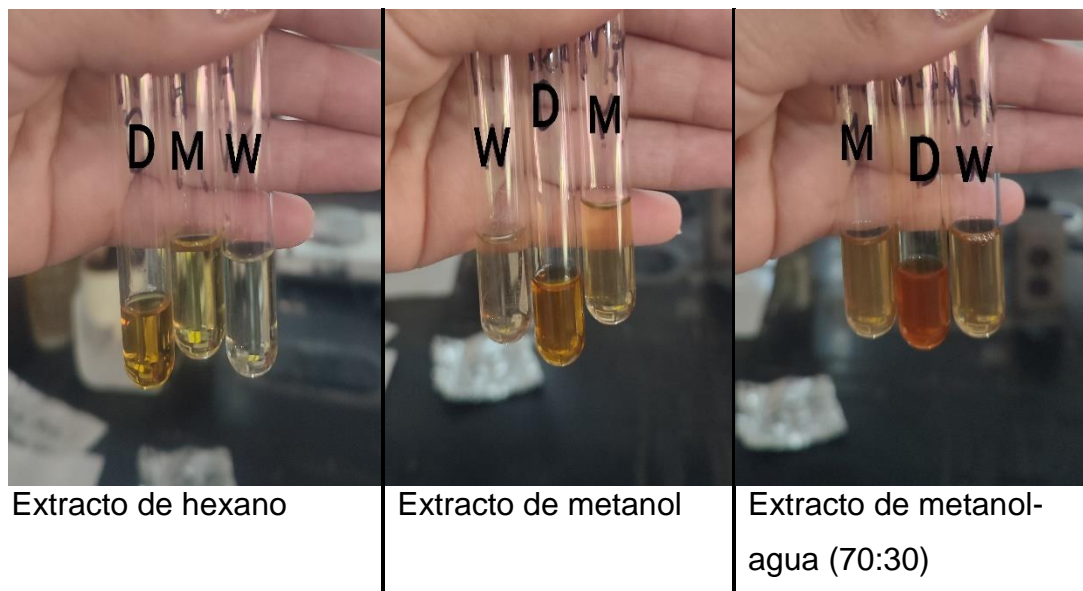
flavonoides y glicósidos cardiotónicos, tal como se muestra en la tabla 10 y figura 24.

**Tabla 10.** Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria*.

Metabolito	Prueba	Indicador	Extractos de las hojas		
			Hexano	Metanol	Metanol/Agua
Alcaloides	Wagner	Precipitado	-	-	-
	Mayer	Precipitado	-	+	+
	Dragendorff	Precipitado	-	+	+
Esteroles y triterpenos	Reacción de Lieberman-Burchard	Color verde	+++	++	-
		Color rosa	-	-	-
Saponinas	Reacción de Espuma	Espuma	-	-	+
Fenoles	Reacción con Cloruro férrico 10 %	Color negro azulado	-	+++	+++
Taninos	Reacción de Gelatina 1 %	Precipitado	-	-	-
Flavonoides	Reacción de Shinoda	Color naranja	-	-	+
	Reactivo alcalino NaOH 10 %	Color amarillo intenso o rojo	-	-	+
Quinonas	Reacción con Ácido Sulfúrico	Color rojo	-	-	-
Antraquinonas	Reacción con Hidróxido de amonio	Color rojo	-	-	-
Glucósidos cardiotónicos	Reacción de Keller-Kilan	Anillo Marrón	-	++	++
Cumarinas	Reacción de Fluorescencia NH <sub>4</sub> OH[ ]	Fluorescencia azul-violeta	-	-	-
Lactonas sesquiterpénicas	Reacción con Hidróxido de sodio	Coloración amarilla que desaparece al acidular	-	-	-
<b>Leyenda:</b> +++ Muy abundante; ++ Abundante; + Poco abundante; - Negativo					

**Fuente:** Bastidas, Ferrer y Lara, 2024.

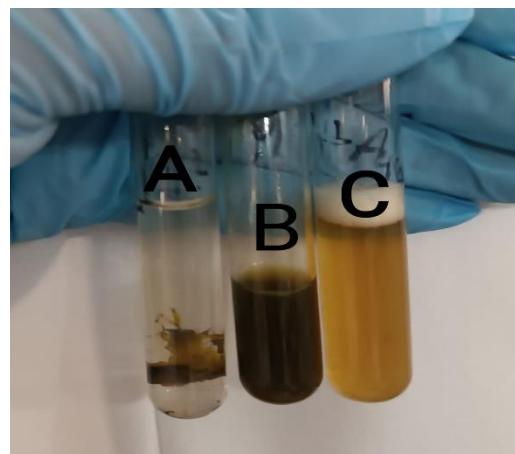
### Alcaloides



D: Dragendorff; M: Mayer; W: Wagner

**Esteroles y triterpenos** (Reacción de Lieberman-Burchard)

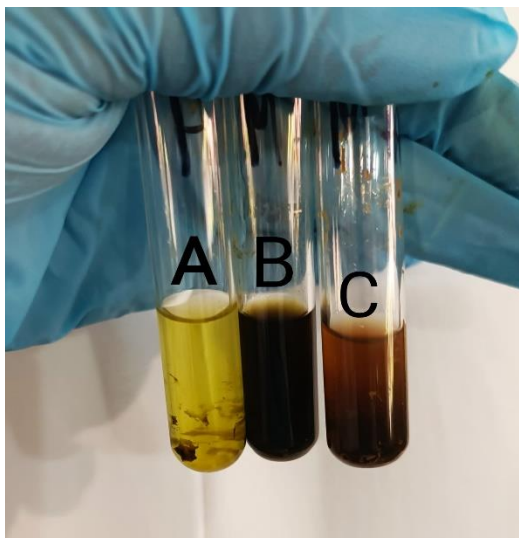
**Saponinas** (Reacción de Espuma)



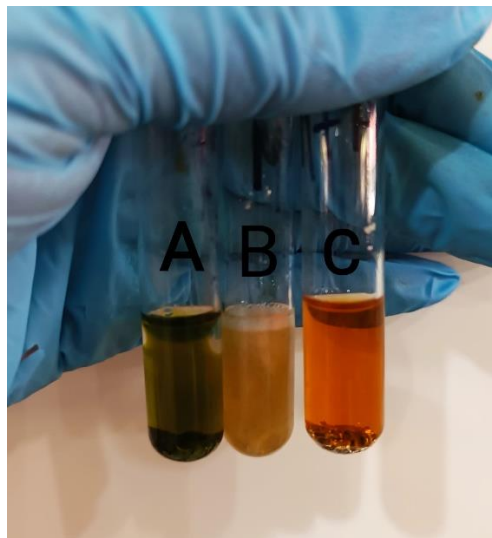
**A:** Extracto de Hexano; **B:** Extracto de Metanol; **C:** Extracto de Metanol-Agua (70:30).

