



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



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS DE *Tradescantia zebrina* EN CEPAS GRAM-POSITIVAS Y GRAM-NEGATIVAS

Trabajo presentado como requisito para optar al grado de Licenciados en
Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autoras:

Br. Dacny Betania Santiago Paredes

Br. Lisbeth Andreina Contreras Pabón

Tutora:

Prof (a) Yndra Cordero de Rojas

Mérida, 2020

DEDICATORIA

A Dios y la Virgen forjadores de mi camino, por permitirme llegar a este momento tan importante en mi vida, que me acompañan, me dan fortaleza para continuar en momentos de dificultad y que con su infinita bondad llenan mi vida de tantas bendiciones.

A mis padres Rosa Pabón y Oquimio Guerrero con mi más sincero amor que han estado conmigo en todo momento apoyándome y brindándome todo su amor incondicional, por sus consejos, valores y motivación constante para salir adelante, para mi es una gran satisfacción poder dedicarles este trabajo ¡Los amo con todo mi ser!

A la memoria de mi hermano Gabriel Contreras que desde el cielo me guía y me acompaña.

A mi esposo Leoner Araujo quien me brindó su cariño, estímulo, comprensión y apoyo constante a lo largo de este camino, por su paciencia, espera, por vivir tantos momentos a mi lado y enseñarme tanto de la vida ¡Te amo mi viejito!

A Daniela Febres por ayudar en mi progreso académico, por hacerme ver la vida desde otra perspectiva corrigiendo y fortaleciendo mis principios.

A mi compañera de tesis y gran amiga Dacny Santiago que compartimos historias de vida, por su paciencia, por su comprensión, por enseñarme el verdadero concepto de amistad y formar un gran equipo de trabajo ¡Te quiero amiga!

Finalmente a todas esas personas que han estado presentes en las diferentes etapas de mi vida sin importar donde estén, en esta dedicatoria quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Lisbeth Contreras

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso por ser mi fortaleza y mi guía en este recorrido. Por darme las herramientas necesarias para enfrentar con sabiduría cada percance, cada prueba y así poder culminar con éxito mi trabajo de grado.

A mi madre Nulvia Paredes por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, por su amor, trabajo y sacrificio durante todos estos años. Eres mi orgullo, mi apoyo, mi inspiración y mi mayor motivación, a ti debo cada uno de mis logros, incluyendo éste. ¡Te amo más que a mi vida, mami!

A mi abuela Ana Julia Alarcón por ser mi segunda madre y darme su amor, su cariño y atención con cada gesto. Abuelita eres un ser de luz, por ti siento muchísima admiración. Gracias por estar siempre al pendiente de mí e incluirme en cada una de tus oraciones. ¡Te amo, abuel!

A mi tía Ana Delia Paredes por abrirme las puertas de su casa para continuar con mis estudios universitarios y darme siempre una palabra de aliento. Gracias por enseñarme que el mejor conocimiento que se puede tener es el que se aprende por sí mismo y que la vida se puede ver desde distintas perspectivas. ¡Te amo, tía!

A mi mejor amiga y compañera de tesis Lisbeth Contreras por ser mi acompañante en cada uno de los espacios de la universidad. Sin duda, eres uno de los mejores regalos que me pudo haber dado la vida. Gracias por ser tan incondicional y siempre estar para mí, por formar un gran equipo conmigo y por apoyarme cuando más lo he necesitado. ¡Te amo, amiga mía!

A mi novio Richard Toro por llegar a mi vida y llenarla de amor, gracias por ser tan lindo, por darme tu cariño, por alentarme a seguir adelante, por esperarme y siempre escucharme. ¡Te amo, mi amor!

Dacny Santiago

AGRADECIMIENTOS

A la Ilustre Universidad de Los Andes por acogernos y darnos la oportunidad de pertenecer a esta prestigiosa casa de estudio que ha sido el nicho de formación para profesionales de calidad en las diferentes áreas académicas.

A la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, por formarnos con profesores excepcionales y darnos las herramientas necesarias durante este camino no solo en la parte académica sino también en la parte ética y moral, permitiendo integrar los conocimientos para dar como resultado profesionales íntegros y con excelente calidad humana.

A nuestra tutora, Yndra Cordero de Rojas por aceptar nuestra petición. Por guiarnos con paciencia, dedicación y confianza durante la elaboración de nuestro trabajo de grado, demostrando entrega, pasión y amor por su labor.

A los profesores Ysbelia Obregón, Alida Pérez y Luis Rojas por sus conocimientos, orientación y tiempo dedicado en cada una de las etapas de esta investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág
LISTA DE TABLAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ESQUEMAS	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación e Importancia de la Investigación	5
Objetivos de la Investigación	6
<i>Objetivo General</i>	6
<i>Objetivos Específicos</i>	6
Alcances y Limitaciones de la Investigación	6
<i>Alcances de la Investigación</i>	6
<i>Limitaciones de la Investigación</i>	7
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	8
Trabajos Previos	8
Antecedentes Históricos	12
Bases Teóricas	13
<i>Generalidades de la familia Commelinaceae</i>	13
<i>Generalidades del género Tradescantia</i>	15
<i>Generalidades de Tradescantia zebrina</i>	18
<i>Metabolitos secundarios y actividad farmacológica</i>	21
<i>Metabolitos secundarios</i>	23
<i>Fenoles</i>	24
<i>Alcaloides</i>	24
<i>Terpenoides</i>	25
<i>Quinonas</i>	26
<i>Taninos</i>	27

Saponinas	27
Esteroles y triterpenos	28
Flavonoides	30
Glucósidos cianogénicos	30
Generalidades de los Extractos Vegetales	31
Métodos para la obtención de extractos vegetales	31
Extracción mediante Maceración	32
Generalidades del Estudio Fitoquímico	32
Técnicas Cromatográficas	33
Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	34
Las Bacterias	35
<i>Staphylococcus aureus</i>	38
<i>Enterococcus faecalis</i>	39
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
<i>Escherichia coli</i>	40
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
Generalidades de la Actividad Antibacteriana	41
Métodos para determinar la actividad antibacteriana	42
Método de difusión	42
Método de Kirby-bauer en disco y en pozo	42
Método del Épsilon test	44
Método de dilución	44
Dilución en agar	44
Definición Operacional de Términos	45
Tejido vegetal	45
Cepa bacteriana	45
Medios de cultivo	46
Antibiograma	46
Operacionalización de las Variables	46

Hipótesis	49
CAPÍTULO III MARCO METODOLÓGICO	50
Tipo de Investigación	50
Diseño de la Investigación	50
Población y Muestra	51
<i>Unidad de Investigación</i>	51
<i>Selección del Tamaño de la Muestra</i>	51
Sistema de Variable	52
Instrumento de Recolección de Datos	52
Procedimientos de la Investigación	52
<i>Tamizaje fitoquímico</i>	54
<i>Reconocimientos de alcaloides</i>	54
<i>Determinación de esteroides y/o triterpenos</i>	55
<i>Determinación de saponinas</i>	55
<i>Reconocimiento de Compuestos fenólicos</i>	55
<i>Determinación de flavonoides</i>	55
<i>Reconocimiento de antraquinonas y cumarinas</i>	56
<i>Reconocimiento de taninos</i>	56
<i>Separación cromatográfica de los extracto</i>	56
<i>Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas(CG/EM)</i>	56
<i>Evaluación de la actividad antibacteriana</i>	57
<i>Preparación de las muestras</i>	57
<i>Selección de los microorganismos a evaluar</i>	58
<i>Preparación e inoculación del medio de cultivo sólido para las pruebas de susceptibilidad</i>	58
<i>Preparación de los discos</i>	59
<i>Determinación de la actividad antibacteriana</i>	60
Diseño de Análisis	62
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES	64

Resultados	64
<i>Tamizaje fitoquímico</i>	64
<i>Reconocimientos de alcaloides</i>	65
<i>Determinación de esteroides y/o triterpenos</i>	65
<i>Determinación de saponinas</i>	66
<i>Reconocimiento de Compuestos fenólicos</i>	66
<i>Determinación de flavonoides</i>	67
<i>Reconocimiento de antraquinonas y cumarinas</i>	67
<i>Reconocimiento de taninos</i>	68
<i>Separación cromatográfica del extracto de hexano</i>	68
<i>Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM)</i>	68
<i>Actividad antibacteriana</i>	71
Discusión	74
CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	77
Conclusiones	77
Recomendaciones	78
BIBLIOHEMEROGRAFÍAS	79

LISTA DE TABLAS

Nº	Pág
1. Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antibacteriana presente en los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i> .	47
2. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	48
3. Bacterias de referencia internacional (ATCC)	58
4. Resultados de la caracterización fitoquímica de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	64
5. Componentes identificados de la fracción de hexano de la planta <i>Tradescantia zebrina</i> por CG-EM	71
6. Resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de hexano, diclorometano y etanol de <i>Tradescantia zebrina</i> empleando el método de Kirby-Bauer frente a bacterias Gram-positivas	72
7. Resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de hexano, diclorometano y etanol de <i>Tradescantia zebrina</i> empleando el método de Kirby-Bauer frente a bacterias Gram-negativas	73

LISTA DE FIGURAS

Nº		Pág
1.	Polinización de una Commelinaceae	14
2.	Flor del género <i>Tradescantia</i>	17
3.	Planta de <i>Tradescantia zebrina</i>	19
4.	Biosíntesis de compuestos fenólicos a través de la ruta del ácido shikímico	23
5.	Estructura química de algunos fenoles	24
6.	Estructura química de algunos alcaloides	25
7.	Estructura química de algunos terpenoides	26
8.	Estructura química de algunas quinonas	26
9.	Estructura química de un tanino hidrolizable	27
10.	Estructura química de una saponina	28
11.	Estructura química de algunos esteroides	29
12.	Estructura química de algunos triterpenos	29
13.	Estructura química de algunos flavonoides	30
14.	Estructura química de los glucósidos cianogénicos	31
15.	Procedimiento de extracción según el método de maceración de las partes aéreas de <i>Tradescantia zebrina</i>	54
16.	Preparación de diluciones de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	58
17.	Preparación de los discos	60
18.	Prueba de susceptibilidad antibacteriana a partir de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	61
19.	Reconocimiento de alcaloides a partir de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	65
20.	Determinación de esteroides y/o triterpenos a partir de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	65
21.	Determinación de saponinas a partir de los extractos de	

<i>Tradescantia zebrina</i>	66
22. Reconocimiento de Compuestos fenólicos a partir de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	66
23. Determinación de flavonoides a partir de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	67
24. Reconocimiento de antraquinonas y cumarinas a partir de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>	67
25. Reconocimiento de taninos a partir de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i>.	68
26. Cromatograma General del extracto de hexano de <i>Tradescantia zebrina</i>.	69
27. Espectro de Masa del ácido hexadecanoico obtenido del extracto de hexano de <i>Tradescantia zebrina</i>.	69
28. Espectro de Masa del trans-fitol obtenido del extracto de hexano de <i>Tradescantia zebrina</i>.	70
29. Espectro de Masa del ácido linolénico obtenido del extracto de hexano de <i>Tradescantia zebrina</i>.	70

LISTA DE ESQUEMAS

Nº		Pág
1.	Procedimiento empleado para la separación e identificación de los componentes de <i>Tradescantia zebrina</i>	57
2.	Procedimiento para determinar la actividad antibacteriana de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i> por el método de difusión en agar (Kirby-Bauer) utilizando discos de papel	62

www.bdigital.ula.ve



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



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS DE *Tradescantia zebrina* EN CEPAS GRAM-POSITIVAS Y GRAM-NEGATIVAS

Autoras:

Br. Dacny Betania Santiago Paredes

Br. Lisbeth Andreina Contreras Pabón

Tutora:

Prof (a) Yndra Cordero de Rojas

RESUMEN

Actualmente existe un reconocimiento en el empleo de fuentes naturales que se basan en metabolitos secundarios con poder antibacteriano para impedir el desarrollo y multiplicación de algunos microorganismos. El objetivo de esta investigación fue confirmar la relación que existe entre la composición química de los extractos obtenidos de *Tradescantia zebrina* y la actividad antibacteriana que presenta frente a cepas Gram-positivas y Gram-negativas. Los resultados del análisis fitoquímico revelaron la presencia de alcaloides, esteroides y compuestos fenólicos en esta planta. El extracto de hexano analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM) mostró la presencia de componentes como el ácido hexadecanoico, trans-fitol, ácido linoleico y ácido linolénico que representan el 87,17% de la totalidad de las moléculas identificadas. Se obtuvo diferentes halos de inhibición según el extracto empleado frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Podríamos concluir que el objetivo de esta investigación fue alcanzado ya que se logró confirmar la actividad biológica que presenta los extractos de la planta *Tradescantia zebrina* frente a las diferentes cepas mencionadas.

Palabras claves: actividad antibacteriana, *Tradescantia zebrina*, estudio fitoquímico.

INTRODUCCIÓN

La actividad antibacteriana deriva de la función del antibiótico que posee metabolitos secundarios. Estos pueden impedir el desarrollo y multiplicación de los microorganismos o células, los cuales se denominan bacteriostáticos, o destruir un grupo determinado de microorganismos produciendo la lisis y muerte, en cuyo caso se denominan bactericidas, al conocer estas propiedades se comenzaron a utilizar sustancias presentes en los extractos de plantas con poder antibacteriano para aplicarlas a ciertas enfermedades y así poder combatirlas (Marinoff, 2006).

La actividad antibacteriana se puede observar según el efecto que ejerce sobre las bacterias, que son microorganismos unicelulares sin núcleo diferenciado, algunas de cuyas especies descomponen la materia orgánica, mientras que otras producen enfermedades, estas se clasifican en dos grandes grupos y su diferencia radica en su pared celular, en ambos casos se puede estudiar la actividad antibacteriana que ejercen los extractos sobre ellas, es decir, tanto en las bacterias Gram-positivas, como en las bacterias Gram-negativas. Las cepas son obtenidas por lo general a través del procedimiento de la clonación. Lo que en una cepa está contenido, es la matriz de la que se desprenderá el resto de los datos o productos que conformarán la cosa en estudio (Barrios, 1988).

La importancia de esta investigación se basa en que actualmente existe un reconocimiento al empleo de fuentes naturales para el tratamiento de diversas afecciones, ya que poseen una baja toxicidad. Las plantas pueden poseer actividad biológica sobre determinados microorganismos y esto va a depender de los compuestos activos que estén presentes en sus extractos. Estos compuestos pueden ser determinados a través del estudio fitoquímico, y ellos permitirán observar que actividad biológica presenta la planta (Marcano y Hasegawa, 2002).

Dentro de este orden de ideas se darán a conocer los pasos que estructuran el trabajo de investigación: Capítulo I que lleva por nombre El Problema constituido por el Planteamiento del Problema, la Justificación e Importancia de la Investigación, Objetivos de la Investigación, Alcances y Limitaciones de la Investigación. Capítulo II que se titula Marco Teórico, y se divide en: Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Definición Operacional de Términos, Operacionalización de las Variables e Hipótesis. Capítulo III se denomina Marco Metodológico y en él se encuentra el Tipo de Investigación, Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Sistema de Variable, Instrumento de Recolección de Datos, Procedimientos de la Investigación y el Diseño de Análisis. Capítulo IV que engloba Resultados y Discusiones. Capítulo V que incluye Conclusiones y Recomendaciones. Finalmente se halla la Bibliohemerografía.

Por consiguiente, la presente investigación tiene como objetivo general, confirmar la relación que existe entre la composición química de los extractos obtenidos de *Tradescantia zebrina* y la actividad antibacteriana que presenta frente a cepas Gram-positivas y Gram-negativas.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

La resistencia antimicrobiana ha sido reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las mayores amenazas para la salud humana. La advertencia sobre su aumento no es asunto nuevo y representa en la actualidad un desafío terapéutico. Este es un fenómeno biológico natural de respuesta de los microbios a la presión selectiva de un fármaco antimicrobiano, puede ser inherente, lo que explica el fenómeno de infección oportunista o adquirida (Medina, Machado y Machado, 2015).

La preocupación por la resistencia aumentó a fines de la década de 1990 y, desde entonces, se han publicado muchos informes gubernamentales y de agencias sobre el uso de antibacterianos, que recomiendan un menor y una elección adecuada para la prevención de infecciones cruzadas y el desarrollo de nuevos antibacterianos, la aparición de cepas multirresistentes de bacterias Gram-negativas (*Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Salmonella*) y organismos Gram-positivos (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*) es el más preocupante en el escenario terapéutico actual. La resistencia a algunos agentes puede superarse modificando los regímenes de dosificación por ejemplo usando una terapia de dosis alta, mientras que otros solo pueden superarse usando un agente de clase diferente (Medina y cols; 2015).

La resistencia adquirida se puede desarrollar por mutación o transferencia de genes. La transferencia de genes puede ocurrir a través de la

transformación, transducción y conjugación. La mutación puede ocurrir en el gen que codifica la proteína blanco, de transporte, la de activación del fármaco, el promotor o el gen regulador que afecta la expresión de la proteína de transporte objetivo o una enzima inactivadora. La producción de betalactamasas por la bacteria es el mecanismo más importante asociado con la resistencia a los antibióticos betalactámicos. El panorama actual es desalentador y son urgentes los llamados para que los encargados de la prescripción de antibióticos asuman una doble responsabilidad, por un lado ofrecer el tratamiento óptimo para cada paciente y por otro, un compromiso con la salud pública para preservar su eficacia y reducir al mínimo el desarrollo de resistencia. Su uso prudente es la única opción (Rashmi, Chamanlal y Bhuvneshwar, 2005).

Los antibióticos pueden actuar como bacteriostáticos al impedir el desarrollo y multiplicación de los microorganismos o como bactericidas produciendo la lisis y muerte. Desde su descubrimiento, el uso indiscriminado de los antibióticos en la práctica médica ha provocado, entre otros males, el desarrollo de cepas bacterianas resistentes (Cabrera, Fadragas y Guerrero, 2005). La creciente adaptación de la medicina natural como una forma alternativa en la atención de salud, ha incluido los extractos de plantas con poder antibacteriano para combatir ciertas enfermedades ya que poseen una baja toxicidad. Las plantas pueden poseer actividad biológica sobre determinados microorganismos y esto va a depender de los compuestos activos que estén presentes en sus extractos. Estos compuestos (metabolitos secundarios) pueden ser determinados a través del estudio fitoquímico en el que se emplean diferentes partes de la planta (Lorenzo, Moreno, Lizasoain, Leza y Moro, 2008).

