



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. ALFREDO NICOLÀS USUBILLAGA DEL HIERRO”



COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA
DE LA ESPECIE *Rheum rhabarbarum* L.

www.buigital.ua.ve

Autora: Eglé Sánchez

Tutora: Prof. Diolimar Buitrago

Mérida, febrero 2020.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

DEDICATORIA

A **Dios Todopoderoso** y a la **Santísima Virgen** por brindarme salud, fortaleza, sabiduría y proporcionarme la convicción para lograr todo con mucha firmeza.

A **San Miguel Arcángel** por iluminarme el camino y guiar mis pasos por el sendero de su manto divino.

A mi padre **Pedro Sánchez** quien a lo largo de mi vida ha velado por mi bienestar y educación, siendo mi apoyo en todo momento para enfrentar cualquier prueba que se me presenta en el camino.

A mi madre **Zoraida Carrero**, pilar fundamental en mi vida, por tantos valores y principios inculcados, haciendo de mí una gran persona y fortaleciéndome siempre para salir adelante en los momentos difíciles.

A mis hermanos **Yessika y Pedro**, por brindarme su apoyo día a día y aportar cosas buenas y momentos agradables en mi vida.

A mis Sobrinos **Santiago, Dariana, Fabián y Samantha** quienes son mi fuente de motivación e inspiración para superarme cada día más y así compartir un hermoso futuro al lado de ustedes.

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

A **Alfonzo** por creer en mí y apoyarme en todo momento; siempre confiando en mi capacidad de superación y aportar a mi vida toda tu comprensión, cariño, amor y esfuerzo.

www.bdigital.ula.ve

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios Todopoderoso** y a la **Santísima Virgen** por proporcionarme la vida, ser mis guías y acompañarme en este camino, brindándome salud, paciencia y sabiduría para culminar con éxito una de las muchas metas planteadas.

A la **Universidad de Los Andes (ULA)** por albergarme y permitir formarme como profesional en aras de promover la construcción de un mejor país.

Al **Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis Dr. Alfredo Nicolas Usubillaga del Hierro** perteneciente a la **Universidad de Los Andes (ULA)** y el personal adscrito a este instituto, por haber prestado sus instalaciones y equipos para llevar a cabo la investigación.

A la Tutora **Diolimar Buitrago** a quien respeto y agradezco por toda la paciencia, tiempo, orientación y consejos implementados para la ejecución de esta investigación.

A las Profesoras **Ysbelia Obregón, Yndra Cordero y Alida Pérez** por todos sus conocimientos y enseñanzas impartidas para el desarrollo de esta investigación.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

A mis **padres** por la confianza y el apoyo brindado, que sin duda alguna en el trayecto de mi vida tanto académica como personal han demostrado su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

A mis **hermanos** por su apoyo desinteresado y sus consejos que me permiten seguir adelante.

A **Alfonzo** que con sus palabras, apoyo y amor me hace sentir orgullosa de lo que soy y me motiva a seguir adelante a pesar de las adversidades.

A mis tías **Carmen, Norma y Coromoto** quienes con su ayuda, cariño y comprensión han sido parte fundamental en el desarrollo de mi formación académica.

A **Javier Montoya** por toda su colaboración, apoyo y aportes incondicionales para poder llevar a cabo la elaboración de esta investigación.

A **Zurima** por su amistad desinteresada y brindarme sus consejos tanto a nivel académico como en lo personal.

A todas aquellas personas que de una u otra manera me brindaron su colaboración a lo largo de mi formación académica.

GRACIAS.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
VEREDICTO	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	4
EL PROBLEMA.....	4
Planteamiento del Problema.....	4
Justificación e Importancia la Investigación.....	8
Objetivos de la Investigación.....	12
<i>Objetivo General</i>	12
<i>Objetivos Específicos</i>	12
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	13
<i>Alcances de la investigación</i>	13
<i>Limitaciones de la investigación</i>	13
CAPÍTULO II.....	15

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

MARCO TEÓRICO	15
Trabajos previos	15
Antecedentes Históricos o Epistemológicos	19
Bases Teóricas	20
Aspectos biológicos, geográficos, botánicos, químicos y usos (fármacos y gastronómicos) de la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	20
Clasificación taxonómica.....	20
Ubicación geográfica de la familia y genero <i>Rheum</i>	23
Estructura y descripción botánica del Ruibarbo.....	24
Composición química del género <i>Rheum</i>	26
Principales usos farmacológicos y gastronómicos del <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	32
Composición nutricional del Ruibarbo.....	34
Metabolitos primarios y secundarios.....	35
Agrupación de metabolitos secundarios.....	37
Terpenos.....	37
Esteroides.....	38
Saponinas.....	39
Glicósidos cardíacos.....	40
Compuestos fenólicos.....	41
Flavonoides.....	41

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

Antocianinas.....	42
Taninos.....	43
Cumarinas.....	44
Alcaloides.....	45
Extractos.....	47
Extractos Fluidos.....	47
Extractos secos.....	48
Extractos blandos.....	48
Extracción.....	48
Procesos de extracción.....	49
Extracción con solventes orgánicos.....	49
Extracción con fluidos supercrítico.....	51
Procesos de extracción con agua.....	51
Destilación por arrastre con vapor de agua.....	52
Bacterias.....	53
Estructura bacteriana.....	53
Clasificación de las bacterias.....	53
Bacterias Gram positivas.....	54
Bacterias Gram negativas.....	54
Características de las bacterias.....	55
<i>Staphylococcus aureus</i>	55