**Figura 24.** Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria*.

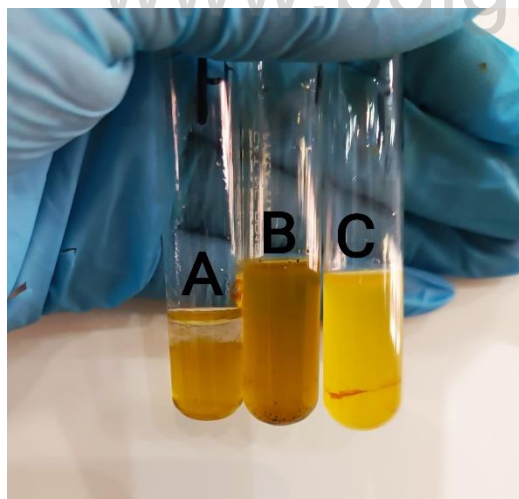
**Fenoles** (Reacción con Cloruro  
Férrico 10 %)



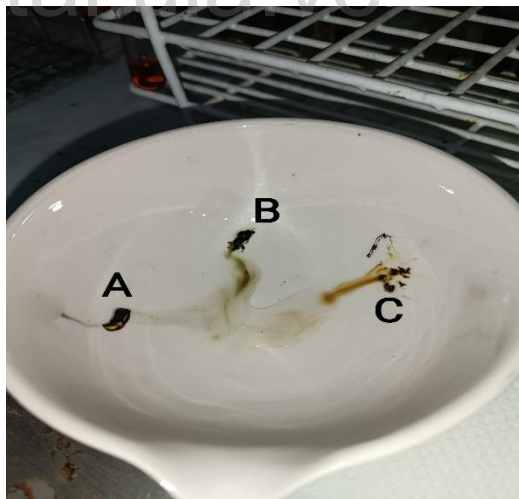
**Flavonoides** (Reacción de Shinoda)



**Flavonoides** (Prueba de Reactivo  
Alcalino NaOH 10 %) Confirmatoria

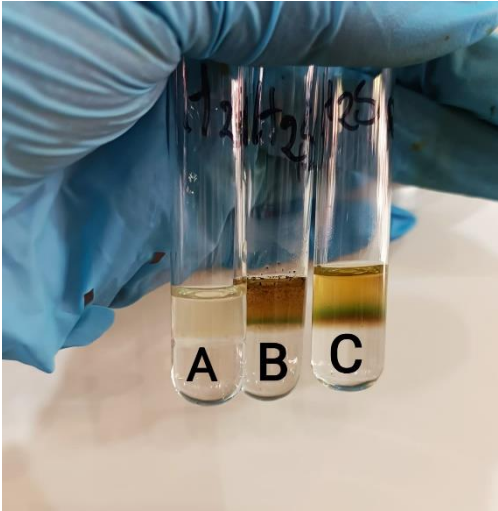
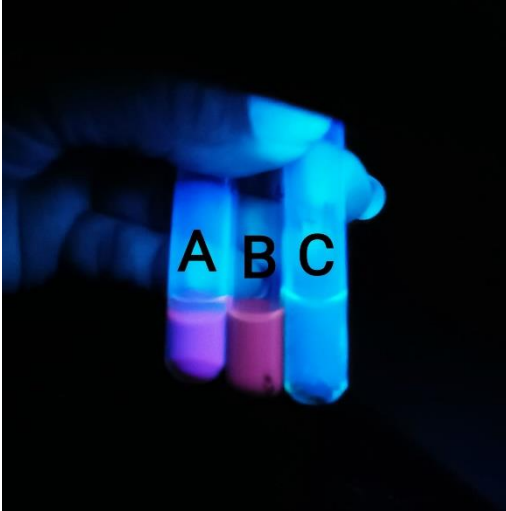


**Quinonas** (Reacción con Ácido  
Sulfúrico)

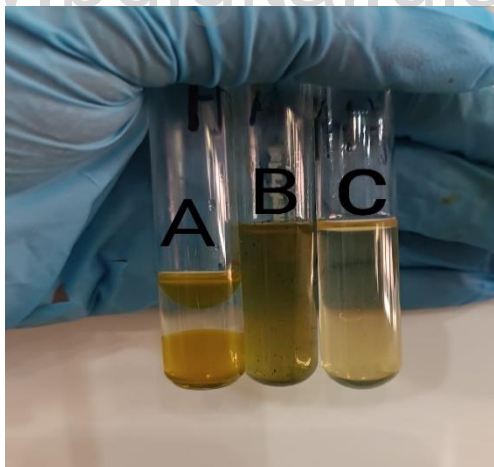


**A:** Extracto de Hexano; **B:** Extracto de Metanol; **C:** Extracto de Metanol-  
Agua (70:30)

**Figura 24.** Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *Sapindus  
saponaria* (Continuación).

Glucósidos cardiotónicos (Reacción de Keller-Kilani)	Cumarinas
	(Reacción de Fluorescencia NH <sub>4</sub> OH[ ])
	

**Lactonas sesquiterpénicas**  
(Reacción con Hidróxido de Sodio)



**A:** Extracto de Hexano; **B:** Extracto de Metanol; **C:** Extracto de Metanol-Agua (70:30)

**Figura 24.** Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* (Continuación).

### **Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria***

La determinación de la actividad antibacteriana de los extractos (hexano, metanol y metanol:agua) de las hojas de *Sapindus saponaria* se llevó a cabo a través del método de difusión en agar con discos (Kirby-Bauer) descrita por Sierra, Romero y Orduz en el 2012, frente cepas de referencia internacional, utilizando agar Müller-Hinton siguiendo los procedimientos descritos previamente.