Una vez descrita la situación actual del problema de estudio las autoras formulan la siguiente pregunta de investigación: ¿Existe relación entre la composición química de los extractos obtenidos de *Tradescantia zebrina* y la

actividad antibacteriana que presenta frente a cepas Gram-positivas y Gram-negativas?

Justificación e Importancia de la Investigación

Dado que en la actualidad existe gran interés por la medicina tradicional y, dentro de esta, la medicina herbaria, que ha generado numerosos estudios, divulgados en prestigiosas publicaciones donde incluso se ha señalado que los componentes de *Tradescantia zebrina* poseen actividad antibacteriana, y que hay poco uso de medicamentos de origen vegetal por parte de los profesionales de la salud; donde sus tratamientos están basados únicamente en fármacos sintéticos, que conllevan a problemas de salud diagnosticados como enfermedad leve.

El empleo de fuentes naturales resulta ser una alternativa para el tratamiento de diversas afecciones en el caso de las poblaciones rurales, donde el acceso a los medicamentos farmacológicos se torna restringido, bien sea por razones económicas o por disminución de los efectos tóxicos, que son muy frecuentes en sustancias químicas puras, optando siempre por la medicina herbaria que está a su alcance (Gallegos, 2016). Es por ello que se proyecta contribuir de alguna manera con el problema de salud pública que se vive día a día en el país, debido a la disminución y altos costos de sustancias inhibidoras de microorganismos patógenos, así como, que la información obtenida en la presente investigación genere nuevos conocimientos y a futuro pueda servir de apoyo para las generaciones de relevo.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación que existe entre la composición química de los extractos obtenidos de *Tradescantia zebrina* y la actividad antibacteriana que presenta frente a cepas Gram-positivas y Gram-negativas.

Objetivos Específicos

- Obtener los extractos de las partes aéreas de *Tradescantia zebrina* mediante el método de maceración con los solventes hexano, diclorometano y etanol.
- Realizar la identificación de los metabolitos secundarios de los diferentes extractos de *T. zebrina* obtenidos mediante el tamizaje fitoquímico.
- Identificar los componentes del extracto de hexano de *T. zebrina* mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM).
- Determinar la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de *T. zebrina*, frente a diferentes cepas de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas mediante el método de difusión en agar (Kirby–Bauer).

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

Los alcances de la investigación se relacionan con la profundidad del conocimiento que los autores se proponen. En tal sentido, el conocimiento que se alcanzará será confirmar, el cual requiere de una explicación previa a una serie de supuestos o hipótesis, que se desean confirmar (Hurtado,

2010). Dentro de esta perspectiva, el alcance en este trabajo fue confirmar la relación que existe entre la composición química de los extractos obtenidos de *Tradescantia zebrina* y la actividad antibacteriana que presenta frente a cepas Gram-positivas y Gram-negativas.

Limitaciones de la Investigación

Por otra parte, las limitaciones presentadas en esta investigación principalmente fueron, la disponibilidad de tiempo en su elaboración, los cortes en el fluido eléctrico, fallas con el acceso a internet, los paros escalonados del personal universitario, así como, los costos elevados de los materiales y reactivos por la inflación que se vive actualmente.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Al explorar trabajos realizados por otros investigadores sobre la problemática abordada en este estudio, se pudo encontrar una vinculación con la presente investigación, entre ellos cabe mencionar:

Sánchez, Ruíz, Salzar, Mendez y Olivo (2019), realizaron una investigación que lleva por título compuestos fenólicos y actividad antiinflamatoria *in vitro*, de extractos de *Tradescantia zebrina*. El objetivo principal fue determinar la concentración de los compuestos fenólicos en dos extractos acuosos obtenidos por infusión y maceración y un extracto etnólico de las hojas de *T. zebrina*, así como determinar su actividad antiinflamatoria *in vitro* de la estabilidad de la membrana eritrocitaria y protección de la desnaturalización térmica de la albúmina. El extracto con mayor concentración de compuestos fenólicos fue el obtenido por infusión en agua a ebullición durante 30 minutos, seguido por maceración a 22 °C y finalmente por etanol al 80% por 12 horas. Tanto el extracto proveniente de la maceración como el etnólico presentaron inhibición de hemólisis en un 29 y 32% respectivamente, mientras que la infusión no tuvo ningún efecto, por el contrario protegió la desnaturalización de la albúmina en un 85%, mientras que el macerado y el extracto etnólico fueron menores del 43-44%. Estos resultados son un preámbulo a futuras investigaciones donde se demuestre la actividad *in vivo*, y se propone realizar el perfil fitoquímico de

los extractos. La relación con este trabajo de investigación es directa, debido a que estudiaron parte de la composición química de *Tradescantia zebrina*.

Mariko, Takeshi, Mio, Takayuk, Tunemasa, Akito, Yuka, Hiroshige y Yoshiaki (2019), realizaron una investigación titulada el extracto de *Tradescantia pallida* inhibe la formación de biopelículas en *Pseudomonas aeruginosa*. Este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos del extracto acuoso de *Tradescantia pallida* sobre el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y la formación de biopelículas. En los métodos empleados los extractos acuosos de *Tradescantia pallida* se desactivaron por calentamiento, pero no se desactivaron por exposición a la luz y los ingredientes retuvieron el efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano, así como la formación de biopelículas después de la ultrafiltración del extracto acuoso de *T. pallida*. Las biopelículas, las diferencias cuantitativas y cualitativas en la biofilm y la morfología celular se observaron empleando un microscopio electrónico de barrido. Se obtuvo como resultado que el extracto acuoso de *T. pallida* inhibe significativamente tanto el crecimiento bacteriano como la formación de biopelículas. En conclusión se demostró que el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y la formación de biopelículas son inhibidos por extractos acuosos de *T. pallida*. Este trabajo respalda la investigación, ya que se refieren a la actividad inhibitoria que presenta *T. pallida* integrante de la familia de las Commelinaceae frente una especie bacteriana.

Gouri, Shahnaz y Aisyah (2018), realizaron una investigación titulada Biosíntesis de nanopartículas de plata usando extracto acuoso de hojas de *Tradescantia zebrina* y su actividad antibacteriana. El objetivo de esta investigación fue informar sobre la biosíntesis de nanopartículas de plata usando extracto acuoso de las hojas de *T. zebrina* y su actividad antibacteriana contra bacterias patógenas humanas comunes como *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*,

Escherichia coli y *Bacillus cereus*. En el método la actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata biosintetizadas se comparó con la amikacina que se usó como control positivo. Los resultados del estudio revelaron buenas zonas de inhibiciones de las nanopartículas contra los microorganismos de prueba que eran comparables a la amikacina. Se concluyó que hay un gran potencial en la preparación de fármacos utilizados contra enfermedades bacterianas. La relación con este trabajo de investigación es directa, debido a que estudiaron la actividad antibacteriana de *Tradescantia zebrina*.

Kuppusamy P, Yusoff M, Parine N y Govindan N (2015), realizaron una investigación titulada Evaluación in-vitro de las propiedades antioxidantes y antibacterianas de *Commelina nudiflora*, mediante los extractos preparados por diferentes disolventes polares. El objetivo de esta investigación fue evaluar las propiedades antioxidantes y antibacterianas de *Commelina nudiflora*. En el método diagnóstico de extracción con soxhlet se utilizó diferentes disolventes polares tales como etanol, cloroformo, diclorometano, hexano. El extracto acuoso mostró una actividad significativa en la captación de radicales libres de 63,4 mg/GAE (Ácido gálico) y 49,10 mg/g en DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil) y ABTS (Acido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico), respectivamente. Además, se utilizó el extracto acuoso en estudios antibacterianos, que mostraron la más alta actividad inhibidora frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*. El resultado alcanzado fue que entre todos los extractos, el extracto acuoso de *C. nudiflora* tiene un control significativo sobre la actividad de eliminación de radicales libres y la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas de alimentos.

Además, el extracto acuoso contiene abundancia de compuestos fenólicos y flavonoides más altos que otros extractos. Las conclusiones fueron que este estudio exploró las plantas de malezas *C. nudiflora* como una fuente potencial de la eficacia antioxidante y antibacteriana y diversos

compuestos bioactivos de valor terapéutico identificado a partir de análisis de CG-EM (Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas). (Kuppusamy y cols, 2015). Este trabajo respalda la investigación, ya que *Commelina nudiflora* pertenece a la familia de las Commelinaceae, además se refieren al mismo evento de estudio, que es la actividad antibacteriana.

Tan J, Lim Y, Lee S (2015), realizaron una investigación que lleva por título Actividad antioxidante y antibacteriana de las hojas de *Rhoeo spathacea* (Swartz) Stearn. El objetivo principal fue, establecer la viabilidad de los extractos acuosos de las hojas de *R. spathacea* como bebida, en cuanto a sus propiedades de actividad antioxidante y actividad antibacteriana. El contenido de antioxidante acuoso y el extracto de metanol de las hojas, fueron evaluados por el contenido fenólico total y contenido de flavonoides totales. Las actividades antioxidantes medidas fueron DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil), la actividad de eliminación de radicales, reduciendo el potencial férrico y la actividad quelante de iones ferrosos. Los resultados encontrados fueron que tenían contenido fenólico total comparable y actividad antioxidante con otras infusiones de hierbas. Tanto la decocción y la infusión también mostraron actividad antibacteriana contra seis especies bacterianas Gram-positivas y cuatro especies Gram-negativas, especialmente resistente a la meticilina el *Staphylococcus aureus* y la *Neisseria gonorrhoeae*. Las conclusiones de esta investigación fueron que, un total de cuatro compuestos fenólicos diferentes fueron identificados por HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia) y MS (Espectrometría de Masas), tres de los cuales no se han informado anteriormente que se encuentran en esta planta. Tanto la decocción y la infusión de las hojas *R. spathacea* tiene potencial para ser utilizados como una bebida común. Existe relación con esta investigación dado que se enfocan en el mismo evento de estudio, asimismo *Rhoeo spathacea* es constituyente de la familia Commelinaceae.

Antecedentes Históricos

Tradescantia zebrina, es una planta nativa de Europa, extremadamente resistente y de fácil propagación. En relación a su etimología *T. zebrina* fue descrita por Heynh Bosse y publicado en *Vollständiges Handbuch der Blumengärtnerei* en 1849. *Tradescantia* es el nombre genérico que Carlos Linneo dedicó en honor a John Tradescant, naturalista y viajero, quien introdujo en el Reino Unido numerosas especies de plantas americanas recolectadas en las tres expediciones que realizó a Virginia-Estados Unidos (Sánchez, 2004).

Las plantas con atributos curativos fueron las primeras medicinas utilizadas en forma empírica para la cura de enfermedades que padecía el hombre; en la Biblia se describen aproximadamente 200 plantas de uso terapéutico y además sus aplicaciones. El papiro de Ebers, escrito hace unos 3500 años, describe enfermedades e indicaciones para solucionarlas mediante el empleo de especies vegetales (Marinoff, 2006). Hay registros del uso de las hierbas y sus extractos aplicados a la piel en el antiguo Egipto. En China, India y en Oriente Medio, las plantas aromáticas, los óleos, las aguas perfumadas y los preparados vegetales eran utilizados en la cocina, en cosmética, en medicina y en las prácticas religiosas. Los romanos empleaban extractos de limón, rosa, jazmín y sándalo para suavizar la piel (Nadinic, 2015).

Durante los siglos XII y XIII la Escuela Árabe, célebre por sus renombrados médicos, así como la de Salerno en Italia, prescribían numerosas drogas vegetales de las cuales muchas son utilizadas en la actualidad. En el siglo XV eran conocidas las esencias de almendras amargas, espliego, canela, ginebra, rosa, salvia, lavanda, entre otras. Un siglo después, más de sesenta nuevas esencias se añadían a éstas. En la edad media, los árabes perfeccionaron la destilación de las plantas

aromáticas, favoreciendo así el desarrollo de la naciente y rudimentaria farmacia. Con el desarrollo de la química orgánica en el siglo XIX se practicaron los primeros análisis químicos de esencias y otros principios activos presentes en los extractos vegetales (Marinoff, 2006).

La actividad antibacteriana tiene vinculación con el descubrimiento accidental de la penicilina, el primer antibiótico utilizado en medicina, el cual fue aislado de hongos del género *Penicillium* específicamente de la especie *Penicillium notatum* por el bacteriólogo inglés Alexander Fleming en 1929, no llamo la atención hasta el año 1940, cuando se abrió el camino para la búsqueda de nuevos antibióticos. En 1942 se acuña el término antibiótico por Selman Waksman para describir cualquier sustancia producida por un microorganismo que es antagónico al crecimiento de otros microorganismos en la alta dilución. Tres años más tarde se estableció la producción industrial de la penicilina (Marcano y Hasegawa, 1991).

www.bdigital.ula.ve

Bases Teóricas

Generalidades de la familia Commelinaceae

Commelinaceae se sitúa en el orden Commelinales dentro del grupo Monocotiledonea. Algunas sinapomorfías del orden son: ausencia de micorrizas; elementos del vaso con placas de perforación escaleriformes; endosperma abundante y del tipo helobial. Commelinaceae es la familia hermana de Hanguanaceae, una familia de distribución asiática, con la cual comparte la característica de poseer cotiledones no fotosintéticos, esta representadas por hierbas carnosas, a veces suculentas, con hojas planas o con forma de V en el corte transversal, en la base de las hojas con una vaina cerrada. La flor posee un perianto dividido en 3 sépalos y 3 pétalos, aunque a veces el tercer pétalo, de posición abaxial, es de otro color, pequeño e inconspicuo, pareciendo que hay solo dos pétalos; sus estambres se caracterizan por poseer pelos en sus filamentos (Montiel, 1994).

Las inflorescencias, que usualmente nacen por encima de brácteas grandes y foliosas, son cimas con muchas flores, y muchas veces son opuestas a las hojas. Las flores de las Comelináceas están abiertas por un solo día (son fugaces) y frecuentemente son azules o rosas. La polinización es usualmente realizada por abejas o avispas que juntan polen (Figura 1). Es interesante que los estaminodios son usualmente más conspicuos que los estambres, y las flores de simetría bilateral son asidas de forma que el sépalo impar quede adaxial. Las flores de esta familia pueden engañar a las abejas con sus estaminodios aparentando tener más polen que lo que tienen en realidad. La autopolinización es común en algunas especies (Montiel, 1994).

Figura 1: Polinización de una Commelinaceae



Fuente: Montiel., (1994).

La mayor parte de los géneros de Commelinaceae pertenecen a dos grandes tribus: Tradescantieae (25 géneros, entre ellos *Callisia*, *Tradescantia* y *Gibasis*), y Commelineae (13 géneros, entre ellos *Commelina*, *Murdannia* y *Aneilema*). El primer grupo se caracteriza por polen sin espinas, cromosomas medios a grandes, flores de simetría radial, y en el filamento pelos (cuando están presentes) moniliformes. El último grupo tiene polen espinoso, pequeños cromosomas, flores de simetría radial a bilateral, y en el filamento pelos (cuando están presentes) usualmente no moniliformes. Ha habido mucha convergencia en los caracteres florales dentro de la familia debido a una fuerte selección del polinizador, y los caracteres anatómicos (por ejemplo

la estructura del estoma) pueden ser útiles en diagnosticar a los clados más grandes (Montiel, 1994).

La familia se encuentra en las regiones tropicales y templado-cálidas del mundo, no existiendo especies nativas de Europa. Los mayores centros de diversidad son México y Norte de América central; África tropical incluyendo Madagascar y Asia tropical. Se encuentra en un amplio rango de hábitats, desde selva tropical hasta pastizales y arbustales semiáridos y desde el nivel de mar hasta los 3.800 m de altura en el Neotrópico. Unas pocas especies son acuáticas (Montiel, 1994).

La familia fue reconocida por sistemas de clasificación modernos como el sistema de clasificación APG III (20093) y el Linear APG III (20091) le asignó el número de familia 78. La familia ya había sido reconocida por el APG II (200312). Consta de 40 géneros, 650 especies. Los géneros más representados son *Commelina* (230 especies), *Tradescantia* (74 especies), *Aneilema* (60 especies), *Murdannia* (45 especies) y *Callisia* (20 especies) (Montiel, 1994).

Las recientes investigaciones farmacológicas han puesto de manifiesto que la familia Commelinaceae contiene diferentes compuestos activos y según el género y especie que se estudie se le atribuye diversas propiedades como febrífuga, antipirética, antiinflamatoria, y diurética (Montiel, 1994).

Generalidades del género Tradescantia

Tradescantia es un género de plantas herbáceas y perennes perteneciente a la familia de las Commelinaceas y originario del nuevo mundo. Comprende 74 especies que han sido objeto de numerosos estudios citogenéticos debido a que han evolucionado a través de cambios cromosómicos de diversa naturaleza, tanto estructurales como numéricos.

Los miembros de este género son plantas herbáceas y perennes de hábito decumbente, postrado o erguido, escalador o cespitoso. Alcanzan los 30 a 60 cm de altura. Pueden tener raíces tuberosas además de raíces finas adventicias, que surgen de los nudos de los tallos (Dimitri, 1987).

Los tallos pueden ser simples o ramificados. Las hojas, de forma aovada o lineal-lanceolada, se hallan dispuestas en forma espiralada a lo largo de los tallos o pueden ser dísticas, con la lámina foliar entera y sésil o raramente peciolada. Las inflorescencias son terminales o axilares y pueden ser pares de cimas, cimas sésiles, umbelas y se hallan protegidas por una bráctea espatácea. Esta bráctea puede ser similar a las hojas normales de la planta o bien, estar muy diferenciada (Dimitri, 1987).

Las flores son hermafroditas, actinomorfas, es decir, con simetría radial. Los pedicelos son muy cortos o pueden estar muy desarrollados en algunas especies. El cáliz está compuesto por 3 sépalos libres, cóncavos, o naviculares, verdes o petaloideos. La corola está formada por 3 pétalos libres, de color blanco, rosado, azul o violeta (Figura 2). Los estambres son 6, perfectos, libres entre sí, con los filamentos filiformes, provistos de largos pelos o bien glabros. Las anteras presentan dos tecas, con el conectivo ancho y divergente. El gineceo es de ovario súpero, sésil, trilocular, con los lóculos con dos óvulos. El estilo es simple, y el estigma capitado. El fruto es una cápsula loculicida con dos semillas por lóculo, una en el caso de *Tradescantia spathaceae*, con el hilo oblongo a linear (Dimitri, 1987).