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

<i>Enterococcus faecalis</i>	56
<i>Escherichia coli</i>	57
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	58
Actividad antibacteriana.....	59
Métodos para la evaluación de la actividad antibacteriana.....	60
Método de difusión en agar con discos.....	60
Definición Operacional de Términos	62
Plantas Herbáceas.....	62
Fitoquímica.....	62
Material Vegetal.....	62
Principios activos.....	62
Operacionalización de las Variables	63
Hipótesis	65
CAPÍTULO III	66
MARCO METODOLÓGICO	66
Tipo de investigación	66
Diseño de la Investigación	67
Población y Muestra	71
Unidad de Investigación	71
Selección del Tamaño de la Muestra	71
Sistema de variables	73

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

Instrumentos de Recolección de Datos	74
Procedimientos de la investigación	74
Diseño de análisis	85
CAPITULO IV	86
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	86
Descripción de la especie.....	86
Resultados para las pruebas de tamizaje fitoquímico de la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	89
Resultados para las pruebas de actividad antibacteriana de especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	101
CAPÍTULO V	105
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	105
Conclusiones	105
Recomendaciones	106
BIBLIOHEMEROGRAFIA	107
ANEXOS	114

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Clasificación taxonómica de las plantas, según la escuela clasista.....	21
Figura 2. Estructura de la Rapontigenina.....	28
Figura 3. Estructura de la Raponticina.....	28
Figura 4. Estructura de la quercetina-3-O-glucuronido.....	29
Figura 5. Estructura de la 6-C-β-d-glucosil-8-C-β-d-arabinosilapigenina (schaftosido).....	29
Figura 6. Ácido ferúlico.....	31
Figura 7. Ácido gálico.....	31
Figura 8. Émodina.....	31
Figura 9. Ácido fumárico.....	31
Figura 10. Secuencia del proceso metodológico.....	70
Figura 11. Muestra vegetal recolectada de la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	72
Figura 12. Sector La Venta del Páramo Merideño, lugar donde se recolectó la muestra de la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	72
Figura 13. Sector La Venta del Páramo Merideño, lugar donde se recolectó la muestra de la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	73
Figura 14. Partes de la muestra vegetal recolectada.....	76
Figura 15. Haz de la hoja <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	87
Figura 16. Envés de la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	87

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

Figura 17. Especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	88
Figura 18. Reconocimiento de compuestos fenólicos	90
Figura 19. Identificación de quinonas.....	93
Figura 20. Identificación de antraquinona.....	95
Figura 21. Identificación de esteroides.....	98
Figura 22. Actividad antibacteriana en <i>S. aureus</i>	114
Figura 23. Actividad antibacteriana en <i>E. faecalis</i>	114
Figura 24. Actividad antibacteriana en <i>E. coli</i>	115
Figura 25. Actividad antibacteriana en <i>K. pneumoniae</i>	115
Figura 26. Actividad antibacteriana en <i>P. aeruginosa</i>	116

www.bdigital.ula.ve

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

INDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Clasificación taxonómica de la especie en estudio.....	22
Tabla 2. Compuestos químicos de algunas especies del género <i>Rheum</i>	27
Tabla 3. Componentes químicos encontrados en la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	30
Tabla 4. Composición nutricional del <i>Ruibarbo</i> por 100 g.....	34
Tabla 5. Principales metabolitos vegetales primarios y secundarios.....	36
Tabla 6. Operacionalización de la variable independiente: Metabolitos secundarios presentes en los extractos diclorometano y metanol de raíz, tallo y hojas de la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	64
Tabla 7. Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antibacteriana de los extractos en diclorometano y metanol de raíz, tallo y hojas de la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.....	64
Tabla 8. Pruebas de tamizaje fitoquímico.....	81
Tabla 9. Microorganismos y Compuestos de Referencia Usados en la Prueba de Susceptibilidad Antibacteriana.....	84
Tabla 10. Resultados de las pruebas de tamizaje fitoquímico.....	89
Tabla 11. Resultados de las pruebas de actividad antibacteriana.....	101
Tabla 12. Porcentajes de inhibición obtenidos.....	102

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. ALFREDO NICOLÀS USUBILLAGA DEL HIERRO”



COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA ESPECIE *Rheum rhabarbarum* L.

Autora: Eglé Sánchez
Tutora: Prof. Diolimar Buitrago
Mérida, 2020.

RESUMEN

En la presente investigación se analizó la composición química y la actividad antibacteriana de los extractos de diclorometano y metanol de raíces, tallos y hojas de la especie *Rheum rhabarbarum* L. Se efectuaron una serie de pruebas químicas cualitativas indicando la presencia de compuestos fenólicos en los extractos metanólicos de raíces, tallos y hojas, así como positivo para flavonoides; además de la presencia de quinonas en todos los extractos y antraquinonas solo en tallos. En relación a la actividad antibacteriana realizada mediante el método de difusión en agar con discos (Kirby-Bauer), los resultados indicaron que los extractos de diclorometano y metanol de raíces, tallos y hojas fueron activos frente a las cepas: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, excepto el extracto metanólico de las hojas que no fue activo contra la cepa *E. coli*. Asimismo, ninguno de los extractos fueron activos frente a la cepa *Enterococcus faecalis*.