Los extractos de hexano y metanol:agua (70:30) de las hojas de *Sapindus saponaria* a una concentración de 10 mg/mL mostraron actividad antibacteriana frente a *E. coli* (7 mm), además el primero presentó actividad frente a *E. faecalis* (8 mm). Por otro lado los extractos de metanol y metanol:agua mostraron actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa* (7 mm para los dos) pero no hubo actividad frente a *S. aureus* y *K. pneumoniae*. Estos resultados se resumen en la tabla 11 y figura 25.

**Tabla 11.** Resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria*

Halo de inhibición (mm*)							
Microorganismos	Extractos (10 mg/mL)			Antibióticos (Controles positivos)			Solvente
	SSHHe	SSHMe	SSHMeAg	ERI	AMP	PIP	DMSO
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	32*	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	8*	-	-	-	32*	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	7*	7*	-	-	27*	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	-	-	-	-	-	27*	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7*	-	7*	-	-	27*	-

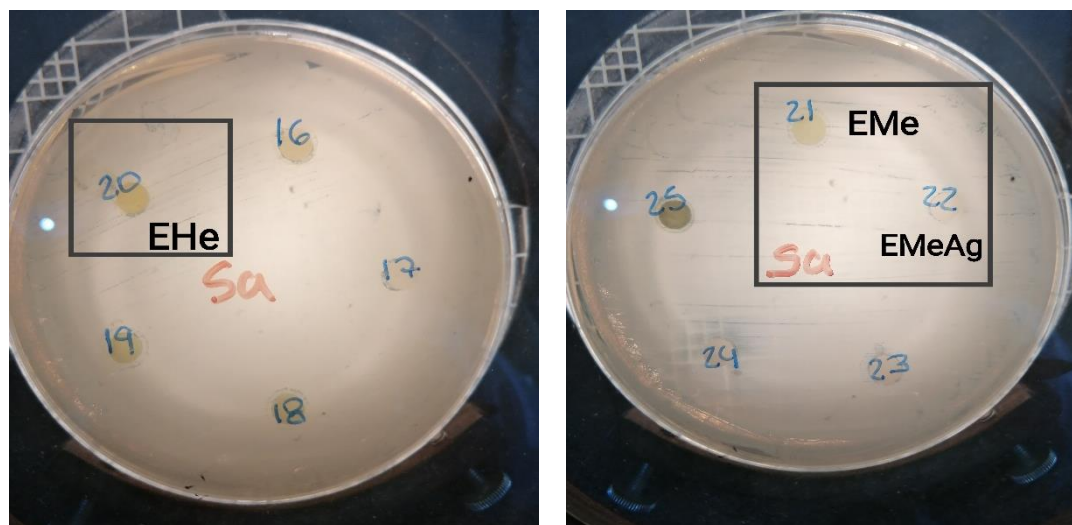
Leyenda: **mm\***: Milímetros. **SSHHe**: *Sapindus saponaria*. Hojas Hexano. **SSHMe**: *Sapindus saponaria*. Hojas Metanol. **SSHMeAg**: *Sapindus saponaria*. Hojas Metanol Agua. **ERI**: Eritromicina® 15 µg; **AMP**: Ampicilina® 10 µg; **PIP**: Piperacilina® 100 µg; **DMSO**: Dimetilsulfóxido.

**Fuente:** Bastidas, Ferrer y Lara, 2024.

**Cepas bacterianas**

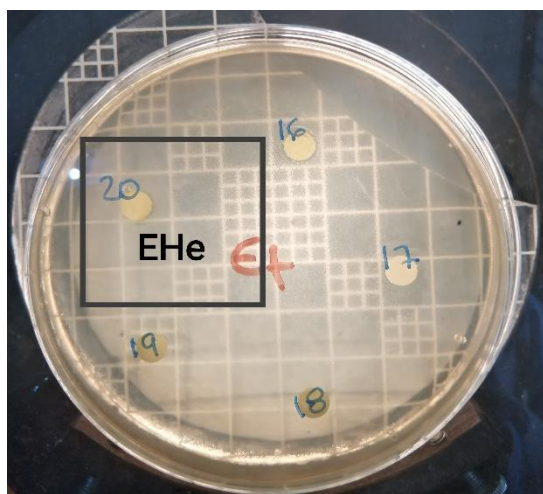
**Gram positivas**

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923



www.bdigital.ula.ve

*Enterococcus faecalis* ATCC 29212



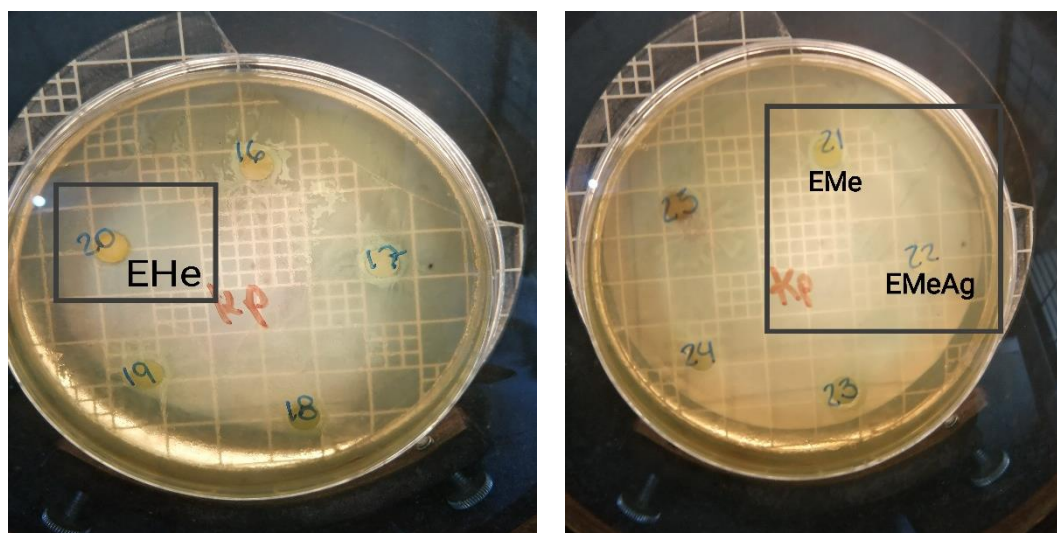
**EHe:** Extracto de Hexano; **EMe:** Extracto de Metanol; **EMeAg:** Extracto de Metanol-Agua (70:30)