Figura 2: Flor del género *Tradescantia*



Fuente: Dimitri., (1987).

Las especies de *Tradescantia* se cruzan entre sí en la naturaleza ya que, al parecer, no existen barreras a la hibridación o mecanismos de aislamiento reproductivo entre gran parte de ellas. Esas hibridaciones o cruzamientos determinan la producción de híbridos fértiles, los que a su vez, forman enjambres híbridos sobre los cuales actúa la selección natural para seleccionar las variantes más adaptadas. Ese proceso puede dar origen a nuevas especies, tal como el caso de *Tradescantia andersoniana* la cual proviene de la hibridación entre 3 especies diferentes: *T. ohiensis*, *T. subasper* y *T. virginiana*. En otros casos, los cruzamientos interespecíficos seguidos de retrocruzamientos hacia una de las especies parentales dan lugar a la introgresión de genes desde una especie hacia otra. Tal es el caso de la introgresión de *T. canaliculata* en *T. occidentalis* y de *T. canaliculata* en *T. bracteata* (Dimitri, 1987).

Algunas de las especies de *Tradescantia*, en particular *T. fluminensis*, se han convertido en malezas de cultivos o de áreas forestales debido a su capacidad de propagarse muy rápidamente. En el caso de las áreas

boscosas *T. fluminensis* cubre densamente el suelo una vez establecida por lo que impide la regeneración de las especies nativas. Se le controla, básicamente, mediante la aplicación de herbicidas, si bien en algunos países se están explorando medidas de control biológico. Se distribuyen desde el sur de Canadá hasta el norte de Argentina. Introducidas como plantas ornamentales en Europa en el siglo XIX, se siguen utilizando con ese fin en casi todo el mundo (Dimitri, 1987).

Carlos Linneo dio el nombre a este género y John Tradescant fue quien introdujo en el Reino Unido numerosas especies de plantas recolectadas en Virginia-Estados Unidos por lo que la primera especie descrita recibe el nombre de *Tradescantia virginiana* la cual fue introducida a Europa en 1629 (Montiel, 1994).

Generalidades de *Tradescantia zebrina*

Esta planta lleva por nombre científico *Tradescantia zebrina* y se conoce comúnmente como: Cohitre morado, cucaracha, cucarachita, hierba de la cucaracha, hierba del pollo, sinvergüenza, cortina de sala, plateada pamplinas, panameña, cola de pollo, hoja de gallo, hola de plata, lluvia, pico de gallo, hoja milagrosa, judío errante, judío de vaga (Montes y Peña, 2010). Es una planta muy llamativa por su coloración, las hojas más nuevas y superiores son púrpuras y las más viejas e inferiores son verdes con dos tiras plateadas, las hojas más viejas muestran un uniforme magenta profundo, con tallos decumbentes o rastreros, enraizando en los nudos. Esta planta de porte colgante de 0,5 m de diámetro, no sobrepasa los 30 cm de altura debido a sus tallos débiles a no ser que se apoyen directamente sobre una pared o alguna estructura (Figura 3). Las hojas tricolor son lanceoladas y sentadas en la base rodeando al cuello del tallo. Mide de unos 3-5 cm de longitud y unos 2-3 cm de anchura, redondeadas y algo carnosas (Vásquez, 1997). Se reproduce fácilmente por esquejes durante todo el año. Conviene

eliminar las hojas inferiores para que agarre con más facilidad (Montes y Peña, 2010).

Figura 3: Planta de *Tradescantia zebrina*



Fuente: Vásquez., (1997).

Necesita lugares iluminados para adquirir la coloración purpúrea que es debida, si se siembra en lugares sombríos u oscuros la planta tendrá un aspecto verde. A pesar de eso es fuerte y se adapta a sitios bien iluminados como en sombra. Es una planta que soporta algo de frío 5 °C aunque no muere hasta los -3 °C. Es conveniente tras pasar un duro invierno, podarla para que rebrote fuertemente en primavera, se adapta a climas secos, con lo que soporta la sequía, aunque necesita algo de riego (Berendsohn, 1991). Es una planta nativa de Europa, se puede encontrar desde México a Argentina, Paraguay, Perú y Tanzania. En Costa Rica en bosques húmedos y pluviales (0-1400 m) (Vásquez, 1997).

Según las Colecciones Científicas en Línea (2016), *Tradescantia zebrina* presenta la siguiente taxonomía:

- Reino: Plantae
- Filo: Magnoliophyta
- Clase: Liliopsida
- Orden: Commelinales
- Familia: Commelinaceae
- Subfamilia: Commelinoideae
- Tribu: Tradescantieae
- Subtribu: Tradescantiinae
- Género: *Tradescantia*
- Especie: *Tradescantia zebrina*

Se cultiva en los jardines como planta ornamental debido a su floración vistosa, adicionalmente se utiliza como cobertura de suelo ya que coloniza agresivamente nuevas áreas cuando se disturba, la importancia de esta especie radica en su utilización como bioindicadores para la determinación de la presencia de mutágenos en el medio ambiente (Berendsohn, 1991).

Según Espinosa, J., Centurión, D., Mayo, A y Velázquez, J (2017) La parte más utilizada de la planta son las hojas; aunque se utiliza de forma y para fines diferentes dependiendo del lugar que sea por ejemplo:

- En México los indios mexicanos preparan un cocimiento o infusión para tratar enfermedades inflamatorias.
- En Guatemala la infusión de la planta es utilizada para tratar la inflamación de riñones y tracto urinario. La sabia aplicada sobre las heridas la utilizan para una mejor cicatrización.

- En Cuba esta planta sirve para la conservación de los suelos en las zonas cafetaleras. Las hojas son utilizadas para ahuyentar las cucarachas, extirpar cayos, contra dolores musculares, la colitis y la desintería.
- En Venezuela la infusión de las hojas sirve para tratar la diabetes.
- En Costa Rica el cocimiento de las hojas se emplea como analgésico en las neuralgias faciales. La infusión de las hojas machacadas se utiliza como antihemorrágico interno en las hemoptisis.
- En Colombia el zumo de esta planta es usado como antiveneno.

Metabolitos secundarios y actividad farmacológica

Entre los principales metabolitos secundarios de *T. zebrina* destacan los compuestos fenólicos, que sintetizan como mecanismo de defensa. Se han demostrado que estos compuestos actúan como antioxidante en sistemas biológicos, por lo que son utilizados en terapias contra enfermedades crónico-degenerativas relacionadas con procesos inflamatorios, los cuales son respuesta del organismo a daños físicos, mecánicos y químicos, sin embargo, cuando la respuesta es exacerbada, se pueden presentar daños tisulares, pérdida de la función o enfermedades crónicas (Martínez y Hernandez, 2019).

El principal componente de las hojas de *T. zebrina* es agua, la cual representa un 95%, este parámetro es importante si se requiere almacenar la muestra y que es propensa a ser atacada por microorganismos y tiende a pudrirse. El color de la hoja es verde intenso por el lado superior y morado del lado inferior lo cual es un indicador de compuestos fenólicos, que son sintetizados por la mayoría de las plantas como mecanismo de defensa ante agresores biológicos (hongos, bacterias e insectos) y físicos (principalmente

rayos UV), que son sintetizados a través de la ruta del ácido shikímico (figura 4). Se ha reportado que los compuestos fenólicos confieren actividad antiinflamatoria (Martínez y Hernández, 2019).

Alaba y Hernández (2014), evaluaron el efecto antiinflamatorio de un extracto metanólico de *T. zebrina* sobre la 15 lipooxigenasa, enzima proinflamatoria involucrada en el metabolismo del ácido araquidónico y que se expresa en varios tejidos entre ellos hígado, riñones y tejido adiposo, los autores reportaron que fue capaz de inhibir el 64% de la actividad de dicha enzima en un modelo *in vitro*, el extracto además de contener compuestos fenólicos principalmente del grupo de los flavonoides reconocidos por su capacidad de inhibir enzimas proinflamatorias también contenía saponinas.

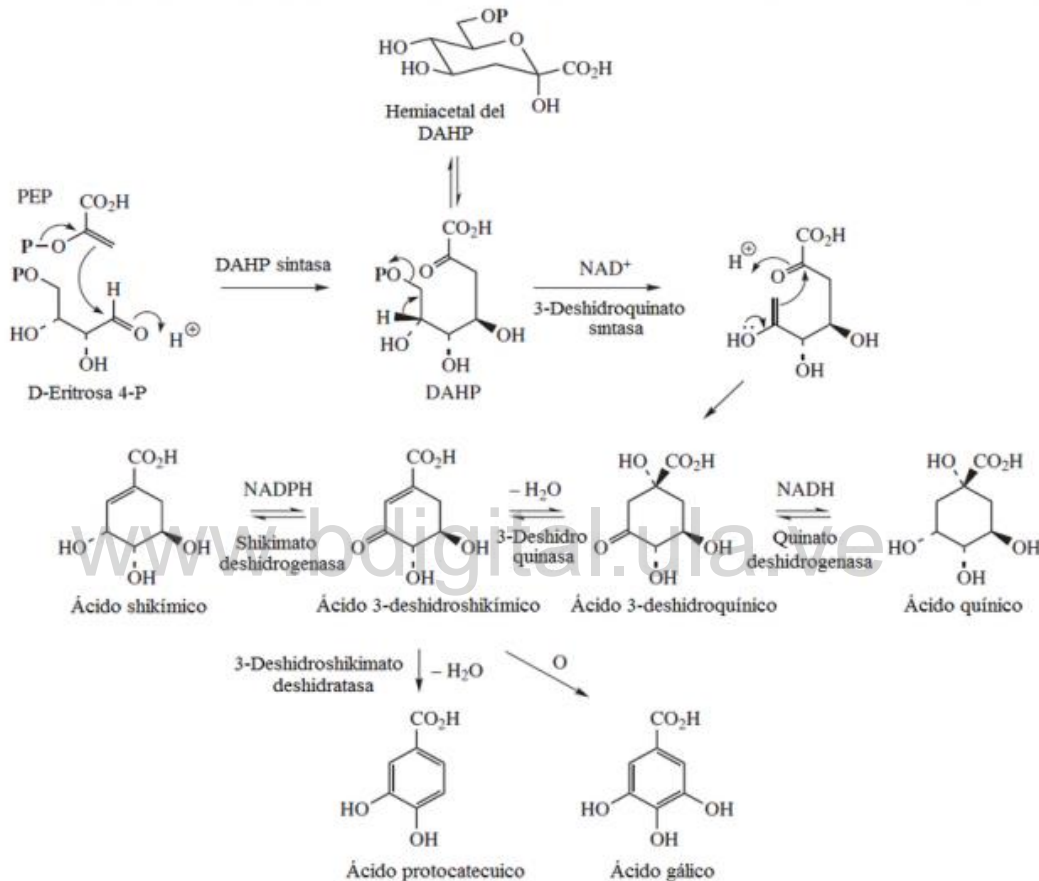
Lobato, C., Gómez, A., Alor, M., Badal, J., Hernández, C y Díaz, v (2003) determinaron un Grupo de Metabolitos en *T. zebrina* obteniendo Flavonoides en un 2,19 % Taninos en un 0,6 % y Esteroides en un 20,9 %. Cabe mencionar que el grupo de esteroides puede ser un buen sistema de monitoreo de estabilidad fisicoquímica, en virtud de encontrarse en buena proporción.

Por otra parte Espinosa, J., Centurión, D., Mayo, A y Velázquez, J (2017) Realizaron un estudio en el que reportaron el contenido total de compuestos fenólicos ($620,9 \pm 39,7$ mg GAE 100 g⁻¹), taninos ($57,6 \pm 3,5$ mg TAE 100 g⁻¹) y flavonoides ($906,5 \pm 88,2$ mg AA100 g⁻¹) en extracto metanólico de las hojas de *T. zebrina*. Las propiedades que se asumen a la hoja son antihelmíntica, antipirética, diurética, emenagoga y ecbólica. Los principales componentes de las hojas son los flavonoides zebrinín y el compuesto mono-decafeilado.

Además Ramírez, A., Isaza, G y Pérez G (2013) En el estudio fitoquímico preliminar de la especie *T. zebrina* revelaron resultados positivos para taninos, esteroides y flavonoides. Mediante fraccionamiento en cromatografía

de columna se obtuvieron dos grupos de fracciones: el primer grupo dio resultados positivos para esteroides y el segundo para flavonoides.

Figura 4: Biosíntesis de compuestos fenólicos a través de la ruta del ácido shikímico



Fuente: Alaba y Hernandez (2014).

Metabolitos secundarios

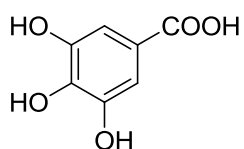
Son moléculas generadas por diversas especies vegetales. Los metabolitos son elementos que no son necesarias para el crecimiento y la reproducción de las plantas pero cumplen con funciones muy importantes en el reino vegetal, puede ser una ventaja competitiva considerable sobre otros

organismos (Jardín Botánico, 2004). No todos los componentes químicos elaborados por la planta, presentan el mismo uso dentro de la fitoquímica. Los principios activos más frecuentes son:

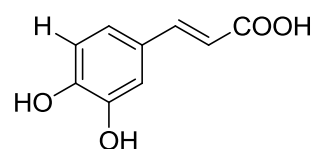
Fenoles

Son los compuestos más simples y consisten en al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos a un grupo funcional, por lo general son sintetizados por una de dos vías biosintéticas: la ruta del ácido shikímico o la vía del ácido malónico (Domínguez, 1973). Algunos ejemplos los constituyen el catecol, el pirogalol y los ácidos gálico y cafeico (Ver figura 5). Plantas productoras de compuestos de estas características son el tomillo y la manzanilla, cuyo principio activo, la arbutina, ha sido utilizada a lo largo de los años en el tratamiento de la infección urinaria. El mecanismo parece estar relacionado con la inhibición enzimática por los compuestos oxidados, posiblemente mediante reacciones de grupos sulfhidrilos o por interacciones no específicas con proteínas (Domingo, 2003).

Figura 5: Estructura química de los fenoles.



Ácido gálico



Ácido cafeico

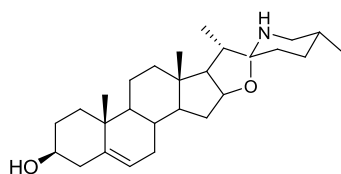
Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

Alcaloides

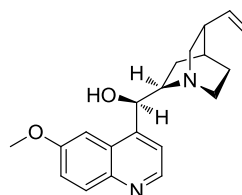
Reciben esta denominación los compuestos nitrogenados heterocíclicos procedentes del metabolismo de aminoácidos; de proceder de otra vía, se

define como pseudoalcaloide. Poseen una gran diversidad estructural con más de 12000 estructuras (Domínguez, 1973). Pertenecen a este grupo, entre otras la solasodina y la quinina (Ver figura 6). El mecanismo de acción de los alcaloides parece ser mediante intercalación entre la pared celular y el ADN del microorganismo (Domingo, 2003).

Figura 6: Estructura química de los alcaloides.



Solasodina



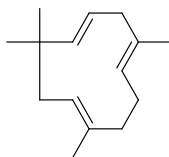
Quinina

Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

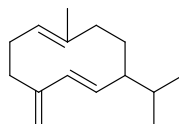
Terpenoides

Los terpenos e isoprenoides son una vasta y diversa clase de compuestos orgánicos derivados del isopreno (o 2-metilbuta-1,3-dieno), un hidrocarburo de 5 átomos de carbono. Tradicionalmente se han considerado derivados del 2-metil-butadieno más conocido como isopreno (Domínguez, 1973). Estas sustancias poseen propiedades farmacodinámicas muy variadas en relación con las diferentes funciones ligadas a su esquelético terpénico. Algunos de ellos son el α -humuleno, el germacreno-D y el α -cadinol (Ver figura 7). El geranil, cineol y linalol tienen propiedades antisépticas. El ascaridol, tiene propiedades vermífugas (Jardín Botánico, 2004)

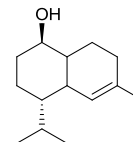
Figura 7: Estructura química de algunos terpenoides.



α -humuleno



Germacreno-D



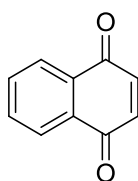
α -cadinol

Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

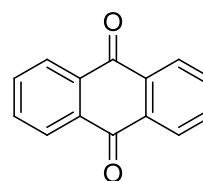
Quinonas

Las quinonas son isómeros de la ciclohexanodiona o bien un derivado de los mismos. Los dos isómeros son la *orto*-benzoquinona (*o*-benzoquinona), que es la 1,2-diona, y la *para*-quinona (*p*-benzoquinona), que es la 1,4-diona. La *para*-benzoquinona es la forma oxidada de la hidroquinona y la *orto*-benzoquinona es la forma oxidada del catecol (1,2-dihidroxibenceno). (Domínguez, 1973). Entre ellos tenemos la 1,4-naftoquinona y la 9,10-antraquinona (Ver figura 8). Estos son anillos aromáticos con dos funciones: se ubican en la naturaleza y son causantes del color marrón que se produce en las frutas cuando se dañan. Poseen una alta reactividad, formando complejo con los aminoácidos hidrofílicos de las proteínas y anulando su función. Debido a esto, el potencial antimicrobiano de este grupo es amplio (Domingo, 2003).

Figura 8: Estructura química de algunas quinonas.