Palabras claves: *Rheum rhabarbarum* L, Tamizaje fitoquímico, Actividad antibacteriana

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad las sociedades se enfrentan continuamente a diversos virus y enfermedades, contrarrestándolos tanto con el uso de fármacos elaborados de manera industrial como de productos poco procesados. Entre ambas posibilidades de consumo muchas poblaciones prefieren el uso de las plantas que crecen en el entorno geográfico donde habitan, haciendo uso de las mismas tal cual se extraen de la naturaleza, evitando con esto el consumo de fármacos que muchas veces generan en el consumidor reacciones adversas. Según la organización mundial de la salud una reacción adversa a un medicamento (RAM) se puede definir como "cualquier respuesta a un fármaco que es nociva, no intencionada y que se produce a dosis habituales para la profilaxis, diagnóstico o "tratamiento". Por tanto, las RAM son efectos no deseados ni intencionados de un medicamento, incluidos los efectos idiosincrásicos, que se producen durante su uso adecuado (Organización Mundial de la Salud OMS, 2004). Es por ello que muchos consumidores eligen usar la medicina natural.

En tal sentido, y aunque se tiene diversidad de plantas aprovechables como remedios naturales, vale la pena mencionar en este punto a una especie de planta denominada *Rheum rhabarbarum* L. mejor conocida como Ruibarbo, de la cual han se reportado diversos usos que aluden a su contenido benéfico tanto a nivel farmacológico como nutritivo. Específicamente a nivel farmacológico se ha usado en el tratamiento de

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

malestares o sintomatologías de orden gastrointestinal (Fernández, 2019). El Ruibarbo es una planta herbácea, de taxonomía fanerógama perteneciente a la familia Polygonaceae, cuya sección más aprovechable son los peciolo, tallos y raíces, ya que las hojas son consideradas tóxicas; sin embargo, los contenidos que implican alta toxicidad para el consumo humano, podrían presentar otras utilidades en áreas no precisamente farmacológicas; elasticidad de su estructura, agregado de compuestos insecticidas, entre otros (Labbe, 1994)

En la presente investigación se buscó identificar algunos metabolitos secundarios y la posible actividad antibacteriana de la especie *Rheum rhabarbarum* L, recolectada en La Venta, zona del páramo del estado Mérida-Venezuela, con la finalidad de verificar las propiedades químicas de la especie *Ruibarbo* e incrementar el conocimiento, uso y aplicación de dicha planta, esencialmente en el desarrollo de medicinas naturales con aplicaciones farmacológicas.

El procedimiento metodológico fue de campo seguido del diseño de investigación que se sustentó en cuatro etapas: preliminar, campo, laboratorio y etapa descriptiva. En la primera etapa se compiló el material bibliográfico y electrónico del tema sujeto a investigación. En la etapa de campo se aplicó el reconocimiento de la zona y recolección del material vegetal, se observó y describió la muestra. Por su parte, la etapa de laboratorio comprendió la aplicación de los análisis y ensayos. Mientras en la

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

última etapa se desarrolló una descripción de acuerdo a los datos recolectados, para ello, se hizo un análisis e interpretación de los mismos, en el cual se correlacionaron todos los datos y resultados obtenidos.

El trabajo de investigación se organizó en cinco capítulos; en el capítulo I se encuentra; planteamiento del problema, justificación, objetivos de la investigación, alcances y limitaciones del proyecto. El capítulo II se constituyó a través de: los antecedentes de la investigación y los fundamentos que incluyen las relaciones teóricas más resaltantes análogos al Ruibarbo o como se le llama técnicamente las bases teóricas que sustentan la investigación desarrollada. El capítulo III refiere al marco metodológico, en el mismo se describen: tipo de investigación, diseño de la investigación, población y muestra seleccionada para la investigación, técnicas e instrumentos usados para la recolección de los datos y técnicas aplicadas para el análisis de la información. El capítulo IV comprende: resultados y discusiones inherentes, finalmente en el capítulo V se encuentran conclusiones y recomendaciones obtenidas de toda la investigación.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Actualmente las sociedades se enfrentan continuamente a diversos virus y enfermedades y la forma en que contrarrestan los padecimientos es con el uso de fármacos elaborados tanto de manera industrial como de productos poco procesados. Entre ambas posibilidades de consumo muchas poblaciones prefieren el uso de las plantas que crecen en el entorno geográfico donde habitan principalmente porque en la actualidad la resistencia a los antibióticos está aumentando en todo el mundo a niveles peligrosos. Día tras día están apareciendo y propagándose en todo el planeta nuevos mecanismos de resistencia que ponen en peligro la capacidad para tratar las enfermedades infecciosas comunes. Un creciente número de infecciones, como la neumonía, la tuberculosis, la septicemia, la gonorrea o las enfermedades de transmisión alimentaria, son cada vez más difíciles, y a veces imposibles, de tratar, a medida que los antibióticos van perdiendo eficacia (Organización Mundial de la Salud OMS, 2004).

Aunque hay algunos antibióticos nuevos en fase de desarrollo, no es de prever que ninguno de ellos sea eficaz contra las formas más peligrosas de

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

algunas bacterias resistentes. Dada la facilidad y la frecuencia con que se desplazan ahora las personas, la resistencia a los antibióticos es un problema de dimensiones mundiales, que requiere esfuerzos por parte de todas las naciones y de diversos sectores. La resistencia a los antibióticos está poniendo en riesgo los logros de la medicina moderna. Si no se dispone de antibióticos eficaces para prevenir y tratar las infecciones, los trasplantes de órganos, la quimioterapia y las intervenciones quirúrgicas se volverán más peligrosas (Organización Mundial de la Salud OMS, 2004).