**Figura 25.** Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* frente a cepas de referencia internacional.

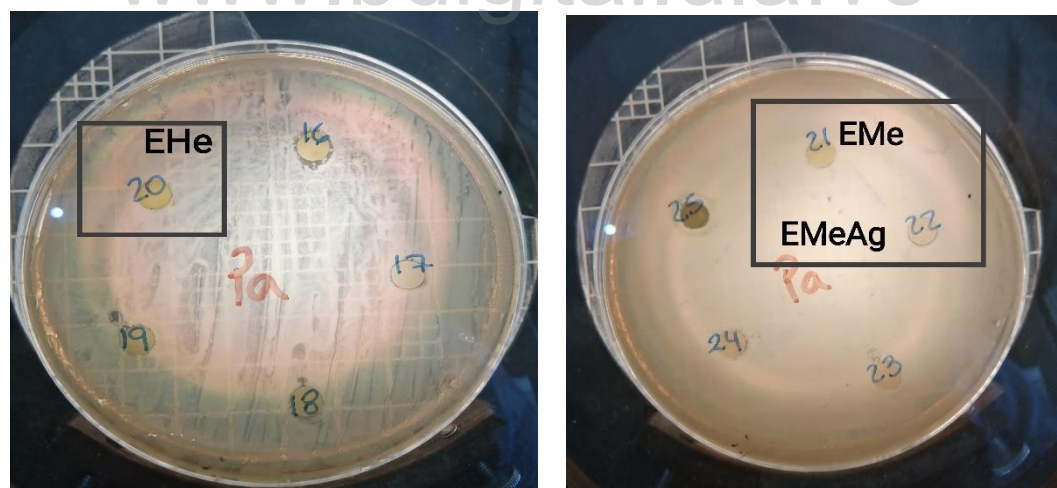
**Cepas bacterianas**

Gram negativas

*Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357



*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



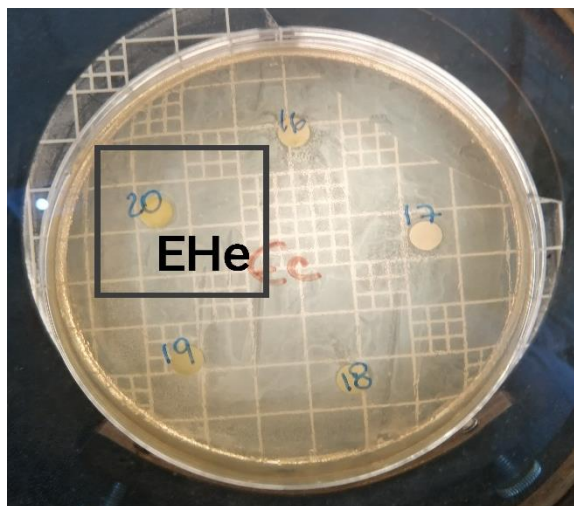
**EHe:** Extracto de Hexano; **EMe:** Extracto de Metanol; **EMeAg:** Extracto de Metanol-Agua (70:30)

**Figura 25.** Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* frente a cepas de referencia internacional (Continuación).

## Cepas bacterianas

Gram negativas

*Escherichia coli* ATCC 25922



**EHe:** Extracto de Hexano; **EMe:** Extracto de Metanol; **EMeAg:** Extracto de Metanol-Agua (70:30).

**Figura 25.** Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* frente a cepas de referencia internacional (Continuación).

## Discusión

Las especies de la familia Sapindaceae son conocidas por sus usos medicinales tradicionales. Las investigaciones químicas de la especie *S. saponaria* perteneciente a esta familia han llevado al aislamiento de saponinas, diterpenos, flavonoides, alcaloides, fenoles, entre otros metabolitos secundarios, que le confieren a la planta sus actividades biológicas. (Grisi, Prim, Soares, Anese, Franco, Nogueira, y cols., 2014), ya que posee varios fitoconstituyentes entre los que destacan las saponinas triterpénicas en diferentes zonas de la planta (Calla, 2022), sin embargo

también posee saponinas de tipo esteroidales, las cuales son las que pueden estar presentes en los extractos obtenidos.

Mediante las pruebas de tamizaje fitoquímico realizadas en la presente investigación se confirmó la presencia de alcaloides, esteroides, compuestos fenólicos, saponinas, flavonoides y glicósidos cardiotónicos, estos resultados son comparados con los obtenidos por Pujol, Tamargo, Salas, Calzadilla, Acevedo y Sierra, en el 2020, quienes obtuvieron por maceración extractos con solventes de distinta polaridad (éter dietílico, etanol y agua) en frutos, la corteza del tallo y las hojas de *Sapindus saponaria* cuyos resultados presentan similitud en la composición química en cuanto a la presencia de alcaloides, saponinas, compuestos fenólicos y flavonoides, además no se detectaron agrupamientos lactónicos, catequinas, triterpenos quinonas, benzoquinonas ni resinas en las hojas de la planta.

En el año 2014, Grisi y cols., por maceración obtuvieron los extractos de las hojas de esta planta utilizando hexano como solvente, la composición química presenta semejanza con el actual estudio debido a la presencia de solamente de flavonoides y esteroides. Así mismo se corrobora con el estudio de Anchapaxi en el 2020 quien efectuó el tamizaje fitoquímico en tres extractos utilizando etanol, cloroformo y etanol:agua como solventes, identificando la presencia de los siguientes grupos de productos naturales: alcaloides, flavonoides, saponinas, cardiotónicos, quinonas y esteroides, para los frutos, a diferencia en lo reportado para alcaloides, puesto que en su estudio, no presenta estos compuestos, por lo que cabe destacar que esto puede deberse a las lluvias que pudieron existir en la época de recolección y la altitud del lugar, porque una lluvia continua puede llegar a una pérdida de sustancias hidrosolubles, hecho conocido y aplicado a la producción de alcaloides en las plantas. Algo similar ocurre con los taninos, los cuales no fueron determinados cualitativamente en los tres extractos estudiados, siendo los factores ambientales, tales como estación climática, humedad

ambiental y luminosidad, los que inciden en el contenido de taninos, (Santacoloma y Granados, 2012).