1,4-naftoquinona



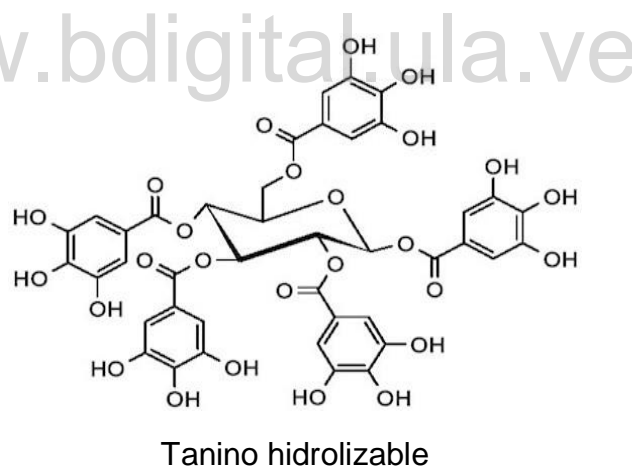
9,10-antraquinona

Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

Taninos

Constituyen un grupo de sustancias fenólicas poliméricas y se pueden dividir en hidrolizables y condensados, en función de que puedan o no ser hidrolizados. Los hidrolizables por ácidos, álcalis y enzimas son poliésteres de un azúcar o un poliol y un número variable de ácidos fenólicos (Ver figura 9). Los condensados o proantocianidinas (oligómeros y polímeros flavánicos) son unidades de flavan-3-oles o catequinas unidas por enlaces C-C (Domínguez, 1973). Estas son sustancias de origen vegetal, no nitrogenadas de estructura polifenólica, solubles en agua, alcohol y acetona, son de sabor astringente y tiene la propiedad común de curtir la piel, haciéndola imputrescible e impermeable al fijarse sobre sus proteínas. Se han descrito más de 30 taninos que pueden inhibir hongos y bacterias (Domingo, 2003).

Figura 9: Estructura química de un tanino hidrolizable.



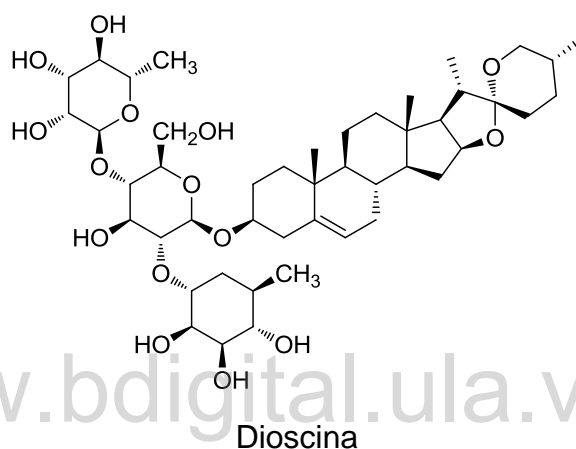
Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

Saponinas

Las saponinas son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades semejantes a las del jabón. Cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (el esteroide o el triterpenoide)

y un elemento soluble en agua (el azúcar), y forman una espuma cuando se las agita en agua (Domínguez, 1973). Son los componentes principales de varios extractos de plantas, tienen actividad antiprotozoaria, entre ellos la dioscina (Ver figura 10). Las saponinas se unen al colesterol y otros esteroides de la membrana celular de los protozoos causando su inestabilidad, lisis y muerte celular (Domingo, 2003).

Figura 10: Estructura química de una saponinas.



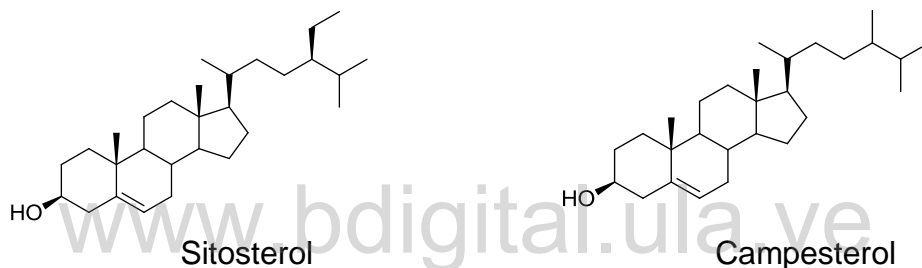
Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

Esteroides y triterpenos

Los esteroides poseen de 27 a 29 átomos de carbono. Su estructura química deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno o esterano, una molécula de 17 carbonos formada por tres anillos hexagonales y uno pentagonal. En los esteroides, se añade una cadena lateral de 8 o más átomos de carbono en el carbono 17 y un grupo alcohol o hidroxilo (-OH) en el carbono 3 (Ver figura 11). Los triterpenos son los terpenos de 30 carbonos, por lo general son generados por la unión cabeza-cabeza de dos cadenas de 15 carbonos (Ver figura 12) cada una de ellas formadas por unidades de isopreno unidas cabeza-cola (Domínguez, 1973).

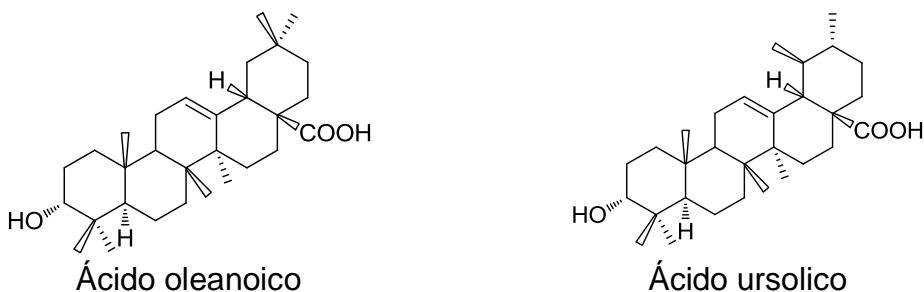
Los compuestos esteroidales pueden interferir en determinados procesos de síntesis vitales en la célula bacteriana y los triterpenos por su parte, pueden actuar siguiendo diversos mecanismos en dependencia de su naturaleza química: Los de naturaleza hidrocarbúrica, por ejemplo, tienen generalmente acción depresora sobre la tensión superficial lo cual, cuando tiene lugar en el entorno de la célula bacteriana, altera la selectividad de la membrana citoplasmática para el intercambio de sustancias. Los triterpenos de naturaleza alcohólica pueden alterar la naturaleza coloidal del protoplasma de la célula provocando su muerte (Domingo, 2003).

Figura 11: Estructura química de algunos esteroides.



Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

Figura 12: Estructura química de algunos triterpenos.

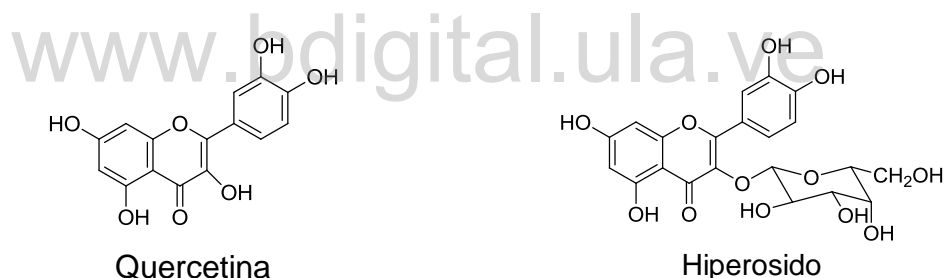


Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

Flavonoides

Los flavonoides tienen como estructura base, un esqueleto de C6-C3-C6 que pueden sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua (Ver figura 13). Los flavonoides que conservan su esqueleto pueden clasificarse, según las isomerizaciones y los grupos funcionales que le son adicionados, en 6 clases principales: las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles, las antocianinas y los taninos condensados. Los flavonoides poseen propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas. En las plantas los flavonoides actúan como antioxidantes, especialmente las catequinas del té verde (Domínguez, 1973).

Figura 13: Estructura química de algunos flavonoides.

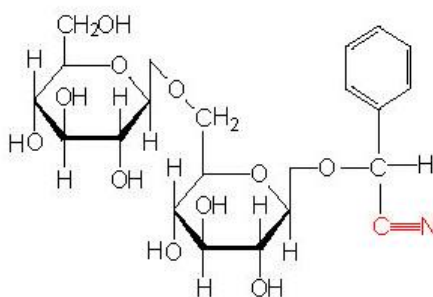


Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

Glucósidos cianogénicos

Los glucósidos cianogénicos tienen como estructura general un grupo nitrilo unido a un carbono que tiene unido a su vez un azúcar mediante un enlace glicosídico y dos grupos distintos que varían dependiendo de cuál sea el glucósido (Ver figura 14). Estos cumplen funciones de defensa, ya que al ser hidrolizados por algunas enzimas liberan cianuro de hidrogeno proceso llamado cianogénesis (Domínguez, 1973).

Figura 14: Estructura química de los glucósidos cianogénicos.



Fuente: Rojas, Contreras y Santiago, 2019.

Generalidades de los Extractos Vegetales

Los extractos vegetales se han definido como un concentrado obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol, éter y otros, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca (Ruiz y Susunaga, 2000). Los extractos de plantas proporcionan una fuente excelente de propiedades naturales biológicamente activos, una de las características de los extractos es que se pueden presentar varios efectos, ya que el ingrediente activo puede tener un efecto sobre una plaga, un hongo o una bacteria (Cháves, 2008).

Métodos para la obtención de extractos vegetales

Existen diferentes métodos para la obtención de extractos vegetales entre ellos la extracción bajo reflujo, por soxhlet, sólido-líquido, digestión, decocción y maceración, sin embargo solo detallara la técnica empleada en esta investigación.

Extracción mediante Maceración

La maceración es una extracción que consiste en remojar dicho material debidamente fragmentado, en un disolvente permitiendo mayor área de contacto del sólido y el disolvente hasta que este penetre y disuelva las porciones solubles. El proceso ha de buscar que el sólido y el líquido estén en movimientos continuos mediante agitación, para lograr mejor eficiencia en la operación. Se realiza preferiblemente a temperatura y presión ambiente, se puede utilizar cualquier recipiente; en éste se coloca el sólido con el disolvente y se deja en reposo por un período de 72 horas. Para este método los disolventes más utilizados son los hidrocarburos alifáticos (pentano, hexano), hidrocarburos aromáticos (benceno, tolueno) y menos frecuente los hidrocarburos halogenados. Al final del proceso se filtra el líquido obtenido, se exprime el residuo, y los solventes se recuperan por destilación y pueden ser reutilizados (Bruneton, 1991).

Generalidades del Estudio Fitoquímico

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. Cuando se investigan muchos extractos de plantas, esto constituye una ventaja ya que permite descartar todas aquellas especies que no tienen potencial para ser utilizadas para algún beneficio farmacológico, quedando solamente las que sí lo tienen. El tamizaje fitoquímico consiste en la obtención de extractos de plantas con solventes apropiados, tales como agua, hexano, alcohol, cloroformo y éter. Otro solvente, el diclorometano, se usa específicamente para la extracción de terpenoides. Posterior a la extracción, se llevan a cabo reacciones de coloración, las cuales son reacciones sensibles, reproducibles y de bajo

costo de esta manera permite identificar los metabolitos secundarios encargados de una determinada actividad biológica (Marcano y Hasegawa, 2002). Las reacciones cualitativas que se realizaron en este trabajo fue la determinación de: alcaloides, esteroides y/o triterpenos, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, antraquinonas, cumarinas y taninos de las cuales se explica el procedimiento posteriormente.

Técnicas Cromatográficas

Son técnicas que se basan en la separación de sustancias que se encuentran presente en una mezcla compleja, entre dos fases inmiscibles, una móvil y otra estacionaria. Las moléculas pertenecientes al soluto de la mezcla son retenidas por la fase estacionaria y arrastradas por la fase móvil, de modo que, si los componentes de la mezcla presentan afinidades diferentes por algunas de las fases, sus velocidades medias de avance a lo largo del sistema serán diferentes. Ya que la afinidad será determinada por la fuerza de tipo Van der Waals, puentes de hidrógenos o transferencia de cargas. Los componentes que sean retenidos fuertemente por la fase estacionaria migraran más lento a lo largo de dicha fase que aquellos que se unen débilmente. Las consecuencias de esta diferencia de movilidad de los componentes de las mezclas logran la separación de bandas discretas las cuales pueden analizarse cualitativa o cuantitativamente mediante el uso de detectores adecuados (Skoog, 2008).

La cromatografía es una técnica muy versátil, que permite la separación tanto de mezcla como la purificación de los productos, la determinación del grado de pureza de un compuesto, el seguimiento de reacciones o la detección y caracterización de compuestos. Su principal ventaja frente a otros métodos de separación y purificación es que las técnicas cromatográficas se pueden clasificar atendiendo varios criterios: naturaleza de las fases (las cuales son sólido, líquido, gas), relación de polaridad de las

fases (fase normal, fase inversa), mecanismo de separación (adsorción, exclusión, intercambio iónico, reparto, afinidad), disposición de las fases (en columna en plano) y forma del desarrollo del proceso (frontal, de desplazamiento, de elución) (Dean, Merritt, Settle, Willard, 1990). Los tres métodos más utilizados son la cromatografía de columna (CC), la cromatografía en capa fina (CCF), la cromatografía de gases (CG) y la de Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) esta última fue la técnica empleada para la identificación de los diferentes compuestos de la planta en estudio y la que se explicara a continuación.

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Según Baqueros (2006), explica que la cromatografía de gas-líquido o cromatografía de gases se emplea para sustancias volátiles. En la que se utiliza como fase móvil un gas y como fase estacionaria un líquido contenido en una columna capilar, de pequeño diámetro y de varios metros de longitud que van enrollados en el interior del cromatógrafo. Se trabaja a temperaturas elevadas para que los componentes de la mezcla se mantengan volatizados. Es una técnica bastante selectiva, muy recomendada, un método cualitativo y cuantitativo a su vez.

La técnica de cromatografía de gases puede ser acoplada con la espectrometría de masa para obtener el espectro de masa de cada componente obteniéndose el peso molecular e información estructural. Existen bases de datos con espectros de masas de muchos componentes y recientemente se ha logrado desarrollar columnas cromatográficas quirales para la separación de componentes ópticamente activos. Con la espectrometría de masas no solo es factible determinar los picos de una especie, sino también identificar los diversos componentes sin resolver. En la combinación cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas, el efluente de la columna se introduce directamente en la cámara de ionización de dicho

espectrómetro de forma que se elimine la mayor parte del gas portador. En la cámara de ionización, se ionizan todas las moléculas y los iones se separan de acuerdo con su cociente masa/carga, que se utiliza para identificar el compuesto (Segovia y Suárez, 2010).

Las Bacterias

Las bacterias junto con los protozoos, los hongos y las algas, pertenecen a la categoría de los microorganismos, que son formas de vida microscópica. La bacteria es indispensable para la vida en la Tierra y existe en los más diversos ambientes. Es el organismo que se encuentra en mayor abundancia en nuestro planeta. Hay bacterias que conviven dentro de otros organismos en relaciones simbióticas llamadas endosimbiontes, el ejemplo más común es la flora bacteriana de nuestro tracto digestivo que nos ayuda a procesar nutrientes que no somos capaces de digerir sin su ayuda. Presentan las siguientes características: son procariontes por lo que no tiene núcleo y están formados por un único cromosoma, tienen un ADN singular y circular en el citoplasma (Barrios, 1988).

Se reproducen mediante fisión binaria o división celular, el ADN se divide y luego se divide también su citoplasma para crear dos células hijas. Posee una pared celular compuesta de peptidoglicano muy resistente por ser de cadena recta y no ramificada, tienen diferentes métodos de metabolismos y de hábitats, algunos tienen cilios o flagelos y pertenecen al reino monera. Según su forma, las bacterias son generalmente clasificadas en: bacilos (bastón), espirilos (espirales) o cocos (esféricos) (Fuller, 2007).

Con la tinción de Gram, ciertas bacterias retienen la tinción (Gram-positivas) mientras que otras no lo hacen (Gram-negativas). El procedimiento de la tinción de Gram requiere dos colorantes: cristal violeta o violeta de genciana como colorante principal y safranina como colorante de contraste. Vistas con el microscopio las bacterias Gram-positivas aparecen de color

violeta y las Gram-negativas de rosa. La naturaleza de la membrana de la célula bacteriana determina la clasificación según la coloración de Gram y su respuesta a antibióticos específicos. Los antibióticos se describen como eficaces contra microorganismos Gram-negativos, Gram-positivos o contra ambos tipos de bacterias. La coloración de Gram revela las formas de las bacterias individuales y ayuda a su identificación (Fuller, 2007).

Los bacilos tienen forma alargada y se disponen de manera aislada o en pares, cadenas o filamentos. Entre los ejemplos de bacilos patógenos y las enfermedades que produce se pueden citar *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculosis), *Clostridium perfringens* (gangrena gaseosa) y *Escherichia coli* (necrosis de tejidos y de órganos). Las espiroquetas presentan forma curva o espiralada, entre los patógenos de este grupo se encuentra *Treponema pallidum* (sífilis) y *Vibrio cholerae* (cólera). Los cocos son bacterias esféricas que se disponen en forma aislada (micrococos), en cadenas (estreptococos), de a pares (diplococos) o en racimos (estafilococos). Ejemplos de cocos patógenos son *Streptococcus pneumoniae* (neumonía) y *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrea) (Fuller, 2007).

Algunas bacterias presentan flagelos que son apéndices similares a colas que le permiten a los bacilos y a las espiroquetas moverse con libertad en su ambiente. Los cocos no presentan movimiento independiente. Los flagelos determinan la movilidad bacteriana y pueden colaborar para que ciertas bacterias causen enfermedad. En las úlceras gástricas, el *Helicobacter pylori* utiliza sus poderosos flagelos para penetrar la mucosa viscosa que reviste el estómago. Los pilis (pilosidades) son más cortos que los flagelos y actúan en el movimiento de sacudida y de deslizamiento en la transferencia de DNA entre las células y en la adherencia de las células bacterianas a la superficie que recubre las células epiteliales. Algunas cepas de *E. coli* tienen adhesinas que se adhieren a los receptores de la superficie de las células epiteliales

que recubren el intestino delgado y causan una diarrea acuosa grave. Estos pilis se denominan fimbrias (Fuller, 2007).

Las bacterias se reproducen a través de un proceso conocido como fisión binaria, en el cual las células simplemente se separan. Sin embargo, antes de sufrir este proceso la bacteria debe duplicar su material genético. Este puede transferirse de una bacteria a otra y de una bacteria a un virus y luego a otra bacteria. Todas estas adaptaciones evolutivas mejoran la capacidad de las bacterias para sobrevivir. La espora bacteriana (denominada endospora) es una fase de latencia en el ciclo reproductivo de algunas bacterias. En esta etapa, las bacterias forman una pared gruesa, con múltiples capas proteicas alrededor del material genético. Esta pared resiste las condiciones ambientales extremas como la ebullición, el desecado, la destrucción química y la presión elevada. Cuando las condiciones ambientales se tornan favorables, la espora se convierte en activa y comienza su colonización normal. Todo método para esterilizar un objeto debe ser capaz de destruir las esporas. Este es el estándar principal de todos los procesos de esterilización (Fuller, 2007).