En este sentido, se ha registrado un incremento de la utilización de la medicina natural, las plantas, como especies vegetales, son organismos con determinadas características físicas y químicas que las diferencian entre sí. Cada planta tiene un conjunto de propiedades que las distingue de las demás, debido a su composición celular y al efecto causado en los seres vivos que la consuman. Por ende, en muchos casos, sus usos van desde la simple fuente de alimentación para animales o personas hasta la elaboración de medicamentos para la cura de ciertas enfermedades, principalmente de orden gastrointestinal (Real Jardín Botánico, 2012).

Es un hecho conocido que la industria farmacéutica utiliza las plantas como elemento básico para la generación de productos que servirán para aliviar una patología específica; y en diversas culturas indígenas como la Maya y la Inca, se les consideró como una fuente de vida, y por ello, el

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

conocimiento de las propiedades curativas de las mismas se ha extendido a lo largo del tiempo. Al respecto, Vázquez, Martínez, Aliphat y Aguilar (2011) sostienen que los antepasados mesoamericanos diferenciaron especies de plantas tanto en su forma como en su uso y las clasificaron y agruparon en comestibles, medicinales y tóxicas. Por lo tanto, el ser humano ha visto como la naturaleza no solo le aporta refugio y comida, sino que también le da alivio para las enfermedades que surjan como resultado del contacto con virus y bacterias del medio ambiente (Instituto Interamericano de Derechos Humanos, 2006).

Los anteriores argumentos ponen de manifiesto que las plantas aportan principios activos para la elaboración de medicamentos con fines específicos. Por consiguiente, el conocimiento amplio en cuanto a los usos de las mismas, es un elemento de suma importancia tanto para especialistas como para la población en general (Rosado y Moreno, 2010). Se hace necesaria la investigación de las diversas especies de plantas que puedan servir como de base para la elaboración de preparados dirigidos a aliviar síntomas determinados, entre estos productos la elaboración de nuevos antibióticos. A tal efecto, Gil, Mejías, Carmona, Mejías y Rodríguez (2003) expresan que “el conocimiento herbolario aporta elementos relevantes para saber cómo enfrenta el hombre de la ciudad sus problemas de salud, cuando los recursos

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

terapéuticos que ofrece la alopátia se hacen inaccesibles por sus altos costos, o representan potenciales fuentes de toxicidad” (p. 70).

Para la ejecución de esta investigación se recolectó una muestra de la planta que sirvió para identificar los distintos metabolitos secundarios presentes en la misma y estudiar la actividad antibacteriana que pudiese tener de acuerdo a las diversas partes de la misma (hojas, tallo y raíz). De este modo, contar con elementos científicos que impulsen el discernimiento de sus propiedades terapéuticas, mediante la realización de pruebas acreditables que conduzcan a la obtención de conocimientos objetivos, útiles para la industria farmacéutica. Para ello se formularon las siguientes interrogantes:

¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en la especie *Rheum rhabarbarum* L?

¿Cuál es la actividad antibacteriana que de los extractos de hojas, tallos y raíces de *Rheum rhabarbarum* L.?

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Justificación e Importancia de la Investigación

Desde que la humanidad fue obteniendo beneficios de los recursos naturales que tenía a su alrededor, se fue haciendo más importante el estudio de los componentes o composición química de los mismos, actualmente es de suma importancia poder clasificar o identificar la utilidad y los beneficios de todo lo que se encuentra a nuestro alrededor, un ejemplo muy específico de esto son las plantas a las cuales se les estudia desde hace tiempo para poder saber y usar de forma segura e idónea las propiedades que tienen cada una de las especies que existen (Real Jardín Botánico, 2012).

www.bdigital.ula.ve

Sin embargo, se requiere efectuar investigaciones farmacológicas que propicien la integración de la ciencia con el saber popular, en la búsqueda de alternativas para la mejora de la salud de las personas, por ejemplo la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales y productos naturales han revelado el potencial de las plantas superiores como fuente de agentes anti-infectivos, permitiendo de esta manera un avance al uso empírico de las especies vegetales medicinales con una base científica (Díaz y Ramírez, 2007).

En base a lo anteriormente expuesto, la presente investigación se enfocó en una especie, que aunque ya es conocida en civilizaciones antiguas (como las asiáticas) y cuyo uso se ha extendido por diversas partes del mundo

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

(especialmente en Europa y Latinoamérica), permite gracias a sus propiedades como planta gastronómica o medicinal, ser modelo de estudio para indagar sus componentes y posibles aplicaciones; dicha planta posee el nombre científico de *Rheum rhabarbarum* L., mejor conocida como Ruibarbo.

Según Takeoka, Dao, Harden, Pantoja y Kuhl (2012), el Ruibarbo es un género herbáceo, con diversas aplicaciones farmacológicas (principalmente a nivel gastrointestinal), por lo cual se buscó identificar los metabolitos secundarios presentes y la actividad antibacteriana de la especie en relación a sus diferentes partes, por ello se recolectó una planta en la zona del páramo del estado Mérida, en Venezuela, con la finalidad de establecer diversas acciones o consecuencias sobre el consumo en humanos, caracterizando las partes utilitarias y las potencialidades o riesgos de su uso. Asimismo, debido a la necesidad de buscar alternativas más naturales al tratamiento de algunas patologías, es necesario ampliar y continuar desarrollando investigaciones que promuevan un uso racional y mejor aprovechamiento de los recursos naturales y poder establecer su potencial como fitomedicamento (Granados y Torrenegra, 2016).