Por otra parte tenemos a Villela (2005), quien evaluó el fruto del árbol de la *Sapindus saponaria* (jaboncillo), identificando las principales familias de metabolitos secundarios a través del tamizaje fitoquímico del extracto con solventes diferentes: etanol, agua obtenidos por maceración y hexano por el método de Soxhlet. Las familias de metabolitos secundarios identificadas a temperatura ambiente en etanol son taninos catéquicos, antocianinas, chalconas, triterpenos/esteroles, saponinas, principios amargos y compuestos fenólicos y flavonoides. Para el extracto acuoso se identificó a temperatura ambiente, taninos catéquicos, alcaloides, compuestos fenólicos, triterpenos/esteroles, saponinas. Y para el extracto hexánico se encontraron solamente triterpenos/esteroles. Por lo que se encuentra una amplia gama de metabolitos en solventes polares, no siendo así para solventes no polares, este hecho se debe a que la gran mayoría de los metabolitos secundarios presentes en las plantas son de naturaleza polar, debido a esto se obtuvieron resultados positivos en la extracción de metanol:agua (70:30). Este estudio permite validar y corroborar los resultados presentes obtenidos al ser similares, a pesar de haberse empleado una parte diferente de la planta (frutos).

Conforme a lo descrito previamente, las plantas se consideran una de las principales fuentes de compuestos biológicamente activos. El potencial de las plantas o de sus extractos para proporcionar productos nuevos y novedosos para el tratamiento y la prevención de enfermedades es enorme (Rashed, Sirit, Glamollija, Calhelha, Ferreira y Sokovit, 2013). Estudios anteriores señalan que las saponinas tienen efecto sobre varios microorganismos incluso actualmente se está evaluando su capacidad antiviral (Calla, 2022).

Con respecto a la actividad antibacteriana los tres extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* (hexano, metanol, metanol:agua), fueron evaluados

para medir su actividad antibacteriana mediante el método de difusión en agar con discos, impregnados con 10 µL de cada extracto para el ensayo antibacteriano a una concentración de 10 mg/mL logrando la inhibición del crecimiento de *E. faecalis* (8 mm con hexano), *P. aeruginosa* (7 mm con metanol y metanol:agua) y *E. coli* (7 mm con hexano y metanol:agua), pero no mostraron actividad frente a *S. aureus* y *K. pneumoniae*, estos resultados se asemejan a los obtenidos por Rashed y Cols., en el 2013, ellos reportaron que el extracto hidrometanólico obtenido de *Sapindus saponaria* llevado una concentración de 10 mg/mL utilizando DMSO como disolvente, mostró actividad antibacteriana frente a cepas de referencia como *P. aeruginosa* y *E. coli* (CMI: 0,6 mg/mL)

Por otro lado Amaya y Gutiérrez (2004), evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico del fruto de *Sapindus saponaria* (pacún) mediante el método de Kirby Bauer en pozo, para ello prepararon concentraciones al 73,7 %, 60 %, 50 %, 45 %, 30 %, 15 % y al 7.5 % en la evaluación microbiológica de los diferentes extractos etanólicos de la cáscara del fruto (no seco) del Pacún, en *el Staphylococcus aureus* este resultó sensible a partir de la concentración de 45 % obteniéndose mayores halos de inhibición a una concentración de 73.7 % siendo ésta la más efectiva por encontrarse en mayor cantidad los principios activos.

La investigación realizada por Calla en el 2020 , tuvo como objetivo evaluar el efecto de las saponinas del extracto etanólico del fruto de *Sapindus saponaria* L. (choloque), sobre el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aplicando el método de difusión en disco, como resultado no se observó inhibición del crecimiento, no hubo formación de halos al ser sometidos a las pruebas, para ninguna cepa a ninguna concentración del extracto (20 µl al 20%, 40%, 60%), este resultado puede deberse a varios factores, como los discos de papel filtro, ya que ellos retienen las sustancias polares y si la planta posee gran cantidad de compuestos de esta naturaleza estos van a quedar atrapados en el papel sin

poder difundir, es por ello que el extracto con hexano obtuvo el mayor halo de inhibición, otro factor puede ser la composición tan compleja que poseen las saponinas, ya que si pierden su azúcar terminal pueden perder a su vez la actividad antibacteriana que poseen, las condiciones climáticas en las que fue recolectada la muestra también influye, debido a que se pierden los compuestos de la planta por la humedad y la lluvia y por último puede influir el tiempo de incubación de la placa de agar, esto porque metabolitos como las saponinas actúan alterando la permeabilidad de la membrana plasmática de la bacteria, en consecuencia un tiempo de incubación corto no permitiría a este compuesto ejercer su función.

Por el contrario en el 2021 Serrato y Salazar evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Sapindus saponaria* (choloque) frente a *Staphylococcus aureus* para ello sembraron dicha cepa bacteriana en agar AST (Agar Soya Trypticase) y elaboraron 4 pozos en las placas cultivadas con el microorganismo donde se colocaron 30  $\mu$ L de los extractos al 100 %, 50 % y los grupos control negativo y positivo. Los resultados fueron los esperados ya que se observó la formación de un halo de inhibición de 14,52 mm para la concentración de 100 % y de 9,50 mm para la de 50 % respectivamente, lo que significa que el microorganismo fue sensible frente a este extracto, es decir que empleando el método de difusión el pozo los metabolitos secundarios difunden sin problema en el agar y pueden así ejercer mejor su función.

Los resultados acerca de la composición química de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* sugieren que contiene metabolitos que le dan las propiedades biológicas, estos compuestos bioactivos de origen vegetal despiertan gran interés en el campo de la medicina y farmacología, tal como lo indica Abreu en el 2005, el cual demuestra el potencial medicinal del género *Sapindus* L. (Sapindaceae) y de la especie *Sapindus saponaria* L. y sugiere realizar a esta especie otros estudios de actividad biológica informados o no para el género.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### Conclusiones

Los extractos obtenidos de las hojas de *Sapindus saponaria* mediante el método de extracción con Soxhlet mostraron un rendimiento de 1,15 %, 5,69 % y 12,55 % para hexano, metanol y metanol:agua, respectivamente.

En el tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* se confirmó la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, saponinas, flavonoides y glicósidos cardiotónicos para el extracto de metanol:agua, mientras que en el de metanol se determinó solo alcaloides, esteroides y compuestos fenólicos. Por último el de hexano confirmó la presencia de esteroides únicamente.

Los extractos de hexano y metanol:agua de las hojas de *Sapindus saponaria* a una concentración de 10 mg/mL mostraron actividad antibacteriana frente a *E. coli* (7 mm), además el primero presentó actividad frente a *E. faecalis* (8 mm). Por otro lado los extractos de metanol y metanol:agua mostraron actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa* (7 mm para los dos) pero no hubo actividad frente a *S. aureus* y *K. pneumoniae*.