Las bacterias pueden sobrevivir en ambientes hospitalarios. Los parámetros ambientales importantes para la reproducción son la temperatura, la concentración de oxígeno, el pH, la humedad y la presión atmosférica. Las bacterias están omnipresentes en la naturaleza y viven en muy distintas condiciones. Las que se reproducen en los seres humanos suelen requerir condiciones más moderadas. Algunas bacterias pueden formar esporas que resisten las condiciones extremas como variaciones de temperatura de -20 a 90 °C. no se ha informado que los miembros Archaea muy similares a las bacterias en tamaño y forma, produzcan enfermedades en los seres humanos ni en los animales; viven en condiciones extremas como ambientes con concentraciones elevadas de sales, pH bajo y temperatura elevada, y se los puede encontrar en ambientes helados,

manantiales de aguas termales, áreas con altos contenidos de sales de un océano y materia orgánica en descomposición (Fuller, 2007).

Las bacterias presentan grandes variaciones respecto a los requerimientos de oxígeno. Un aerobio estricto es un microorganismo que precisa oxígeno para vivir y desarrollarse. Un anaerobio no necesita oxígeno para la reproducción. Algunos anaerobios pueden vivir en presencia de concentraciones variadas de oxígeno ambiental, mientras que otros son muy sensibles a cualquier concentración. Estos últimos se denominan anaerobios estrictos. La importancia de los anaerobios en la infección es su capacidad de proliferar en heridas traumáticas profundas o quirúrgicas. Los anaerobios facultativos pueden reproducirse en presencia o en ausencia de oxígeno ambiental (Fuller, 2007).

Existen también bacterias patógenas que son nocivas para nuestro organismo y son observadas con frecuencia en el ámbito hospitalario. Las bacterias que causan infección con producción de pus se denominan piógenas. En este grupo se incluyen los microorganismos estreptocócicos, estafilocócicos, meningocócicos, neumocócicos y gonocócicos, y los bacilos coliformes (intestinales). De modo típico, estos microorganismos producen supuración y destrucción tisular que pueden conducir a un compromiso sistémico que da por resultado la muerte (Fuller, 2007). Sin embargo, esta investigación se enfocó en las bacterias que se utilizaron para evaluar la actividad antibacteriana entre las que se encuentran:

Staphylococcus aureus

Es la causa más extendida de infección en el sitio quirúrgico. Es una bacteria Gram-positiva residente en la piel transmitida a la herida quirúrgica por contacto directo o indirecto con el personal sanitario, objeto contaminado u otro paciente. *S. aureus* puede invadir con facilidad el sistema circulatorio desde la piel o el aparato respiratorio superior y diseminarse por todo el

organismo. Entre el 30 y el 70% de las personas son portadoras cutáneas y entre el 30 y el 50% son portadoras nasales. El microorganismo causa endocarditis cuando coloniza las válvulas cardíacas y osteomielitis cuando invade el hueso. Cuando esta limitada a la herida quirúrgica, produce una gran cantidad de pus, que puede diseminarse y erosionar los tejidos. También causa forúnculos, ántrax y abscesos (Fuller, 2007).

S. aureus resistente a la meticilina es una cepa diferente de *S. aureus* resistente a la penicilina (el antibiótico que suele utilizarse para combatir la infección producida por *Staphylococcus*). La aparición de una cepa nueva con resistencia parcial a los antibióticos, la cepa *S. aureus* con resistencia intermedia a la vancomicina, puede producir finalmente un microorganismo con resistencia completa a la vancomicina. Cada vez se observan más sobreinfecciones con estos microorganismos en el ambiente hospitalario. Un objetivo fundamental para los profesionales sanitarios es la identificación de la causa de cepas resistentes a los antibióticos (Fuller, 2007).

Enterococcus faecalis

Es una bacteria Gram-positiva comensal, que habita el tracto gastrointestinal de humanos y otros mamíferos, puede causar infecciones comprometidas en humanos, especialmente en ambiente de hospital. La existencia de enterococos se potencia porque ha tenido la habilidad de adquirir resistencia a prácticamente todos los antibióticos en uso. Son indicadores de contaminación fecal, por lo que su presencia en los alimentos indica falta de higiene o defectuosas condiciones de conservación, excepto en alimentos en los que interviene como flora bacteriana natural de procesos fermentativos, como es el caso de quesos, embutidos crudos e incluso productos cárnicos. Son muy resistentes a condiciones adversas como congelación, desecación y tratamientos térmicos, por lo que son buenos indicadores para valorar las condiciones higiénicas y de conservación de los

alimentos congelados y desecados. Es una bacteria inmóvil, anaerobia facultativa, puede vivir en ambientes extremos que incluyen pH altamente alcalino de 9,6 y elevadas concentraciones de sal. *E. faecalis* puede causar endocarditis, infecciones de vejiga, próstata, epidídimo; las infecciones de sistema nervioso son menos comunes (Ruiz y Guillén, 2005).

Klebsiella pneumoniae

Es la especie de mayor relevancia clínica dentro del género bacteriano *Klebsiella*. Son bacterias Gram-negativas, está implicada principalmente en infecciones nosocomiales. Es el agente causal de infecciones del tracto urinario, neumonías, sepsis, infecciones de tejidos blandos, e infecciones de herida quirúrgica. Son especialmente susceptibles los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos, neonatos, pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), diabetes mellitus o alcohólicos. Causa alrededor del 1% de las neumonías bacterianas y puede causar condensación hemorrágica extensa del pulmón. Además, en ocasiones provoca infección del aparato urinario y bacteriemia a partir de lesiones focales en pacientes debilitados que puede terminar con la vida del paciente. Algunas de las complicaciones más frecuentes son el absceso pulmonar y el empiema. También suele encontrarse en las infecciones de la toracotomía para realización de by pass o revascularización coronaria (Ruiz y Guillén, 2005).

Escherichia coli

Es una bacteria coliforme Gram-negativa que forma parte de la flora residente del tubo digestivo de las personas sanas, donde no causan daño. Sin embargo, si sale de él, como sucede durante la rotura o la lesión intestinal, pueden producir peritonitis u otras infecciones localizadas y supurativas graves. Es la tercera causa mas frecuente de infección del sitio quirúrgico. La contaminación suele suceder por transmisión indirecta mediante

objetos contaminados, como un endoscopio o una sonda urinaria. La transmisión directa ocurre cuando en forma intencional o accidental se aborda el tubo digestivo durante la cirugía y el contenido intestinal se derrama en la cavidad peritoneal estéril. Debido a la íntima proximidad del meato urinario con el ano en especial en las mujeres, *E. coli* es la causa más frecuente de infecciones urinarias. Una vez en el torrente circulatorio puede producir la siembra en otros órganos y causar una destrucción grave de los tejidos (Fuller, 2007).

Pseudomonas aeruginosa

Es un microorganismo Gram-negativo aerobio que se encuentra en el tubo digestivo normal, y en las aguas servidas, la suciedad y el agua. Es un patógeno que afecta cada vez más pacientes. Puede infectar casi todos los sistemas corporales. Los pacientes con quemaduras tienen una susceptibilidad particular a la infección por *Pseudomonas*. Puede causar septicemia (infección vascular sistémica), osteomielitis (infección ósea), infección urinaria y endocarditis (infección de la membrana que recubre el corazón). Los pacientes se infecta por contacto directo o indirecto con las bacterias en su ambiente. Estas bacterias son resistentes a los antibacterianos y sólo se controlan con ciertos fármacos potentes, la mayoría de los cuales son tóxicos en dosis lo suficientemente grandes como para erradicar la enfermedad del cuerpo. Algunas cepas de *P. aeruginosa* son resistentes a los fármacos (Fuller, 2007).

Generalidades de la Actividad Antibacteriana

La actividad antibacteriana es producto de una sustancia de origen biológico o sintético, capaz de interferir en las funciones vitales de las bacterias, a través de un conjunto de procesos que ejercen efecto incluso a dosis muy bajas, estas sustancias pueden impedir el desarrollo y multiplicación de los microorganismos o células, las cuales se denominan

bacteriostáticas, o destruir un grupo determinado de microorganismos produciendo la lisis y muerte, en cuyo caso se denominan bactericidas (Kuklinski, 2000). Este proceso se lleva a cabo a través de medios de cultivo que contienen el agente antimicrobiano, el efecto que esta ejerce depende de su mecanismo de acción puesto que ellos pueden: inhibir la síntesis de la pared celular bacteriana, la función de la membrana citoplasmática, la síntesis de proteínas o bien la síntesis de ácidos nucleicos (Vivas, 2000). De allí pues, se permite conocer la resistencia y la sensibilidad de los microorganismos ante los agentes antimicrobianos (Barrios, 1988).

Métodos para determinar la actividad antibacteriana

Rojas, García y López (2004), enfatizan que; en las últimas décadas se ha contado con diversos métodos para evaluar la actividad antimicrobiana de sustancias sintéticas. Estos métodos suelen ser aplicados en el ámbito hospitalario como el caso de difusión en agar con disco y en pozo (Kirby-Bauer), método de dilución en caldo o agar, no solo para hallar la potencia sino también la resistencia de algunos microorganismos a ciertos antibióticos. Aunque en teoría cualquiera de los métodos anteriormente mencionados podría utilizarse para hallar la actividad antimicrobiana de extractos vegetales cada uno posee ciertos inconvenientes, razón por la cual en algunos casos es necesario realizar modificaciones para que estas metodologías sean adecuadas, reproducibles y fiables.

Método de difusión

Método de Kirby-bauer en disco y en pozo

El método de difusión en agar, está apoyado por datos clínicos y de laboratorios; y presenta la ventaja que sus resultados son altamente reproducibles. La técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer. Este método de difusión en disco o en pozo fue estandarizado y

es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, 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 (Malbrán, 2012).

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. La técnica con sensidiscos presenta varias desventajas; una de ellas es la composición del papel filtro Whatman el cual se compone de celulosa, los cuales tienen muchos grupos hidroxilos libres presentes en cada glucosa, haciendo que la superficie del disco sea hidrofílica, interviniendo directamente con algunos compuestos catiónicos de los productos naturales absorbiéndolos en la superficie del disco e impidiendo la difusión de estos en el agar, los compuestos apolares pueden no ser influenciados por dichos grupos hidroxilos y difundir fácilmente en el agar. Esto puede explicar en parte la más alta sensibilidad detectada cuando el método se utiliza directamente en pozo (Malbrán, 2012).

En el caso de evaluar varias sustancias los discos de papel filtro o los pozos deben ponerse en forma equidistante. 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. Algunos autores refrigeran las cajas a 4 °C para permitir la predifusión de los extractos antes

de la incubación. Es necesario señalar que el tamaño del halo de inhibición es influenciado por varios factores, entre ellos; medio de cultivo en que se realiza la prueba, capacidad de difusión del compuesto, cantidad de inóculo, tiempo de generación del microorganismo, sensibilidad al antibiótico, y período de incubación. Cualquier variación de estos factores puede afectar el resultado de la prueba, sin embargo, al emplear un procedimiento estándar es posible obtener resultados confiables (Malbrán, 2012).

Método del Épsilon test

El principio de este método es una expansión de la técnica de difusión en disco. En el método E-test podemos, mediante lectura directa, determinar la concentración inhibitoria mínima (CMI). Consiste en una tira de plástico no poroso de 6 cm de largo por 5 mm de ancho que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano equivalente a 15 diluciones. El protocolo para preparar el inóculo es el mismo que para la difusión en disco. Siguiendo el método de difusión, una vez inoculada la placa de agar con el microorganismo, se coloca la tira de E-test sobre su superficie, produciéndose de forma inmediata una difusión del antibiótico desde el soporte hasta el agar, creándose de este modo a lo largo de la tira un gradiente exponencial de las concentraciones del antimicrobiano. Tras la incubación de las placas, se puede observar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica. Después de la incubación la CMI será el valor obtenido en el punto en el que el extremo de inhibición intersecciona con la tira (Picazo, 2000).

Método de dilución

Dilución en agar

En estos métodos se incorpora el antimicrobiano a evaluar a un medio con agar. El antimicrobiano se añade cuando el medio aún está fundido.

Para lograr el rango de dilución deseado se prepara una serie de placas, cada una con una determinada concentración de antimicrobiano. Las placas se inoculan con un replicador una vez que se haya solidificado el medio de cultivo. El número de placas de cada concentración a preparar vendrá dado por el número de microorganismos que se vaya a estudiar, teniendo en cuenta que la mayoría de los replicadores permiten inocular entre 32 y 36 organismos (Picazo, 2000).

Definición Operacional de Términos

Tejido vegetal

Deriva de la división consecutiva de las células que componen el embrión de la semilla que se forma luego de la fecundación que se da en las plantas, se encarga del propio desarrollo de la planta, fotosíntesis, almacenamiento de sustancias, respiración, crecimiento y reparación de daños. En una planta pueden existir varios tipos de tejidos que se diferencian según su función, entre ellos están, los tejidos protectores, conductores, tejidos de crecimiento, parenquimáticos, de sostén, secretor y meristemáticos (Vivas, 2000).

Cepa bacteriana

Es un término que se acuña dentro de los campos de la microbiología. Son microorganismos de tipo fenotípico que representan una proporción derivada de un organismo mayor, como una muestra de estudio. Las cepas contienen información biológica que es de interés científico. Son obtenidas por lo general a través del procedimiento de la clonación. Lo que en una cepa esta contenido, es la matriz de la que se desprenderá el resto de los datos o productos que conformarán la cosa en estudio (Vivas, 2000).

Medios de cultivo

Es una sustancia o solución que permite el crecimiento de uno o más microorganismos, establecido con fines experimentales o industriales. Puede ser puro es decir, cultivo de un solo microorganismo y su progenie o clonal de un microorganismo libre de todo contaminante (French y Hebert, 1980).

Antibiograma

Es el estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los agentes antimicrobianos, mediante pruebas que evalúan el comportamiento de un microorganismo ante uno o varios antimicrobianos. Los resultados obtenidos de estos ensayos proporcionan una valiosa información acerca de la posibilidad de tratar con éxito mediante un agente antimicrobiano específico a un paciente infectado con el microorganismo aislado (Ramírez, García, Longa, Sánchez, Nieves, Velasco, Araque y Mosqueda, 2010).

Operacionalización de las Variables

Según Palella y Martins (2010), las variables se operacionalizan para transformar los conceptos abstractos en empíricos y de esta manera poderlos medir. Por consiguiente, se operacionalizarón el evento de la actividad antibacteriana presente en los extractos de *Tradescantia zebrina*, así como la composición química de los extractos de *Tradescantia zebrina*. Para tal fin, se consideraron las definiciones conceptuales y operacionales, así se conocerán las dimensiones y los indicadores respectivos (tablas 1 y 2).

Tabla 1: Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antibacteriana presente en los extractos de *Tradescantia zebrina*.

1.Variable	2.Tipo de variable	3.Definición conceptual ¿Qué es?
Actividad antibacteriana de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i> .	Dependiente Cuantitativa	Actividad antibacteriana, es la propiedad de ciertas sustancias que forman un compuesto, o que se hallan en una muestra capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que las porta. Son en esencia fármacos como es el caso de los antibióticos u otros agentes químicos capaces de combatir estos cuerpos (Mandell, 2002).
4.Definición operacional ¿Cómo se mide?	5.Dimensiones	6.Indicador
-Método de difusión en disco (Kirby-Bauer).	Cepas Gram-positivas: - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 - <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 Cepas Gram-negativas: - <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 - <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	-Sensible -Sensibilidad intermedia -Resistente -Presencia o ausencia del halo de inhibición frente a cepas Gram-positivas y Gram-negativas.

Fuente: Contreras, Santiago y Cordero de Rojas, 2019.

Tabla 2: Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de *Tradescantia zebrina*.

1.Variable	2.Tipo de variable	3.Definición conceptual ¿ Qué es?
Composición química de los extractos de <i>Tradescantia zebrina</i> .	Independiente Cualitativa Discreta	Metabolito secundario o producto natural que se usa como sinónimo, aquel que es propio de una especie, se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza (Marcano y Hasegawa, 2002).
4.Definición operacional ¿ Cómo se mide?	5.Dimensiones	6.Indicador
<p>-Pruebas químicas cualitativas también conocidas como Tamizaje fitoquímico.</p> <p>-Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM)</p>	<p>Para las pruebas químicas cualitativas puede haber presencia o ausencia de:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Alcaloides. -Esteroles y/o triterpenos. -Saponinas. -Compuestos fenólicos simples. -Taninos. -Flavonoides. -Quinonas y Antraquinonas. -Glicosidos cardiotónicos. -Cumarinas. -Sesquiterpenlactonas. <p>Para la CG/EM el patrón de fraccionamiento</p>	<p>-Para las pruebas químicas cualitativas reveladores químicos: sustancias incoloras que forman complejos coloreados.</p> <p>- Para la CG/EM espectros de masas para los compuestos identificados.</p>

Fuente: Contreras, Santiago y Cordero de Rojas, 2019.

Hipótesis

Después de delimitar el problema de investigación y clasificar el estudio como una investigación confirmatoria, se propuso la respuesta adelantada a la pregunta de investigación: Si existe relación de causa-efecto entre la composición química de los extractos obtenidos de *Tradescantia zebrina* y la actividad antibacteriana que presenta frente a cepas Gram-positivas y Gram-negativas.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

La investigación en general responde a ciertos objetivos. De acuerdo a cada uno de ellos, es posible derivar un tipo particular de investigación. En relación a lo anterior, la Investigación Holística ha organizado y clasificado, de igual manera sus correspondientes tipos de investigación. Específicamente pueden ser: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, confirmativa y evaluativa. Una investigación confirmatoria requiere de una explicación previa a una serie de respuestas o hipótesis, los cuales se desean confirmar (Hurtado, 2010). Es por ello que, durante esta investigación se quiere confirmar la relación que existe entre la composición química de los extractos obtenidos de *Tradescantia zebrina* y la actividad antibacteriana que presenta frente a cepas Gram-positivas y Gram-negativas.

Diseño de la Investigación

Hace explícitos los aspectos operativos de la misma. Si el tipo de investigación se define con base en el objetivo, el diseño de investigación se define con base en el procedimiento, el cual se debe determinar a través de las estrategias que se implementan para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber (Hurtado, 2010).