Generalmente, ya es conocido que las secciones comestibles y con mayores propiedades favorables son el peciolo (rabillo que une la lámina de una hoja a su base foliar o al tallo) y el tallo. Sin embargo, como parte de los alcances pretendidos con la investigación, se buscó, a su vez, poder

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

caracterizar una relación de propiedades de las partes consideradas tóxicas de la planta, como las hojas y raíces, las cuales por su alto contenido de ácido oxálico y antraquinonas, han sido dejadas un poco aisladas, aduciendo que sus potencialidades de uso quedan rezagadas a condiciones sólo informativas. No obstante, se estima que los altos contenidos composicionales de las sustancias mencionadas pueden proveer otras aplicaciones farmacológicas, comerciales o industriales (Takeota y cols., 2012).

En vista de lo anterior, se cree que el conocimiento de las propiedades del Ruibarbo favorece la valoración herbolaria de la planta, pues al investigarse sobre la veracidad de su uso, se conduce a un aprendizaje más eficiente de las características de la misma. Las investigaciones existentes con respecto a esta especie se encuentran mayormente publicadas en el idioma inglés, por lo tanto, se requiere enriquecer el acervo científico sobre el Ruibarbo, al menos a nivel local, el cual sirva para que las poblaciones ubicadas en la zona andina obtengan un conocimiento más amplio de dicha planta.

Según las investigaciones de Takeoka y cols., (2012) la especie vegetal en estudio, puede ser utilizada como alimento y como medicamento para el alivio de ciertas complicaciones como: estreñimiento, parásitos intestinales, diarreas y disentería. En función de lo anterior, conviene analizar de manera

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

química las propiedades de la planta y verificar su toxicidad, con el propósito de orientar tanto a los habitantes de la zona como al público en general.

De manera tal que actualmente conocer y estudiar las diversas especies de plantas que nos rodean es de suma importancia, de allí que la presente investigación se enfocó en la identificación de los metabolitos secundarios presentes en la especie *Rheum rhabarbarum* L. y la actividad antibacteriana con la finalidad de determinar las propiedades de la planta. Para ello se contó con una indagación que permitió el análisis de las características de la especie considerando su utilidad en la industria herbolaria.

Considerando lo anterior, en cuanto a las comunidades del Páramo, pensamos éstas pueden verse favorecidas por el desarrollo de esta investigación, ya que el análisis científico de la planta valora las cualidades de la especie, a objeto de facilitar su aprovechamiento en la cura de determinadas patologías gastrointestinales. Por ende, realizar un estudio supone el acercamiento a las comunidades y así los usos tradicionales que le dan a la planta en la zona, lo cual servirá como elemento configurativo de la investigación. De tal manera, que la indagación resultará un aporte significativo para el conocimiento farmacológico de una especie vegetal que ha sido muy poco valorada por las personas del lugar, en aras de contar con una base experimental que promueva estudios posteriores que destaquen

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

los logros obtenidos con la puesta en práctica de este proyecto y permita aplicaciones en otros entornos demográficos o científicos.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Determinar la composición química y actividad antibacteriana de la especie *Rheum rhabarbarum* L. (Ruibarbo) proveniente de la zona del páramo municipio Rangel del estado Mérida.

Objetivos Específicos

- Obtener los extractos de raíces, tallos y hojas de *Rheum rhabarbarum* L. mediante el método de maceración utilizando disolventes en orden de polaridad creciente: diclorometano y metanol.
- Identificar mediante pruebas químicas cualitativas los metabolitos secundarios presentes en los extractos previamente obtenidos.
- Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de *R. rhabarbarum* L. frente a cepas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) y Gram-negativas (*Klebsiella pneumoniae*,

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Escherichia coli y *Pseudomonas aeruginosa*) de referencia internacional.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

La presente investigación determinó a través de pruebas de laboratorio los metabolitos secundarios y actividad antibacteriana presentes en la especie *Rheum rhabarbarum* L. La investigación representa un recurso importante de información principalmente al identificar y tabular los diversos metabolitos presentes en la especie de estudio, esto es de gran importancia para investigaciones venideras.

Limitaciones de la Investigación

Las limitaciones se constituyen en factores externos al equipo de investigadores que se convierten en obstáculos que eventualmente pudieran presentarse durante el desarrollo del estudio y que escapan al control del investigador mismo. Dicho de otro modo, un factor limitante en una investigación es todo aquel capaz de influir en la calidad del estudio (Arias, 2006). Un factor limitante en la investigación fue los cortes de energía eléctrica en el país, lo cual atraso en varias oportunidades la culminación de

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

la fase experimental relacionada a la actividad antibacteriana y darle fin a la parte escrita de dicha investigación.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Pájaro, Granados y Torrenegra (2018) desarrollaron una investigación titulada: “**Actividad antibacteriana del extracto etanólico del peciolo de *Rheum rhabarbarum*”** los autores evaluaron la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico del peciolo de *Rheum rhabarbarum* L. frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*; en la investigación se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). Para solubilizar se empleó dimetilsulfóxido (DMSO) al 1%. Los resultados obtenidos demuestran que el extracto etanólico posee actividad antibacteriana, con valores de CMI ≥ 700 $\mu\text{g/mL}$ frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Su efecto podría ser de tipo bacteriostático y no bactericida. Por tanto, se concluyó que la especie vegetal *Rheum rhabarbarum* L. es considerada como promisorio para el control bacteriano.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Esta investigación fue de gran importancia, ya que se trató particularmente de la especie estudiada y además se enfocó en unos de los aspectos a ser investigados (la actividad antibacteriana), aunque la parte de la planta trabajada fue solamente el peciolo.