Las hojas de *Sapindus saponaria*, poseen una variedad de metabolitos secundarios que le confieren propiedades antibacterianas a la planta, por lo que se considera una especie vegetal de interés en la industria farmacéutica.

## Recomendaciones

1. Evaluar la actividad antibacteriana de *Sapindus saponaria* frente a otras cepas patógenas.
2. Aplicar diferentes concentraciones de los extractos sobre las cepas bacterianas de referencia internacional con el objetivo de determinar la concentración mínima inhibitoria de los extractos y si al aumentar la concentración se amplía el diámetro del halo de inhibición
3. Evaluar la susceptibilidad de los extractos de las hojas de *Sapindus saponaria* aplicando el método de difusión en pozo.
4. Identificar los metabolitos activos que brindan a la planta la actividad antibacteriana mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.
5. Evaluar otras actividades biológicas, como antifúngica, antiparasitaria, antiinflamatoria, citotóxica, antioxidante y anticancerígena.
6. Estudiar otras partes de la planta como los frutos y tallos.

## REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Abreu, O. (2005). Potencial medicinal del género *Sapindus saponaria*L. (Sapindaceae) y de la especie *Sapindus saponaria* L. *Revista Cubana Plant MED.* (10):3-4.
- Aguado, J., Calles, J., Cañizares, P., López, B., Santos, A., Serrano, D., y Rodríguez, F. (2010). *Ingeniería de la Industria Alimentaria. Volumen II.* España: Editorial Síntesis.
- Aguilar, C. (2017). Reemergencia de las enfermedades tropicales endemoepidémicas: Un reto para la salud pública en la Venezuela del siglo XXI. *Revista Salus.UC.* 21(2):3-4.
- Almeyda, A. (2017). *Estudio de la acumulación de ácido betulínico y urechitol a durante el desarrollo de Pentalinon andrieuxii y su relación con la metilación del ADN.* [Trabajo de postgrado. Centro de Investigación Científica de Yucatán-México].
- Alzamora, L., Morales, L., Armas, L., y Fernández, G. (2001). Medicina tradicional en el Perú: actividad antimicrobiana *in vitro* de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. *Revista Peruana Biología* (62):156-61.
- Amaya, C., y Gutiérrez, N. (2021). *Evaluación de la actividad antimicrobiana y antifúngica del extracto etanólico del fruto de Sapindus saponaria (Pacún).* [Trabajo de grado. El Salvador: Universidad del Salvador Facultad de Química y Farmacia].
- Anchapaxi, R. (2020). Actividad antiinflamatoria de las saponinas presentes en el pericarpio de frutos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo) de tres localidades de la Sierra. [Trabajo de grado. Quito. Facultad de ciencias Químicas De Ecuador].
- Avalos, A., y Pérez, E. (2009). *Metabolismo Secundario de Plantas.* En D. d. Complutense (Ed.). Madrid, España: Reduca (Biología). Serie

## Fisiología Vegetal.

- Bermejo, A., Pereira, S., Cintra, J., Mirta, L., y Morales, G. (2014). Determinación de parámetros químico- físico de las tinturas al 20% obtenidas de las hojas, tallos y frutos de *Melia azedarach* L (Pursiana). *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 13(5): 670-680.
- Bonilla, P., Arroyo, J., y Chávez, J. (2007). Estudio fitoquímico y efecto antiulceroso del extracto acuoso de hojas *Vallea stipularis* L.f. “chuillur” en ratas. *Revista Académica Perú Salud*. 14:102-7.
- Brenner, D., Krieg, N., Staley, J., y Garrity, G. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2. Nueva York, Springer Verlag.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales*. Acribia: España.
- Calderón, G., y Rzedowski, J. (2006). Sapindaceae. *Flora del bajo y de regiones adyacentes*. 142: 1-67
- Calla, M. (2022). *Efecto in vitro de saponinas de Sapindus saponaria L. (choloque) sobre el crecimiento de Candida spp., Staphylococcus aureus y Escherichia coli*. [Tesis de grado. Perú: Universidad Nacional de Cajamarca].
- Calónico, S. (2019). *Flora de Guerrero*. 1ra edición. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias.
- Calvo, J., y Martínez, L. (2009). Mecanismo de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas Microbiológicas Clínicas* 27(1): 44–52.
- Carrillo, E., Zavaleta, R., Álvarez, M, Carrillo, D., y Carrillo, A. (2013). La importancia de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos en la prescripción de antibióticos. *Revista de la Facultad de Medicina*. 56(3): 5-11.
- Carvajal, L., Hata Y., Sierra, N., y Rueda D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Colombia forestal*.12(1): 161-170.

- Cavalieri, S., Harbeck, R., McCarter, Y., Ortez, J., Rankin, I., Sautter, R., Sharp, S., y Spiegel, C. (2005). Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Departments of Laboratory Medicine and Microbiology University of Washington.
- Coy, C., Parra, J., y Cuca, L. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* Elementos (rutaceae). (4): 32- 39.
- Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press. New York, USA. 1262P.
- Delporte, C. (2010). Farmacognosia, Trabajos prácticos. Departamento de farmacología y toxicología. *Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas*. 31.
- Díaz, A., Avendano, M., y Escobar, A. (1993). Evaluation of *Sapindus saponaria* as a defaunating agent and its effects on different ruminal digestion parameters. *Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela*. 5(2).
- Ege, S. (1998). *Química orgánica: estructura y reactividad (Vol. 2)*. Editorial Reverté.
- Ferreira, F., y Olivaro, C. (2015). *Glicósidos vegetales y su importancia en la bioprospección*. Espacio de ciencia y tecnología química.
- Funke, B., Case, C., y Tortora, G. (2007). *Introducción a la microbiología*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires., Argentina: Médica Panamericana.
- García, A., Menicoze, C., Domingos, A., Polonio, J., Dos Santos, J., Dos Santos, A., Correia, H., y Alencar, J. (2023). Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto crudo de la bacteria endofítica *Pseudomonas aeruginosa* (SS93) aislado de *Sapindus saponaria* L. *Acta Scientiarum. Ciencias Biológicas*. 45(1):807-863