De acuerdo con lo antes expuesto, la presente investigación es de tipo confirmatoria, con un diseño experimental, donde se interviene sobre las variables independientes o sobre los procesos de causa-efecto y los modifica de manera intencional y planificada para ver los efectos, pero además hace un control estricto de variables extrañas para descartar que los cambios hayan sido originados por otros factores distintos a las variables independientes (Hurtado, 2010). Por tal motivo, las muestras recolectadas fueron procesadas en el laboratorio del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Laboratorio de Investigaciones de Bioquímica General de la Universidad de Los Andes.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

La población es el conjunto de elementos que se quiere conocer o investigar algunas de sus características (Arias, 2006). La unidad de investigación está representada por la planta *Tradescantia zebrina* situada en el jardín de Plantas Medicinales Dr. Luis Ruíz Terán de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, que se utilizó en el Laboratorio del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Laboratorio de Investigaciones de Bioquímica General de la Universidad de Los Andes.

Selección del Tamaño de la Muestra

La muestra es un subconjunto representativo de un universo o población (Arias, 2006). La muestra está representada por las partes áreas de *Tradescantia zebrina*. El tipo de muestra utilizada es no probabilística, respecto a que la elección de los elementos no depende de la probabilidad, sino de causas relacionadas con las características de la investigación o de quien hace la muestra. Aquí el procedimiento no es mecánico ni con base en fórmulas de probabilidad, sino que depende del proceso de toma de

decisiones de un investigador o de un grupo de investigadores (Hernández, Fernández y Baptista, 2006).

Sistema de Variable

Existen diferentes tipos de variables, la variable dependiente es la que se modifica por acción de la variable independiente, constituye los efectos o consecuencias que se miden. En relación a la variable independiente es la causa que genera y explica los cambios en la variable dependiente (Arias, 2006). Las variables que guardan relación con el objetivo de la investigación son las siguientes; variable dependiente (VD): Actividad antibacteriana presente en los extractos de *Tradescantia zebrina*. Variable independiente (VI): Composición química de los extractos de *Tradescantia zebrina*.

Instrumento de Recolección de Datos

En este trabajo de investigación se empleó la observación estructurada; como técnica, la cual consiste en visualizar la presencia o ausencia de los diferentes fitocompuestos presentes en los extractos de la planta a través de reacciones químicas cualitativas. Además de describir, la sensibilidad o resistencia de los diferentes microorganismos en estudio mediante la medición de los halos de inhibición frente a las concentraciones de los extractos obtenidos de *Tradescantia zebrina*; descritos en la tabla 4 de resultados.

Procedimientos de la Investigación

Es importante describir con detalle, paso por paso, el procedimiento que se llevará a cabo, esta descripción permite, no sólo verificar que el procedimiento utilizado cumplió con los requerimientos metodológicos del proceso, sino además hará posible que otros investigadores puedan apoyarse en la información en contextos similares (Hurtado, 2010).

El procedimiento que se empleó comprende la escogencia del material y las pruebas químicas de laboratorio (Esquema 1 y 2). En la escogencia del material se localizó la planta, se comprobó su clasificación botánica y se ubicó en la literatura química, lo cual permitió conocer sobre los posibles constituyentes químicos. Se recolectaron 899,45 gramos de la planta en fresco del jardín de plantas medicinales Dr. Luis Ruíz Terán de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Las partes aéreas de la planta *Tradescantia zebrina* fueron secadas en estufa a 40°C durante una semana, luego molidas obteniéndose 170,99 gramos de material, posteriormente se procedió a la etapa de extracción y purificación para obtener el extracto, en este caso fue extraído utilizando el método de maceración donde se utilizó 102,83 gramos del material molido, durante 72 horas, que consistió en remojar el material debidamente molido, en disolventes como hexano, diclorometano y etanol. Transcurrido el tiempo de la maceración se filtró el líquido con papel de filtro para cada uno de los disolventes empleados, donde a los líquidos filtrados se les denominó extractos de hexano, diclorometano y etanol. Posteriormente cada uno de ellos se concentró en el rotavapor a presión reducida y temperatura controlada no mayor a 45°C. Finalmente, los extractos se colocaron en frascos color ámbar, y se llevaron a secar en la estufa a 40°C (Figura 15).

Figura 15: Procedimiento de extracción según el método de maceración de las partes aéreas de *Tradescantia zebrina*.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Tamizaje fitoquímico

El estudio fitoquímico preliminar se llevó a cabo mediante reacciones químicas destinadas a determinar la presencia de metabolitos secundarios en el material vegetal, siguiendo el procedimiento según Miranda y Cuellar (2000). En tal sentido, se realizaron los siguientes ensayos:

Reconocimientos de alcaloides

En este ensayo se tomó una porción de los extractos en 3 tubos de ensayo y se le adicionaron 2 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 5% y posteriormente se introdujo en el Ultrasonic durante 2 min, para finalmente añadir 3 gotas del reactivo de Mayer, Wagner y Dragendorff respectivamente. Se considera la prueba positiva cuando aparece turbidez o precipitado en los tubos (Miranda y Cuellar, 2000).

Determinación de esteroides y/o triterpenos

En un tubo de ensayo limpio y seco se introdujo una pequeña cantidad del extracto, y se añadió 0,5 mL de anhídrido acético ((CH₃CO)₂O) y dos gotas de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄ []). La prueba se considera positiva al formarse una coloración azul o verde en la interfase que indica la presencia de esteroides, mientras que, si se torna de color rosa, rojo, magenta o violeta estaremos en presencia de triterpenos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Determinación de saponinas

Se preparó una solución acuosa del extracto y se agitó vigorosamente durante 1 minuto. En caso de presentarse espuma es necesario tomar su altura y observar si se forma de manera abundante y estable por al menos 5 minutos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Reconocimiento de Compuestos fenólicos

A 1 mL del extracto se le adiciono unas gotas de cloruro férrico (FeCl₃) al 1%. La presencia de compuestos fenólicos está determinada por la formación de una coloración que varía de azul a negro e indica la presencia de derivados del ácido gálico (Miranda y Cuellar, 2000).

Determinación de flavonoides

En un tubo de ensayo se colocó una porción representativa de cada extracto y se diluyó cada uno en sus respectivos solventes, posteriormente se adicionaron dos gotas de ácido clorhídrico concentrado (HCl []) y un trozo de magnesio metálico (Reacción de Shinoda), la aparición de una coloración naranja a rojo, indica la presencia de flavonas, si es rojo flavonoles y si es magenta flavononas (Ávila, García, Gavillan, León, Méndez, Cendejas, Rodríguez, Vela, Mendoza, Santos y Soto, 2009).

Reconocimiento de antraquinonas y cumarinas

A una porción del extracto se le adiciono una gota de hidróxido de amonio concentrado (NH_4OH []). Se considera la prueba positiva para antraquinonas al tener la presencia de una coloración roja que aparece en los dos primeros minutos, posteriormente la muestra se visualizó bajo la luz ultravioleta, la emisión de fluorescencia de color azul, indica la presencia de cumarinas (Miranda y Cuellar, 2000).

Reconocimiento de taninos

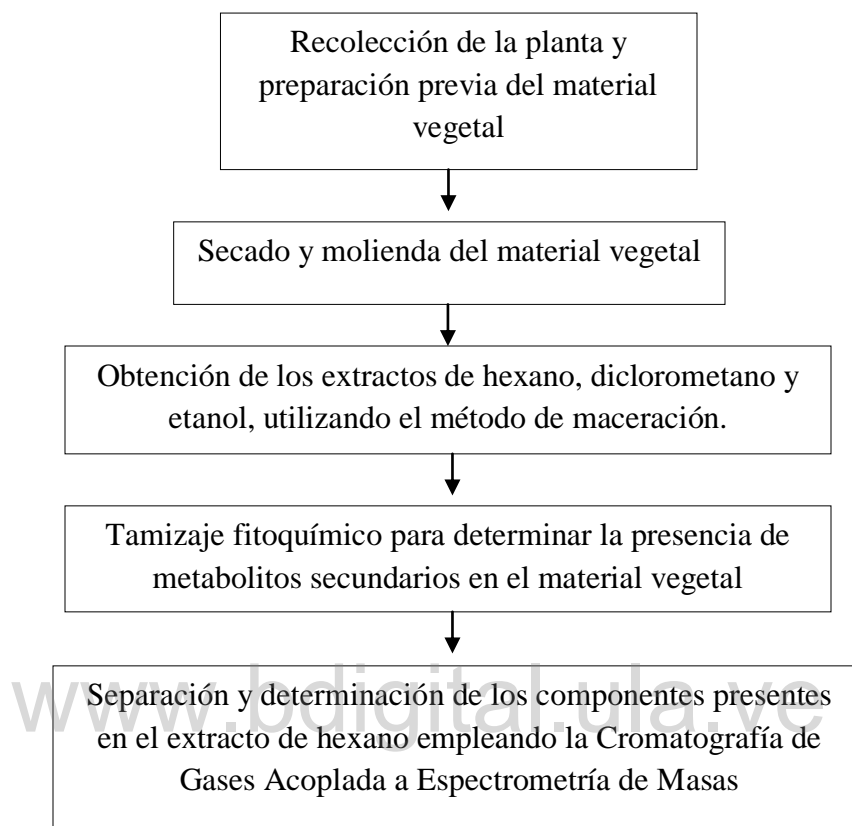
El ensayo de la gelatina se tomó 1-2 mg de la muestra y se disolvió en 2 mL de solución de gelatina. Si se observa la presencia del precipitado blanco indica la positividad de la prueba (Miranda y Cuellar, 2000).

Separación cromatográfica de los extractos

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM)

Se utilizó el equipo Hewlett Packard Modelo CG System HP6890 y Mass Selective detector 5973 serie II a 70 eV, equipado con un inyector automático, utilizando una columna capilar HP-5MS (30 m, 0,25 mm, 0,25 μm), ubicado en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Esquema 1: Procedimiento empleado para la separación e identificación de los componentes de *Tradescantia zebrina*.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Evaluación de la actividad antibacteriana

Preparación de las muestras

Para la determinación de la actividad antibacteriana se trabajó con los extractos de hexano, diclorometano y etanol, realizando las siguientes diluciones: 10000 ppm, 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,25 ppm y 15,62 ppm, utilizando dimetil sulfóxido (DMSO) como solvente (Figura 16).

Figura 16: Preparación de diluciones de los extractos de *Tradescantia zebrina*.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Selección de los microorganismos a evaluar

Se seleccionaron diferentes cepas bacterianas Gram-positivas y Gram-negativas (Tabla 3), estas fueron obtenidas del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis del Estado Mérida.

Tabla 3: Bacterias de referencia internacional (ATCC)

BACTERIAS	ATCC	TINCION DE GRAM
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Positiva
<i>Enterococcus faecalis</i>	29219	Positiva
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23357	Negativa
<i>Escherichia coli</i>	25922	Negativa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Negativa

Fuente: Nieves, Contreras y Santiago, 2019.

Preparación e inoculación del medio de cultivo sólido para las pruebas de susceptibilidad

En la preparación del medio de cultivo sólido (Müeller Hinton), se pesó y se disolvió en dos partes. La primera de ellas (aproximadamente la mitad del solvente) para diluir los ingredientes y luego se incorporó el resto del agua destilada, el cual debe tener un pH lo más cercano posible a 7,0. Como éste medio de cultivo contiene agar se calentó hasta el punto de ebullición,

evitando el excesivo calor directo de la llama, ya que pudiera destruir sustancias inhibitoras selectivas lo que conllevaría a un crecimiento exagerado de microorganismos en el medio de cultivo. El medio de cultivo preparado se vertió en placas de Petri aproximadamente 20 mL previa esterilización (Ramírez y cols, 2010).

Para la preparación de los pre-inóculos bacterianos las cepas a ensayar se incubaron en agar Müeller–Hinton a 37 °C por 16 a 18 horas antes de hacer el ensayo microbiano, ya que es en ese tiempo donde las bacterias adquieren los nutrientes necesarios para su crecimiento, específicamente cuando alcanzan su fase exponencial o de multiplicación en la curva de crecimiento bacteriano (Ramírez y cols, 2010). Una vez obtenidas las cepas bacterianas frescas y purificadas se preparó el inóculo bacteriano con la ayuda de un asa en aro estéril, tomándose de ésta manera una pequeña cantidad de colonias para luego ser suspendidas en una solución de NaCl al 0,85% previamente estéril, hasta alcanzar la turbidez del patrón de McFarland N–0,5 equivalentes a $1,6 \times 10^8$ UFC/mL.

Posteriormente se realizó la inoculación con un hisopo estéril, se tomó material del cultivo bacteriano y se descargó sobre una pequeña zona de la placa, próxima al borde, a partir de este inóculo se trazó estrías abarcando toda la placa. Se rotó la placa en sentido contrario a las agujas del reloj y se continuó estriando de tal forma que las nuevas estrías formaron un ángulo de 90°; la placa se rotó una vez más para que el inóculo se esparciera en forma homogénea para cubrir así toda la superficie.

Preparación de los discos

Los discos de papel filtro de 6 mm de diámetro se organizaron en placas de Petri de vidrio y se esterilizaron bajo luz ultravioleta (UV) por 24 horas (Figura 17).

Figura 17: Preparación de los discos.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Determinación de la actividad antibacteriana

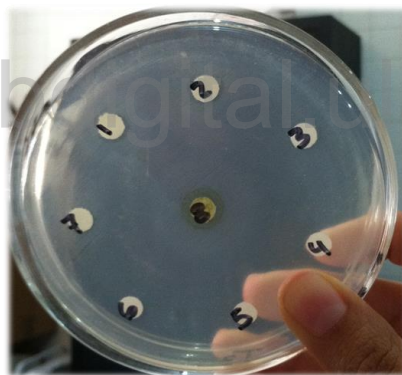
Para la evaluación de la actividad antibacteriana se utilizó el método de difusión en agar o método de Kirby-Bauer, en el cual se emplean discos de papel de filtro, impregnados con una concentración conocida de los extractos de hexano, diclorometano y etanol de *Tradescantia zebrina*. Con una pinza estéril se colocaron los discos impregnados con los extractos concentrados, los diluidos, los controles positivos (Eritromicina, piperacilina, ampicilina) y negativo (DMSO), sobre la superficie de la placa de agar de Müller Hinton, en la que se acaba de inocular la suspensión de la cepa por probar. La incubación se realizó a 37 °C durante 18 a 24 horas. Cuando el disco se humedeció, el antimicrobiano difundió radialmente hacia afuera y creó un gradiente de concentración por disco; así, el antimicrobiano estaba en alta concentración cerca del disco e iba disminuyendo a medida que se alejaba del disco.

El diámetro del anillo de inhibición depende de la sensibilidad o resistencia del microorganismo, así como también de la solubilidad de los extractos y de la tasa de difusión a través del agar. Por eso, es importante controlar muy bien el medio de cultivo, su espesor, el tiempo de incubación y la concentración de bacterias inoculadas. Las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos, la medición de esos

diámetros de inhibición y su comparación con los valores de los cuadros de referencia, permitió establecer si la cepa presentaba sensibilidad, sensibilidad media o resistencia al extracto (Rodríguez, Gamboa, Hernández y García, 2005).

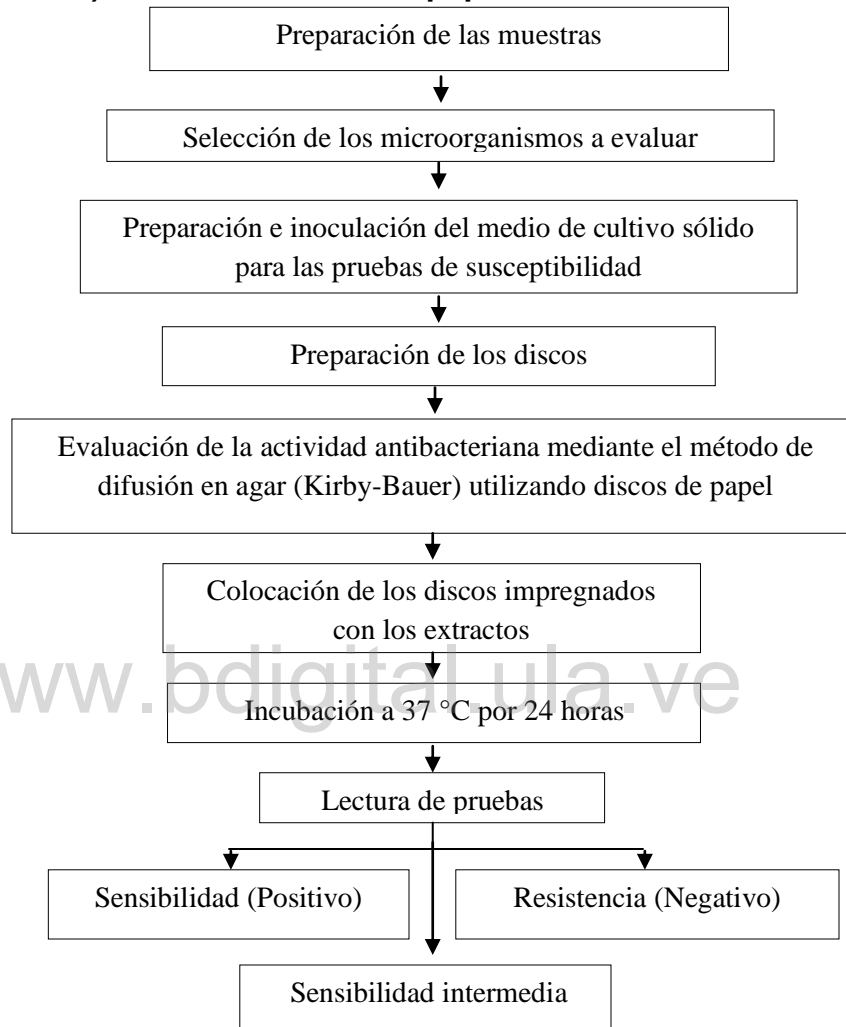
Por último se realizó la lectura de la prueba para verificar la susceptibilidad de las diferentes cepas bacterianas utilizadas (Figura 18). Se consideró como resultado positivo o sensible (actividad antibacteriana) cuando el halo de inhibición del crecimiento bacteriano se observó alrededor del disco, la ausencia de dicho halo se interpretó como negativo o resistente (sin actividad antibacteriana).