Granados, C. y Torrenegra, E. (2016) realizaron una investigación titulada “**Actividad antioxidante y contenido fenólico del peciolo de *Rheum rhabarbarum*”**. El objetivo de la investigación fue determinar la actividad antioxidante y el contenido fenólico del peciolo de Ruibarbo (*Rheum rhabarbarum* L.) proveniente del departamento Norte de Santander, Colombia. La metodología fue la siguiente: los peciolos de las plantas de Ruibarbo (*Rheum rhabarbarum* L.) fueron recolectados en una vereda del municipio de Pamplona en el Norte de Santander (7°22'34"N 72°38'54"O). El extracto etanólico se obtuvo por la técnica de maceración. La actividad antioxidante se determinó mediante la técnica de actividad antiradicalaria por el método DPPH•, asimismo el contenido de fenoles totales se realizó por el método colorimétrico Folin-Ciocalteu. Los resultados obtenidos de la actividad antioxidante mostraron que el extracto etanólico de Ruibarbo (*Rheum rhabarbarum* L.) obtenido mediante maceración tuvo un valor de IC₅₀ mediante la técnica de DPPH• de 45,5 ± 0,60 µg/mL, lo cual está directamente relacionado con el contenido en fenoles. Las conclusiones a las que llegaron los investigadores es que el extracto etanólico de Ruibarbo

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

(*Rheum rhabarbarum* L.) es considerado como promisorio para diseñar productos magistrales con actividad antioxidante.

De ahí que esta investigación representó un aporte de gran importancia, en tanto que la actividad antioxidante está relacionada con la presencia de fenoles, lo cual se puede comprobar a través de las pruebas de tamizaje fitoquímico.

Canlı, K., Yetgin, A., Akata, I. y Altuner, E. (2016). Desarrollaron un trabajo titulado “**Detección de actividad antimicrobiana in vitro de las raíces de *Rheum rhabarbarum***”, el objetivo del estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto de etanol de las raíces de *Rheum rhabarbarum* en 17 cepas bacterianas y 1 fúngica: *Bacillus subtilis* DSMZ 1971, *Candida albicans* DSMZ 1386, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Pseudomonas aeruginosa* DSMZ 50071, *Pseudomonas fluorescencia* P1, *Salmonella enteritidis* ATCC 13075, *Salmonella infantis*, *Salmonella kentucky*, *Salmonella typhimurium* SL 1344, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Staphylococcus epidermidis* DSMZ 20044 mediante el uso de difusión en disco. En la investigación desarrollada los autores observaron que los extractos etanólicos en raíz de *R. rhabarbarum* tienen actividad

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

antimicrobiana con concentraciones de 1250 µg y 2500 µg. Esta investigación representó grandes aportes al trabajo desarrollado, ya que la parte de la planta usada en el estudio (la raíz) también fue objeto de estudio en esta investigación.

Takeoka y cols, (2012) realizaron un trabajo titulado “**Actividad antioxidante, contenidos fenólico y antocianinas de diversas variedades de Ruibarbo (*Rheums ssp.*)**”, donde presentaron el análisis de los pecíolos de veintinueve variedades de Ruibarbo (*Rheum*). El objetivo de la investigación fue la determinación de fenoles totales y actividad antioxidante. En la investigación se determinaron fenoles totales y antocianinas totales de veintinueve variedades de Ruibarbo (*Rheum* spp.). La actividad antioxidante varió de 463 ± 50 mg/100 g (*Rheum officinale*) a 1242 ± 2 mg/100 g para *Rheum palmantum*. La concentración de antocianinas varió de $19,8 \pm 1,5$ mg/100 g (rojo carmesí) a $341,1 \pm 41,6$ mg/100 g. Los porcentajes de dos antocianinas principales en Ruibarbo, cianidina 3-glucósido y cianidina 3-rutinósido variaron de 66,07 y 33,93 mg/100 g respectivamente en *R. valentine*, a 9,36 mg/100 g y 90,64 mg/100 g respectivamente en *R. officinale*. Igualmente, los autores refieren que se necesitan estudios adicionales para determinar su composición fenólica, y así en un futuro, poder correlacionar los resultados obtenidos, para complementar la información.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Esta investigación aportó información sobre los elementos que componen químicamente la especie de Ruibarbo, cuyos beneficios pueden derivar en la salud de los consumidores al agregar antioxidantes en el proceso de digestión del vegetal.

Antecedentes Históricos o Epistemológicos

La derivación del nombre “rhubarb”, proviene del griego “rha” que quiere decir volga y del latín “barbarum” que quiere decir barbaro, y es de donde se infiere su uso por los habitantes de Siberia (Araya, 2010).