- García, R., Cruz, F., Alarcón, F., Nieto, A., y Gallegos, M. (2019). Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos acuosos de *Thalassia testudinum banks ex köning et sims* de la localidad de Champotón, Campeche, México, durante el ciclo anual 2016-2017. *Polibotánica*, 48, 151-168.
- Gómez, U., Gómez, A., Aránzazu, M., y Cifuentes, B. (2022). Compuestos bioactivos de origen vegetal: desarrollo de nuevos alimentos. *Nutrición Hospitalaria*. 39(3): 8-11.
- Gomis, M. (2010). *Introducción a las Operaciones de Separación, Contacto continuo*. Universidad de Alicante. Editorial Espagrafic.
- Góngora, G., Mendoza, J., López, Y., López, M., y Quihui, L. (2023). Métodos de extracción, funcionalidad y bioactividad de saponinas de Yucca: una revisión. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, Biotecnía*. XXV (1): 147-155
- Gonzales, J., Maguiña, C., y Gonzales, F. (2019). La resistencia a los antibióticos: Un problema muy serio. *Acta Medica Peruana*. 36(2): 145 - 51.
- Grisi, P., Forim, R., Soares, E., Anese, S., Franco, M., Nogueira, M., y Juliano, S. (2014). Fitotoxicidad e identificación de metabolitos secundarios de *Sapindus saponaria*. *Revista de Regulación del Crecimiento Vegetal*. 34: 339-349.
- Guerra, R., Gómez, L., Castillo, U., Toloza, G., Sánchez, J., Avalos, N, Núñez, M., Moreno, M. (2018). Efecto analgésico, caracterización fitoquímica y análisis toxicológico del extracto etanólico de hojas de *Pereskia lychnidiflora*. *Revista Peruana Medicina Experimental Salud Pública*. 35(4):581-9.
- Gutiérrez, A., y Estévez, A. (2009). Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el siglo XXI. Madrid: *Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 103(2): 409-419

- Herman, A., Ayepa, E., Shittu, S., Fometu, S., y Wang, J. (2019). Essential oils and their applications-A mini review. *Adv Nutr Food Sci*, 4(4), 1-13.
- Hernández, F. (1986). *Antigüedades de la Nueva España*. Madrid, España: DASTIN.
- Herrera, M., Reveles, L., y Velásquez R. (2016). *Cambios en el metabolismo de los fenilpropanoides en plantas de Chile tipo mirasol infectadas por fitoplasma* [folleto]. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Hurtado, J. (2012). *Metodología de la investigación*. Guía para una comprensión holística de la ciencia. Quirón Ediciones: Colombia.
- Isaza, M. (2007). Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia et Technica*. 13(33).
- Jain, P., y Joshi, H. (2012). Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 02 (06): 236-240.
- Jorgensen, P., y León, Y. (1999). Catalogue of the Vascular Plants of northwest South America. Chicago: The University Press Of Chicago. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 75: i–viii, 1–1182.
- León, W. (2011). Anatomía de la madera de 18 especies de Sapindales en Venezuela. *Revista Forestal Venezolana*. 20(2): 107-139.
- León, W. (2013). Anatomía de la madera de 27 especies de Sapindales en el Estado Barinas (Venezuela). Aspectos taxonómicos. *Revista Forestal Venezolana*. 57(1): 9-27.
- Lock, O. (1988). *"Investigación Fitoquímica" Métodos en el estudio de productos naturales*. Lima-Perú Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
- López, C., Gonzalez, C., Méndez, M., y Palma, F. (2022) Las saponinas y sus usos farmacéuticos. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145 .

- López, Y., Loimig, Y., y Ortega, N. (2022). Educación para el emprendimiento y autocuidado con plantas medicinales en una comunidad vulnerable. *Recimundo*. 6(4): 640-648.
- Macías, V., Álvarez, J., y Suárez, H. (2010). Terpenos con actividad biológica anti-VIH. *Duazary*. 7(2): 257-273.
- Marriott, N., Méndez, M., Espinoza, A., y Martínez, L. (2024). Extracción directa a reflujo o, en Soxhlet y sólido-líquido a temperatura ambiente. Universidad Autónoma de Chiriquí, República de Panamá.
- Martín, D. (2017). Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Área pecuaria*. 9(1): 82-104.
- Martino., y Sulsen, C. (2019). Lactona sesquiterpénicas promisorio grupo de compuestos naturales bioactivos. *Revista Farmacéutica*. 161(1).
- Ministerio del Ambiente Ecuador. (2012). *Ministerio del Ambiente Ecuador; Especies de Bosques Secos Ecuador*. Quito: Ministerio del Ambiente Ecuador MAE.
- Murray, P., Rosenthal, K., y Pfäuer, M. (2011). *Microbiología médica. 5ta edición*. Elsevier. España
- Oliveira, M., Velázquez, D., y Bermúdez, A. (2005). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales, una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Revista de Ciencia y Tecnología de América*, 30, 453-459.
- Organización Mundial de la Salud (OMS, 2023). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 – 2023: Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud.
- Organización Mundial de la Salud (OMS, 2007). Informe del taller interregional de la OMS sobre el uso de medicina tradicional en la atención primaria de salud. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud.

- Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016). Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos. Organización Mundial de la Salud.
- Pallela, S., y Martins, F. (2012). *Metodología de la Investigación Cuantitativa. 3a ed.* Caracas: Editorial FEDUPEL.
- Paredes, F., y Roca, J. (2004). Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. *Ámbito Farmacéutico Farmacología.* 23(3):116-124.
- Pérez, D. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud.* 22(3).
- Pérez, L., y Jimenez, E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Bioteología Vegetal.* 1(4):195 – 211.
- Pittier, H. (1939). *Suplemento a las plantas usuales de Venezuela.* Caracas Venezuela: Editorial Elite
- Polanco, G. (2011). Metabolitos con actividad tripanocida producidos por plantas nativas de la península de Yucatán. . [Tesis de grado. Mexico: Centro de Investigación Científica de Yucatán
- Prashant, T., Bimlesh, K., Mandeep, K., Gurpreet, K., y Harleen, K. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: a Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia.* (1) 1: 98-106.
- Procesosbio. (2012). *Bioteología, Escuela Politécnica del Ejército (ESPE).* Obtenido de Extracción Sólido-Líquido.
- Pujol, A., Tamargo, B., Salas, E., Calzadilla , C., Acevedo, R., y Sierra, G. (2020). Tamizaje fitoquímico de extractos obtenidos de la planta *Sapindus saponaria* L que crece en Cuba. *Bionatura.* 5(3): 1209-1214
- Quevedo, M. (2000). *Cuantificación de sapogeninas esteroidales en muestras de Sapindus saponaria procedentes de cuatro departamentos de Guatemala.* [Tesis de Grado. Guatemala:

Universidad de San Carlos].