Figura 18: Prueba de susceptibilidad antibacteriana a partir de los extractos de *Tradescantia zebrina*.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Esquema 2: Procedimiento para determinar la actividad antibacteriana de los extractos de *Tradescantia zebrina* por el método de difusión en agar (Kirby-Bauer) utilizando discos de papel.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Diseño de Análisis

Hernández, Fernández y Baptista (2010), refirieron que existen dos tipos de enfoques de investigación: cualitativo y cuantitativo. La metodología cuantitativa se basa en métodos de recolección de datos con medición numérica y análisis matemático. Por lo tanto, esta investigación tiene un enfoque cuantitativo ya que se analizarán numéricamente los datos

recolectados de la unidad de estudio con el fin de medir la actividad antibacteriana, por otro lado tiene un enfoque cualitativo puesto que se evaluó la composición química mediante pruebas colorimétricas usando los extractos de *Tradescantia zebrina* en cepas Gram-positivas y Gram-negativas.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

Tamizaje fitoquímico

El análisis fitoquímico de los extractos de hexano, diclorometano y etanol obtenidos de las partes aéreas de *Tradescantia zebrina* se realizó mediante pruebas químicas cualitativas, lo cual permitió determinar la presencia de alcaloides, esteroides y compuestos fenólicos en esta planta (Tabla 4).

Tabla 4: Resultados de la caracterización fitoquímica de los extractos de *Tradescantia zebrina*.

Metabolitos	Pruebas	Extractos		
		EHTZ	EDTZ	EETZ
Alcaloides	Reacciones de Dragendorff Mayer y Wagner	-	-	+
Triterpenos y Esteroides	Reacción de Liebermann- Burchard	Esteroides ++	Esteroides ++	Esteroides ++
Saponinas	Reacción de la Espuma	-	-	-
Compuestos Fenólicos	Reacción con FeCl ₃ al 1 %	-	-	+
Flavonoides	Reacción de Shinoda	-	-	-
Cumarinas y Antraquinonas	Reacción con Hidróxido de amonio	-	-	-
Taninos	Ensayo de la gelatina	-	-	-

EHTZ: Extracto de Hexano *Tradescantia zebrina*, **EDTZ:** Extracto de Diclorometano *Tradescantia zebrina*, **EETZ:** Extracto de Etanol *Tradescantia zebrina*.

Reconocimientos de alcaloides

Se utilizaron los reactivos de Mayer, Wagner y Dragendorff, en estas pruebas solo se observó la formación de un precipitado en el extracto de hexano (Figura 19).

Figura 19: Reconocimiento de alcaloides a partir de los extractos de *Tradescantia zebrina*.

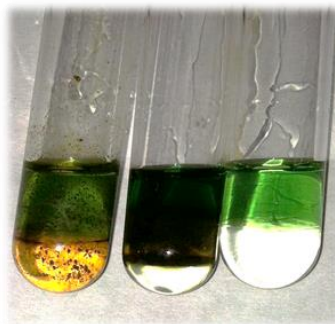


Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Determinación de esteroides y/o triterpenos

Al realizar la reacción de Liebermann-Burchard sobre los extractos de *Tradescantia zebrina* se determinó la presencia de esteroides al aparecer una coloración verde intensa en todas las muestras analizadas (Figura 20).

Figura 20: Determinación de esteroides y/o triterpenos a partir de los extractos de *Tradescantia zebrina*.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Determinación de saponinas

La prueba para establecer la presencia de saponinas en los extractos mediante la formación de espuma resultó negativa al no mantenerse el anillo de espuma después de su agitación (Figura 21)

Figura 21: Determinación de saponinas a partir de los extractos de *Tradescantia zebrina*.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Reconocimiento de Compuestos fenólicos

La presencia de compuestos fenólicos fue determinada en los extractos de *Tradescantia zebrina* al adicionar unas gotas de cloruro férrico (FeCl_3), se visualizó la aparición de un color negro en el extracto de hexano, lo que indica la presencia de este tipo de sustancias en dicho extracto (Figura 22).

Figura 22: Reconocimiento de Compuestos fenólicos a partir de los extractos de *Tradescantia zebrina*.

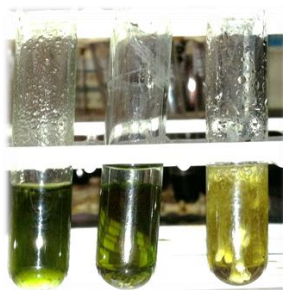


Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Determinación de flavonoides

Para la determinación de flavonoides se realizó la reacción de Shinoda, no se observó ningún cambio de color en los extractos de hexano, diclorometano ni etanol, lo cual indica que no hay presencia de flavonoles (Figura 23).

Figura 23: Determinación de flavonoides a partir de los extractos de *Tradescantia zebrina*.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Reconocimiento de antraquinonas y cumarinas

Al adicionar hidróxido de amonio concentrado (NH_4OH []) a una solución de cada extracto en estudio, se determinó la ausencia de antraquinonas ya que no hubo formación de un anillo rojo y al observar los extractos bajo la luz ultravioleta no se observó la emisión de fluorescencia de color azul, indicando la ausencia de cumarinas (Figura 24).

Figura 24: Reconocimiento de antraquinonas y cumarinas a partir de los extractos de *Tradescantia zebrina*.



Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Reconocimiento de taninos

En el ensayo de la gelatina no se observó la presencia del precipitado blanco indicando la negatividad de la prueba.

Figura 25: Reconocimiento de taninos a partir de los extractos de *Tradescantia zebrina*.



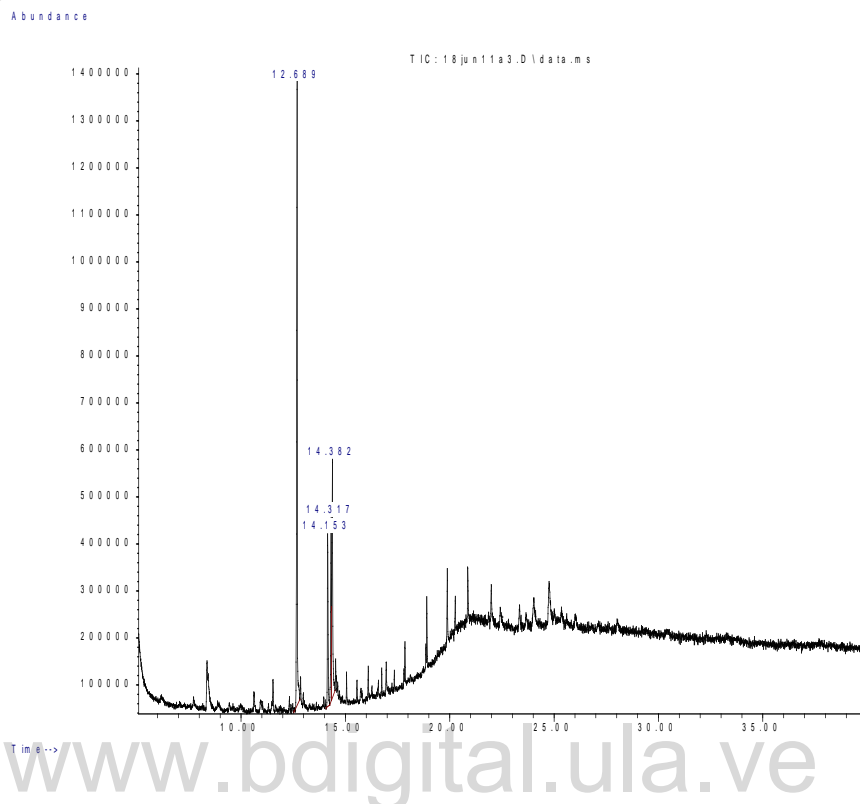
Fuente: Contreras y Santiago, 2019.

Separación cromatográfica del extracto de hexano

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM)

El extracto de hexano fue analizado empleando la CG/EM obteniéndose el cromatograma que se muestra en la figura 26 mediante el cual se logró identificar componentes como el Ácido hexadecanoico, Trans-fitol, Ácido linoleico y Ácido linolénico que representan el 87,17 % de la totalidad de las moléculas identificadas, detallando el tiempo de retención y porcentaje en la tabla 5. En las figuras 27-29 se muestran los componentes identificados con detalle.

Figura 26: Cromatograma general Extracto de hexano de *Tradescantia zebrina*.



Library Search Report/Data Path : C:\msdchem\2\sequence\18jun11aa\

Figura 27: Espectro de masa del ácido hexadecanoico obtenido del extracto de hexano de *Tradescantia zebrina*.

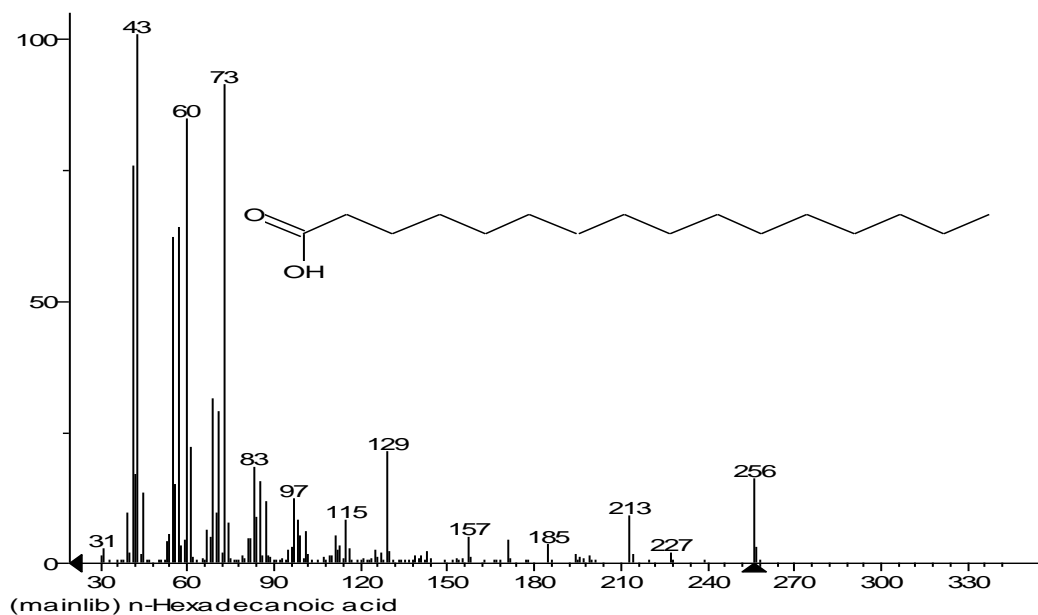


Figura 28: Espectro de masa del Trans-fitol obtenido del extracto de hexano de *Tradescantia zebrina*.

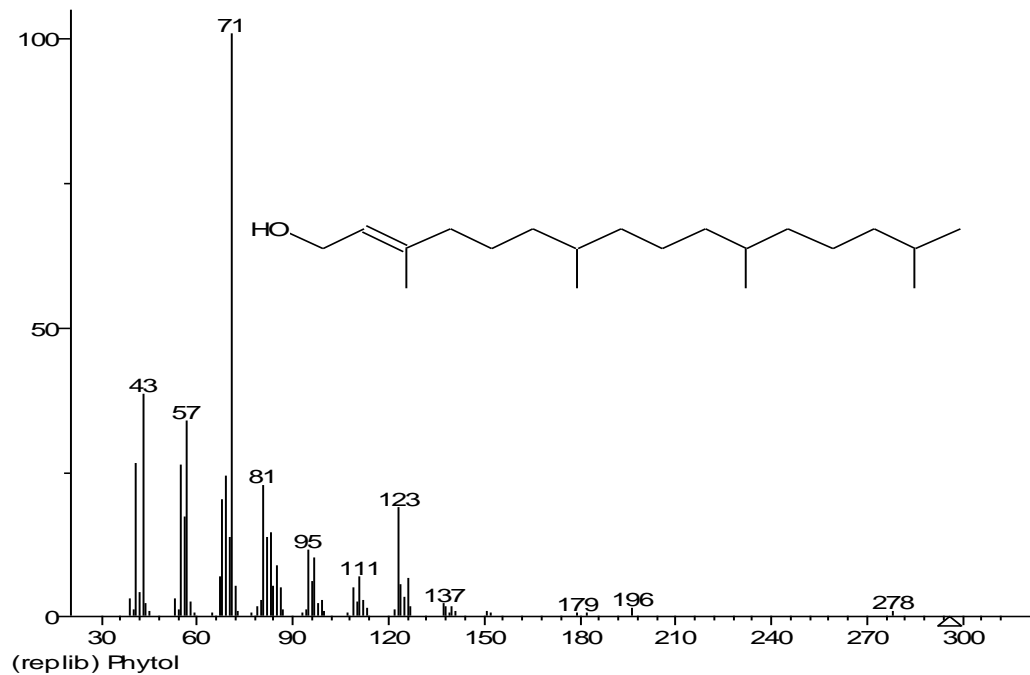


Figura 29: Espectro de masa del Ácido linoléico obtenido del extracto de hexano de *Tradescantia zebrina*.

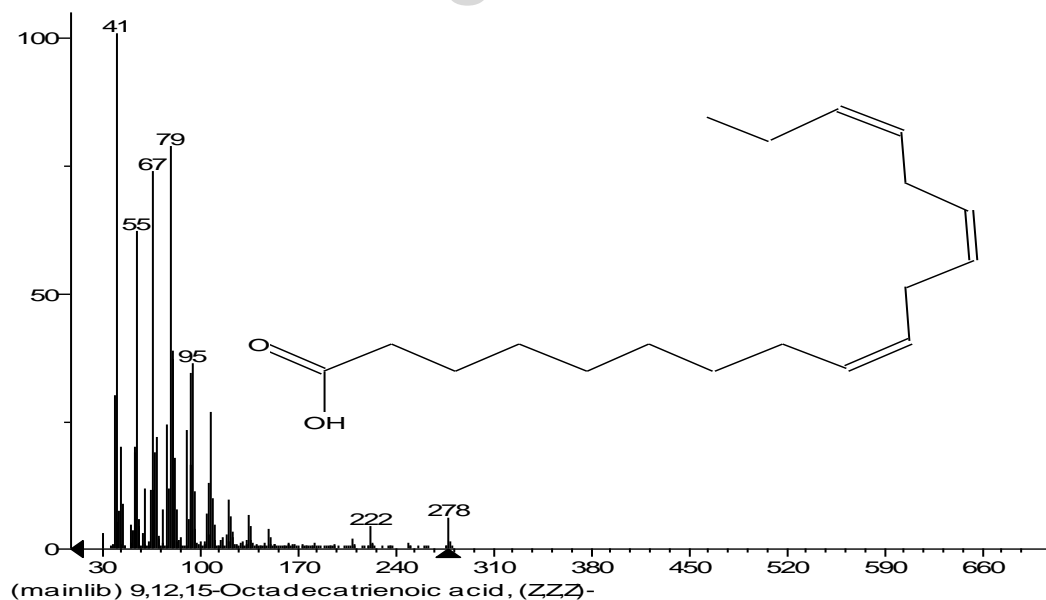


Tabla 5: Componentes identificados de la fracción de hexano de la planta *Tradescantia zebrina* por CG-EM.

Nº	Componente	Tiempo de retención	%
1	Ácido hexadecanoico	12,69	42,75
2	Trans-fitol	14,15	12,36
3	Ácido linoleico	14,32	11,50
4	Ácido linolénico	14,38	20,56
		TOTAL	87,17

Actividad antibacteriana

Los extractos obtenidos de las partes aéreas de *Tradescantia zebrina* fueron evaluados mediante la técnica de difusión en agar con disco frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, en concentraciones de 10000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 y 15,62 ppm, obteniendo como resultado diferentes halos de inhibición según el extracto empleado como se muestra en las tablas 6 y 7.

Tabla 6: Resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de hexano, diclorometano y etanol de *Tradescantia zebrina* empleando el método de Kirby-Bauer frente a bacterias Gram-positivas.

Microorganismos	Concentración (ppm)	HI (mm)		
		EHTZ	EDTZ	EETZ
<i>Staphylococcus aureus</i>	10000	11	7	11
	1000	0	7	7
	500	0	7	7
	250	0	7	7
	125	0	7	0
	62,5	0	7	0
	31,25	0	7	0
	15,62	0	7	0
Control positivo Eritrocimina 15ug		26		
<i>Enterococcus faecalis</i>	10000	0	26	0
	1000	0	17	0
	500	0	16	0
	250	0	15	0
	125	0	0	0
	62,5	0	0	0
	31,25	0	0	0
	15,62	0	0	0
Control positivo Ampicilina 10ug		17		

HI: Halos de Inhibición, **EHTZ:** Extracto de Hexano *Tradescantia zebrina*, **EDTZ:** Extracto de Diclorometano *Tradescantia zebrina*, **EETZ:** Extracto de Etanol *Tradescantia zebrina*, **Control Negativo:** DMSO(Dimetil Sulfóxido).

Tabla 7: Resultados de la actividad antibacteriana de los extractos de hexano, diclorometano y etanol de *Tradescantia zebrina* empleando el método de Kirby-Bauer frente a bacterias Gram-negativas.

Microorganismos	Concentración (ppm)	HI (mm)		
		EHTZ	EDTZ	EETZ
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10000	11	10	10
	1000	8	10	8
	500	7	10	7
	250	7	9	7
	125	7	9	7
	62,5	0	8	7
	31,25	0	7	7
	15,62	0	7	7
Control positivo Piperacilina 100ug		8		
<i>Escherichia coli</i>	10000	11	18	9
	1000	0	15	8
	500	0	12	7
	250	0	8	7
	125	0	8	7
	62,5	0	7	7
	31,25	0	0	7
	15,62	0	0	0
Control positivo Piperacilina 100ug		11		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10000	10	8	8
	1000	7	7	8
	500	7	7	8
	250	7	7	8
	125	7	7	8
	62,5	7	7	8
	31,25	7	7	8
	15,62	7	7	8
Control positivo Piperacilina 100ug		30		

HI: Halos de Inhibición, **EHTZ:** Extracto de Hexano *Tradescantia zebrina*, **EDTZ:** Extracto de Diclorometano *Tradescantia zebrina*, **EETZ:** Extracto de Etanol *Tradescantia zebrina*, **Control Negativo:** DMSO(Dimetil Sulfóxido).