En relación al origen del Ruibarbo Bradacic, Arancibia y Yagello (citado en Araya, 2010) indican que el origen se remonta al año 2700 A. de C. en Asia Central y China, donde fue cultivado para propósitos medicinales por sus cualidades purgativas, señalan además que son procedentes de este país las especies *Rheum palmatum* y *Rheum officinale*. Existen cerca de 20 especies distintas de Ruibarbo en Europa Occidental, la cual fue reconocida en el siglo XIII, reportándose su presencia desde Liberia, los Himalayas y el este de Asia. Luego la especie fue introducida en Inglaterra alrededor de la mitad del siglo XVI y se conocía como Ruibarbo siberiano. En Europa las especies que se conocen son *Rheum rhaponticum* y *Rheum emodi*. También se toma como referencia su origen en Siberia y el Sudeste de Rusia (Araya, 2010).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Igualmente Bradacic, Arancibia y Yagello (citado por Araya, 2010) indican que la utilización del Ruibarbo como elemento culinario se inició en Inglaterra en el siglo XVIII, posteriormente fue introducida en la región de Magallanes alrededor del año 1870 por colonizadores suizos, alemanes e ingleses, en su mayoría ligados a la producción ovina. Su cultivo empieza a ocupar diferentes espacios en las estancias de la Sociedad Explotadora Tierra del Fuego, para luego diseminarse a parcelas aledañas, en donde la planta se adapta muy bien a las condiciones climáticas de la zona.

Bases Teóricas

www.bdigital.ula.ve

Aspectos biológicos, geográficos, botánicos, químicos y usos (farmacológicos y gastronómicos) de la especie *Rheum rhabarbarum* L.

Clasificación taxonómica.

La especie a estudiar pertenece al Reino Plantae, el cual comprende en líneas generales todas las formas de vida vegetal terrestre como; árboles, arbustos hiervas y además todas las algas acuáticas siempre y cuando lleven a cabo una forma de nutrición fotosintética (De Costa, 2011).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Las plantas se clasifican de acuerdo a su taxonomía (ciencia de la clasificación) biológica, ordenando su diversidad en taxones mutuamente excluyentes y de forma jerárquica, constituyendo un sistema de clasificación, que en atención a lo planteado por el Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas se resume en la figura 1.

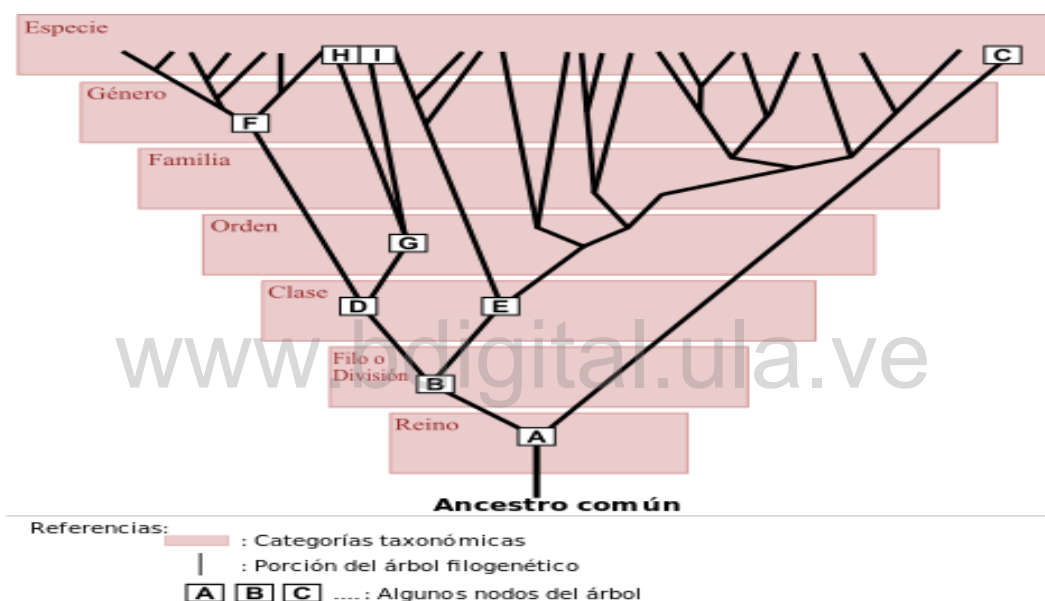


Figura 1. Clasificación taxonómica de las plantas, según la escuela clasista.

Fuente. Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas (McNeil y cols., 2012).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

En relación a la especie que se estudió, ella responde a la siguiente clasificación taxonómica presentada en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la especie *Rheum rhabarbarum* L.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Caryophyllales
Familia:	Polygonaceae
Género:	<i>Rheum</i>
Especie:	<i>Rheum rhabarbarum</i> L.
Nombres Populares:	Ruibarbo, Rabarbaro

Fuente. Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas (McNeil y cols., 2012).

La especie en estudio se ubica dentro del orden Caryophyllales, y según el sistema de clasificación de angiospermas basados en criterios filogenéticos (APG IV 2016) la especie está dentro de la familia Polygonaceae. Entre las Polygonaceae se encuentra el género *Rheum*, este es conocido mayormente como Ruibarbo, este género comprende cerca de 60 especies y algunas de ellas son utilizadas como alimento humano y animal (Stephes, 2001). Debe señalarse que, específicamente dentro del género *Rheum* hay una variedad silvestre utilizada muy comúnmente para el

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

consumo humano y es llamado científicamente *Rheum rhabarbarum* L. (Araya, 2010).

Ubicación geográfica de la familia y género *Rheum*.

La ubicación geográfica de la familia a la que pertenece taxonómicamente la especie es la siguiente; las Poligonáceas tienen una distribución geográfica que se evidencia sobre territorios templados y fríos del hemisferio norte, esto según el Herbario de la Universidad pública de Navarra (s.f), sin embargo Castillejos y Solano (2008) indican que la familia Polygonaceae tiene distribución cosmopolita; es particularmente diversa en regiones de clima templado, aunque también se encuentra bien representada en los trópicos y subtrópicos.