- Ramírez, L., y Marín, D. (2009). Metodologías para la evaluación del antibacteriano *in vitro* actividad de compuestos naturales de origen vegetal. *Scientia Et Technica*. 15(42): 263-268.
- Rashed, K., Sirit, A., Glamollija, J., Calhelha, R., Ferreira, I., y Sokovit, M. (2013). Actividad antimicrobiana, inhibición del crecimiento de líneas celulares de tumores humanos y caracterización fitoquímica de el extracto hidrometanólico obtenido de *Sapindus saponaria*L. Partes aérea. *Investigación BioMed Internacional*. 2-7
- Ribeiro, A., Zani, C., De Almedia, T., Martinely, N., Hamburguer, M., y Hostettmann, K. (1995). Molluscicidal Saponins from the Pericarp of *Sapindus saponaria*. *International Journal of Pharmacognosy*. 33(3):177-180.
- Ringuelet, J., y Viña, S. (2013). *Productos naturales vegetales*. 1ra edición. La Plata-Buenos Aires: Universidad Nacional de La Plata.
- Rivas, C., Oranday, M., y Verde, M. (2016). Investigación en plantas de importancia médica. OmniaScience: México.
- Rodríguez H, Gutiérrez L. (2013). *El descubrimiento de la química general*. 2ª ed. Valencia: Editorial Santillana
- Rodríguez, J., Hernández, M., y Méndez, L. (2020). Manual de prácticas de Farmacognosia. Universidad Veracruzana. Facultad de Química Farmacéutica Biológica, México.
- Ruiz, C., Díaz, C., y Rojas, R. (2015). Composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 81(2): 81-94.
- Saglik, I., Gucluer, O., Ozhak, B. (2020). Investigación de los efectos antimicrobianos de *Sapindus mukorossi* sobre patógenos endodónticos. *Revista de Medicina Clínica y Experimental*. 37: 111118

- Sanchez, E., Castillo, S., y Palencia, P. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona-España: OmniaSciense.
- Sánchez, J., y Silva, L. (2008). Estudio silvicultural de la especie *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo) como base para su aprovechamiento silvoindustrial. *Revista Colombia Forestal*. 11:71-81
- Sanchez. M., Gonzales, T., Ayora T., Martinez, Z., y Pacheco, N. (2017). ¿Qué son los microbios? *Ciencia*. 68(2): 11-13.
- Santacoloma, L., y Granados, J. (2012). *Interrelación entre el contenido de metabolitos secundarios de las especies *Gliricidia sepium* y *Tithonia diversifolia* y algunas propiedades físicoquímicas del suelo*. Bogotá: UNAD.
- Serrato, J., y Salazar, A. (2021) *Actividad antibacteriana del extracto alcohólico de *Sapindus saponaria* (Choloque) frente a *staphylococcus aureus**. [Tesis de grado. Huancayo-Perú: Escuela profesional de ciencias farmacéuticas y bioquímica].
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. 1ª ed. Colombia: Editorial CYTED.
- Sierra, I., Romero, M., y Orduz, S. (2012). Determinación de la actividad antimicrobiana e insecticida de extractos producidos por bacterias aisladas de suelo. *Actualidades Biológicas*, 34(96), 5-19.
- Tongnuanchan, P., y Benjakul, S. (2014) Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79, 1231-1249.
- Torres, C. (2004). Investigación en la transformación secundaria de frutos, tubérculos, flores, hojas o tallos de especies pertenecientes a ecosistemas andinos. Informe Técnico. Bogotá DC: Jardín Botánico José Celestino Mutis – Subdirección Científica. 2-14.
- Torres, J., León, J., y Tomas, G. (2017). Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray

- “arrayán” frente a patógenos de origen clínico. *Revista. Social Venezolana. Microbiología.* 37:1
- Treviño, N., y Molina, N. (2022). Material de cátedra correspondiente a la clase: Generalidades de Bacteriología. Material de Cátedra. Microbiología y Parasitología. Lic. En Obstetricia. FCM. UNLP. Pag 1-5
- Valdés, A. (1830). *Historia general de las cosas de la nueva España que en doce libros y dos volúmenes escribió Bernardino de Sahagun.* Oaxaca, México.
- Valdéz, L., Tamargo, B., Olivet, E., Paredes, L., Hernández, Y., González, A., y González, G. (2015). Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria*L (jaboncillo). *Revista Cubana de Plantas Medicinales.* 20(01):028-4796.
- Valencia, E., Mac Donald, D., Cuyos, M., y Dueñas, R. (2005). Extracción, identificación y evaluación de saponinas. *Agaricus bisporus.* 5(32): 31- 36.
- Valverde, O. (1999). *Sapindus saponaria.* *Revista Forestal Centroamericana.* (26): 865-868.
- Vermerris, W., y Nicholson, R. (2006). Compuestos fenólicos y sus efectos en la salud humana. En: *Bioquímica de compuestos fenólicos.* Springer Dordrecht. 235-255
- Villela, C. (2005). Tamizaje fitoquímico del fruto del árbol de la *Sapindus saponaria* (jaboncillo) identificando las principales familias de metabolitos secundarios, en muestras provenientes de Cunen, departamento de Quiche, Guatemala. [Trabajo de grado. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala].
- Von, P. (2007). *Aplicaciones Industriales de los Taninos Vegetales: Productos y Procesos.* 1ra edición. Porto Alegre Brasil: Programa CYTED - Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. EDIPUCRS.

## REFERENCIAS ONLINE

- Formula química de cocaína. Estructura molecular química de la cocaína. Ilustración del vector. Disponible en <https://www.shutterstock.com/es/image-vector/cocaine-chemicalformula-molecular-structure-vector-2104664834>
- Jaboncillo (*Sapindus saponaria*). Disponible en <https://www.botanicalonline.com/productos-naturales/jaboncillo-sapindus-saponaria>
- La química de las cerezas. Disponible en <https://quimicaencasa.com/laquimica-de-las-cerezas/>.
- Sapindus saponaria*. Árbol siempreverde, con corteza color castaño grisácea. Disponible en <https://catalogovallsgarden.com.ar/producto/sapindussaponaria/>