Discusión

Una vez localizada la familia, el género y la especie de acuerdo a la revisión bibliográfica se pudo indagar sobre los posibles constituyentes químicos, esto permitió planificar el procedimiento a seguir y realizar el estudio pertinente, los resultados obtenidos del análisis fitoquímico revelaron la presencia de alcaloides, esteroides y compuestos fenólicos. Al comparar el reporte de resultados de la caracterización fitoquímica de los extractos de *Tradescantia zebrina*, con estudios anteriores, reflejó ser similar con respecto a los compuestos fenólicos, tal es el caso del estudio realizado por Sánchez y cols, (2019) donde determinaron compuestos fenólicos en dos extractos acuosos obtenidos por infusión y maceración de las hojas de *T. zebrina*.

Lobato y cols, (2003) determinaron un Grupo de Metabolitos en *T. zebrina* obteniendo Flavonoides en un 2,19 % Taninos en un 0,6 % y Esteroides en un 20,9 %. Por otra parte Espinosa y cols (2017) Realizaron un estudio en el que reportaron el contenido total de compuestos fenólicos ($620,9 \pm 39,7$ mg GAE 100 g⁻¹), taninos ($57,6 \pm 3,5$ mg TAE 100 g⁻¹) y flavonoides ($906,5 \pm 88,2$ mg AA100 g⁻¹) en extracto metanólico de las hojas de *T. zebrina*. Los principales componentes de las hojas son los flavonoides zebrinín y el compuesto mono-decafeilado.

Alaba y Hernandez (2014), realizaron un estudio donde además de contener compuestos fenólicos principalmente del grupo de los flavonoides reconocidos por su capacidad de inhibir enzimas proinflamatorias también contenía saponinas. Además Ramírez, A., Isaza, G y Pérez G (2013) En el estudio fitoquímico preliminar de la especie *T. zebrina* revelaron resultados positivos para taninos, esteroides y flavonoides. Mediante fraccionamiento en cromatografía de columna se obtuvieron dos grupos de fracciones: el primer grupo dio resultados positivos para esteroides y el segundo para flavonoides.

Al conocer estos metabolitos secundarios con atributos antibacterianos se hizo necesario evaluar las partes aéreas de *Tradescantia zebrina* frente a cepas ATCC en las que se obtuvo diferentes halos de inhibición para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y con mayor relevancia ante *Enterococcus faecalis* en el extracto de diclorometano, lo cual coincide con la investigación realizada por Mariko y cols, (2019) donde se obtuvo como resultado que el extracto acuoso de *Tradescantia pallida* perteneciente a la familia de las Commelinaceae inhibe significativamente tanto el crecimiento bacteriano como la formación de biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Por otro lado Gouri y cols, (2018) realizaron un estudio donde revelaron buenas zonas de inhibición de las nanopartículas de plata biosintetizadas a partir del extracto acuoso de las hojas de *T. zebrina* contra bacterias patógenas humanas comunes como *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*. Kuppusamy y cols (2015), realizaron una investigación donde mostraron actividad inhibidora del extracto de *Commelina nudiflora* perteneciente a la familia de las Commelinaceae frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*.

Tan J y Cols (2015), realizaron una investigación donde encontraron que las hojas de *Rhoeo spathacea* (Swartz) Stearn constituyente de la familia Commelinaceae mostró actividad antibacteriana tanto en la decocción como en la infusión contra seis especies bacterianas Gram-positivas y cuatro especies Gram-negativas, especialmente resistente a la meticilina el *Staphylococcus aureus* y la *Neisseria gonorrhoeae*. Esto es importante ya que permite un enfoque hacia la medicina natural como una forma alternativa en la atención de salud utilizando estos extractos con poder antibacteriano para combatir ciertas enfermedades ya que poseen una baja toxicidad.

El extracto de hexano analizado por CG/EM mostró la presencia de componentes como Trans-fitol, Ácido linoleico, Ácido linolénico y el Ácido hexadecanoico como componente mayoritario también conocido como ácido palmítico, el cual es un ácido graso saturado de cadena larga formado por 16 átomos de carbono que se sintetiza en el cuerpo humano y esta presente en la dieta (Rodríguez y Gallego, 1999). Se utiliza para la industria alimenticia y también en el área farmacéutica como inhibidor de hongos por lo que podríamos decir que los componentes presentes en los extractos obtenidos de las partes aéreas de la planta *Tradescantia zebrina* tiene un amplia aplicación en cuanto a su actividad biológica ya que no solo se limita a la actividad antibacteriana, tal es el caso de la investigación realizada por Sánchez y cols, (2019) que demuestra que los compuestos fenólicos de los extractos acuosos de las hojas de *T. zebrina* presentan actividad antiinflamatoria.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- En los extractos de hexano, etanol y diclorometano obtenidos de las partes aéreas de *Tradescatia zebrina* se determinó de forma cualitativa la presencia de alcaloides, esteroides y compuestos fenólicos.
- Los extractos obtenidos de las partes aéreas de *Tradescatia zebrina* fueron activos frente a las cepas bacterianas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, reportando que las 5 cepas son sensibles a los extractos estudiados.
- Los resultados obtenidos en esta investigación representan un aporte científico con respecto al tamizaje fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de *Tradescatia zebrina* constituyendo el primer reporte en la actualidad de los metabolitos secundarios y actividad antibacteriana de *T. zebrina* en Venezuela.
- Podríamos concluir que el objetivo fue alcanzado ya que se logró confirmar la actividad biológica que presenta los extractos de la planta *Tradescantia zebrina* frente a las diferentes cepas mencionadas. Esto contribuye a fortalecer los trabajos previos que se utilizaron como base para respaldar esta investigación.

Recomendaciones

- Aislar, identificar y cuantificar los metabolitos secundarios de otras partes anatómicas de *Tradescatia zebrina* empleando técnicas cromatograficas distintas a las realizadas en esta investigación.
- Confirmar si los metabolitos secundarios de los extractos de las partes aéreas de *Tradescatia zebrina* presentan actividad antiinflamatoria, antioxidante y antifúngica tal y como se respaldan en los trabajos previos empleados en esta investigación.

www.bdigital.ula.ve

BIBLIOHEMEROGRAFÍAS

- Alaba, C. y Hernández, C. (2014). La inhibición de la 15-lipoxigenasa de *Commelina benghalensis*, *Tradescantia fluminensis*, *Tradescantia zebrina* [Base de datos en línea]. Consultada el 2 de noviembre de 2016 en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25182435>
- Arias, F. (2006). *El Proyecto de Investigación. Introducción a la Metodología Científica*. (6a ed.). Caracas, Venezuela: Editorial Episteme.
- Ávila J., García M., Gavillan G., León C., Méndez S., Cendejas G., Rodríguez P., Vela A., Mendoza S., Santos A y Soto M. (2009). *Química orgánica experimental con un enfoque ecológico*. (2ª ed.). México: UNAM.
- Baqueros M. (2006). *Principios y aplicaciones de la cromatografía de gases* (1ª ed.). Costa Rica: Universidad de Costa Rica. 72 pág.
- Barrios, A. (1988). *Bacteriología y Virología Básicas*. Trabajo de ascenso no publicado. Universidad de Los Andes, Mérida.
- Berendsohn, W. (1991). Listado básico de la Flora Salvadorensis. *Monocotyledoneae: Iridaceae, Commelinaceae, Gramineae, Cyperaceae*. Cuscatlania Salvador: *Jardín Botánico La Laguna*. [Libro en línea]. Consultado el 7 de noviembre de 2016: <http://www.worldcat.org/title/listado-basico-de-la-flora-salvadorensis/oclc/34980900>
- Bruneton J. (1991). *Elementos de la Fitoquímica y Farmacognosia*. Zaragoza, España. Acribia.
- Cabrera, Y., Fadrugas, A y Guerrero, L. (2005). *Antibióticos naturales. Mito o realidad*. Revista Cubana de Medicina General Integral [Revista en línea], 1561-3038 (21). Consultada el 17 de octubre de 2016 en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252005000300025

Cháves, B. (2008). *Extractos vegetales con efecto fungicida, insecticida o nematocida* [Libro en línea]. Consultado el 23 de noviembre de 2016 en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00146.pdf>

Colecciones Científicas en Línea. (2016). [Página web en línea]. Disponible en: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/colecciones/detail/611223/>

Dean J., Merritt L., Settle A y Willard H. (1990). *Métodos instrumentales de análisis*. (2ª ed.). México DF: Continental. 1037 pág.

Diccionario de la Lengua Española. (2014). [Página web en línea]. Disponible en: <http://www.rae.es/>

Dimitri, M. (1987). *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Buenos Aires: Editorial ACME S.A.C.I.

Domingo, D. (2003). *Plantas con actividad antimicrobiana*. Revista especializada de Quimioterapia España, 16 (4), 385-393.

Domínguez, X. (1973). *Método de Investigación: Fitoquímica*. México: Editorial Limusa, S.A.

Espinosa, J., Centurión, D., Mayo, A y Velázquez, J (2017). *Plantas Aromáticas y Medicinales Tropicales con Potencial Actividad Microbiana*. Villahermosa-Tabasco-México: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

French, E y Hebert, T. (1980). *Métodos de investigación fitopatológica*. San José, Costa Rica: Editorial Matilde de la Cruz M.

- Fuller, J. (2007). *Instrumentación quirúrgica. Teoría, técnicas y procedimientos* (4^a ed.). Edimburgo-Escocia: Editorial médica panamericana.
- Gallegos, M. (2016). *Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador*. Scielo Perú [Artículo en línea], 1025 (77). Consultada el 5 de diciembre de 2016 en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002
- Gouri, K., Shahnaz, M y Aisyah S. (2018). Biosíntesis de nanopartículas de plata usando extracto acuoso de hojas de *Tradescantia zebrina* y su actividad antibacteriana. Investigación y revisión anual en biología [Artículo en línea], 1-6 (26) Consultado el 21 de enero de 2020 en: <http://www.journalarrb.com/index.php/ARRB/article/view/25209>
- Hernández, R., Fernández, C y Baptista, P. (2006). *Metodología de la Investigación*. México: Mc Graw Hill Interamericana.
- Hernández, R., Fernández, C y Baptista, P. (2010). *Metodología de la Investigación*. México: Mc Graw Hill Interamericana.
- Hurtado, J. (2010). *El proyecto de investigación comprensión holística de la Metodología y la Investigación*. Caracas: Ediciones Quirón.
- Jardín Botánico. (2004). *Informe técnico: Investigación en la transformación secundaria de frutos, tubérculos, flores, hojas o tallos de especies pertenecientes a ecosistemas andinos*. Bogotá: Autor.
- Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.

Kuppusamy, P., Yusoff, M., Parine, N y Govindan N (2015) Evaluación in-vitro de las propiedades antioxidantes y antibacterianas de *Commelina nudiflora*, mediante los extractos preparados por diferentes disolventes polares. Saudi J Biol Sci [Revista en línea], 293-301 (3). Consultada el 21 de enero de 2020 en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25972750>

Lobato, C., Gómez, A., Alor, M., Badal, J., Hernández, C y Díaz, v (2003) *Cuantificación de flavonoides, taninos y esteroides en plantas medicinales de uso tradicional en Tabasco*. Semana de Divulgación y Video Científico 2008 [Artículo en línea], 79,80 (1) Consultado el 21 de enero de 2020 en: <http://www.archivos.ujat.mx/dip/divulgacion%20y%20video%20cinetifico%202008/DACB/ELobatoG%202.pdf>

Lorenzo, A., Moreno, I., Lizasoain, J., Leza, M y Moro, A. (2008). *Farmacología Básica y Clínica*. Buenos Aires: Editorial medica panamericana.

Malbrán C. (2012). *Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución*. MIC testing .32

Mandell, G. (2002). *Introducción a las enfermedades microbianas*. Madrid: 19^a ed. México.

Marcano, D y Hasegawa, M. (1991). *Fitoquímica orgánica*. Caracas: Editorial Copyright.

Marcano, D y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica orgánica*. Caracas: Editorial Copyright.

Mariko, K., Takeshi, M., Mio, N., Takayuki, I., Tunemasa, N., Akito, N., Yuka, Y., Hiroshige, M y Yoshiaki, I. (2019). El extracto de *Tradescantia*

pallida inhibe la formación de biopelículas en *Pseudomonas aeruginos*. Nagoya Journal of Medical Science [Artículo en línea], 439-452 (3) Consultado el 21 de enero de 2020 en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6728195/>

Marinoff, M. (2006). *Las Plantas Medicinales desde la Biblia a la actualidad* [Libro en línea]. Consultado el 5 de noviembre de 2016 en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-053.pdf>

Martínez, J. y Hernandez, C. (2019). *Investigaciones científicas y agrotecnológicas para la seguridad alimentaria* [artículo en línea]. Consultado 23 de noviembre de 2019 en: https://www.researchgate.net/profile/Jorge_Herrera13/publication/337756120_INVESTIGACIONES_CIENTIFICAS_Y_AGROTECNOLOGICAS_PARA_LA_SEGURIDAD_ALIMENTARIA_25-11-19/links/5de858b392851c83646293e2/INVESTIGACIONES-CIENTIFICAS-Y-AGROTECNOLOGICAS-PARA-LA-SEGURIDAD-ALIMENTARIA-25-11-19.pdf#page=465

Medina, D., Machado, M y Machado, J. (2015). *Resistencia a antibióticos, una crisis global*. Revista Médica de Risaralda [Artículo en línea], 122-667 (21). Consultado el 5 de noviembre de 2016 en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-06672015000100013&script=sci_arttext&tlng=pt

Miranda, M y Cuellar, A. (2000). *Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales*. La Habana, Cuba: Editorial Félix Varela.

Montes, S y Peña, B. (2010) Usos y aplicaciones medicinales de la hierba de la cucaracha o *Tradescantia zebrina* Heynh [Tesis de pre-grado en

[línea]. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México. Consultado el 7 de noviembre de 2016 en: <http://www.tlahui.com/medic/medic31/cucaracha.htm>

Montiel, M. (1994). *Introducción a la Flora de Costa Rica*. San José, Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica.

Nadinic, J. (2015). *Fitocosmética: fitoingredientes y otros productos naturales* [Libro en línea]. Consultado el 5 de noviembre de 2016 en: <https://books.google.co.ve/books?id=9uBDDAAQBAJ&pg=PT7&dq=Farmacognosia+extractos+vegetales&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjpz7LYI-XQAhXH3iwKHT1gB2UQ6AEIGjAA#v=onepage&q=Farmacognosia%20extractos%20vegetales&f=false>

Parella, S y Martins, F. (2010). *Metodología de investigación cuantitativa*. Caracas: Editorial FEDEUPEL.

Picazo, J. (2000). *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos*. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Documento científico en línea]. Consultado el 19 de noviembre de 2018 en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimiento-smicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

Ramírez, A., García, E., Longa, A., Sánchez, K., Nieves, M., Velasco, J., Araque, M y Mosqueda, N. (2010). *Manual Práctico de Bacteriología General*. Mérida: Publicaciones del Vicerrectorado académico CODEPRE.

Ramírez, A., Isaza, G y Pérez G (2013) *Especies Vegetales Investigadas por sus Propiedades Antimicrobianas, Inmunomoduladoras e Hipoglicemiantes en el Departamento de Caldas (Colombia,*

Sudamérica). Semanticscholar [Revista en línea], 59-82 (12). Consultada el 21 de enero de 2020 en: <https://www.semanticscholar.org/paper/ESPECIES-VEGETALES-INVESTIGADAS-POR-SUS-PROPIEDADES-C%C3%A1rdenas-Mej%C3%ADa/203081bc623e1de8ef64b20e04f917acec25e00a>

Rashmi, S., Chamanlal, S y Bhuvneshwar, K. (2005). *Resistencia antibacteriana: problemas actuales y posibles soluciones* [Artículo en línea]. Consultado el 5 de noviembre de 2016 en: <https://tspace.library.utoronto.ca/html/1807/23343/ms05020.html>

Rodríguez, E., Gamboa, M., Hernández, F y García, J. (2005). *Bacteriología General: principios y prácticas de laboratorio*. Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica.

Rodríguez, M y Gallego, A. (1999). *Tratado de Nutrición*. México: Ediciones Díaz de Santos.

Rojas, J., García, A y López, A. (2004). *Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales*. Revista Clínica Latinoamérica. 41; 61-14.

Ruiz, G y Susunaga, S. (2000). Actividad antimicrobiana presente en partes aéreas de las especies *Bursera simaoruba* y *Bursera graveolens* (Burseraceas). Frente a microorganismos como: *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma viride* y *Botrytis cinérea*. Trabajo de posgrado no publicado. Universidad Javeriana, Bogotá.

Ruiz, V y Guillén, S.(2005). *Tratado seimc de enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. Madrid-España: Editorial médica panamericana.

- Sánchez, L. (2004). Las especies del género *Tradescantia* cultivadas en España [Libro en línea]. Consultado el 5 de noviembre de 2016 en: <http://www.arbolesornamentales.es/Tradescantia.htm>
- Sánchez, X., Ruíz, J., Salzar, M., Mendez, O y Olivo, Z. (2019). Compuestos fenólicos y actividad antiinflamatoria *in vitro*, de extractos de *Tradescantia zebrina*. Investigaciones científicas y agrotecnológicas para la seguridad alimentaria [Revista en línea], 465 (1). Consultada el 21 de enero de 2020 en: https://www.researchgate.net/profile/Jorge_Herrera13/publication/337756120_INVESTIGACIONES_CIENTIFICAS_Y_AGROTECNOLOGICAS_PARA_LA_SEGURIDAD_ALIMENTARIA_25-11-19/links/5de858b392851c83646293e2/INVESTIGACIONES-CIENTIFICAS-Y-AGROTECNOLOGICAS-PARA-LA-SEGURIDAD-ALIMENTARIA-25-11-19.pdf#page=465
- Segovia, I y Suarez, L. (2010). Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica Smith* "Chincho" y determinación de su actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica. Tesis de grado Universidad Nacional Mayor de San Marco. Lima Perú.
- Skoog, D. (2008). *Principios de Análisis Instrumental* (6ª ed.). México DF: Reverte.
- Tan, J., Lim, Y y Lee S. (2015). Actividad antioxidante y antibacteriana de las hojas de *Rhoeo spathacea* (Swartz) Stearn. J Food Sci Technol [Revista en línea], 52 (4). Consultada el 21 de enero de 2020 en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25829624>
- Vásquez, R. (1997). *Flórula de las reservas biológicas de Iquitos*. Perú: Allpahuayo-Mishana, Explornapo Camp, Explorama Lodge.

Vivas, C. (2000). *Guía de antibióticos*. Trabajo de ascenso no publicado.
Universidad de Los Andes, Mérida

www.bdigital.ula.ve