Ahora bien, en cuanto al género *Rheum* Granados y Torrenegra (2016) indican que Ruibarbo puede cultivarse en regiones de clima frío obteniéndose un gran rendimiento, con esto se debe tener claro que no es una especie originaria del continente Americano, otros investigadores señalan al Ruibarbo originario de Asia y Tartaria China (Diccionario Teórico, Práctico, Histórico y Geográfico de Comercio, 1840) pero ha sido cultivado en otros países de Europa y de ahí se ha extendido. La especie se caracteriza por ser: perenne, de estación fría, fácilmente adaptable a climas tan adversos como el del Ártico; presenta un rápido crecimiento en primavera y una alta productividad (30 a 70 t de pecíolos/ha). La corona y los rizomas son

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

resistentes al frío y a las condiciones de sequía (Ministerio de Agricultura de la República de Chile, 2009). Puede adaptarse también a condiciones de clima templado, especialmente en regiones con cierta altitud. A temperaturas moderadas y bajas se expresa mejor el color rojo de los pecíolos, mientras que a temperaturas altas predomina el color verde. No prospera bien en zonas donde la temperatura en verano sobrepasa los 24 °C o donde la temperatura media invernal está muy por encima de los 5 °C. El Ruibarbo se produce en diversos tipos de suelos, desde arenosos a turbosos y arcillosos, aunque se desarrolla mejor en suelos profundos, fértiles, francos, bien drenados y con una alta proporción de materia orgánica. Es más precoz en suelos livianos, tolera la acidez y crece bien en aquellos suelos que son ligeros a moderadamente ácidos, con pH de 5 a 6,5. Sin embargo, en algunas regiones se cultiva en suelos neutros y ligeramente alcalinos (Ministerio de Agricultura de la República de Chile, 2009).

Estructura y descripción botánica del Ruibarbo.

El Ruibarbo es una hierba arbustiva de hasta tres metros de altura, perenne y específicamente el Diccionario Teórico, Práctico, Histórico y Geográfico de Comercio (1840) dice que las características generales de los Ruibarbos es que son leñosos, con venas blancas en la parte interna, su fractura es de olor particular, tiñen la saliva de amarillo, son bastante

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

amargos y aromáticos. Labbe (1994) sostiene que esta planta consta de hojas con peciolo gruesos de entre 2 y 5 centímetros de grosor. En relación a la estructura, el Ruibarbo está constituido por:

a) *Flor*: las flores son pequeñas, de color blanco amarillento, sin corola. Florece principalmente en verano. La inflorescencia es la parte más alta de la planta. El tallo floral puede medir hasta 2 metros de altura, y está constituido por flores diminutas que crecen en forma de panojas. Estas flores son de color crema monoicas y precisas de un proceso de vernalización para florecer.

b) *Fruto*: El fruto es seco con una sola semilla, la fructificación se produce en mayo-junio del tercer año de cultivo, en el hemisferio norte. Este es un fruto seco aquenio con forma trigonal, alado, rojizo y de tamaño aproximado entre 1 y 1,5 centímetros.

c) *Hojas*: brota una roseta de hojas grandes, palmeadas y onduladas, unidas al tallo por los peciolo. Las hojas son basales o radicales y caulinares. las primeras no tienen peciolo o este es muy corto, mientras que las hojas caulinares son grandes, en algunas variedades pueden llegar a medir hasta 1 metro de diámetro. Son característicamente cordiformes, lobuladas (de 5 a 7 lobulaciones) y dentadas.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

d) *Pecíolo*: es semi-cilíndrico, largo y de 2 a 5 centímetros de ancho, y su color varía entre verde y rojo. Las ocreas nodales que posee el Ruibarbo son características de las poligonáceas.

e) *Tallo*: Planta vivaz de tallo o rizoma subterráneo.

f) *Raíz*: se multiplica por rizoma y es de color amarillo en su interior y de color café en el exterior.

Asimismo, Faisal, Hristozov, Wenstern y Rey (2014) indican que la parte verde de las hojas del Ruibarbo es peligrosa y no debe consumirse nunca, aunque su uso en otras aplicaciones puede ser analizado. Sin embargo, el pecíolo carnoso y ácido de las hojas, suele comerse en compota, mermelada o confitura, siendo esta la única parte comestible ya que el limbo de sus hojas es tóxico debido a su alto contenido en oxalatos y antraquinonas.

Composición química del género *Rheum*

El Ruibarbo comprende gran cantidad de componentes tanto benéficos como perjudiciales para el organismo en los que destacan: el ácido oxálico y glucósidos antraquinónicos. Es por ello que en la tabla 2 se exponen los componentes químicos que forman parte de algunas de las especies del género *Rheum*.

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

Tabla 2. Compuestos químicos de algunas especies del género *Rheum*.

Especie	Componentes	Lugar	Fuente bibliográfica
<i>R. rhaponticum</i>	Hiperóxido, 3-O-galactósido de la quercetina, raponticina, desoxiraponticina	-	Vollmer, Papke y Zierau (2010)
<i>R. officinale</i>	Polifenoles hidroxiantraquinonas ácido gálico taninos	Colombia	Fonnegra y Jiménez (2007)
<i>R. valentine</i>	ácidos fenólicos	Estados Unidos	Takeoka y cols. (2012)
<i>R. ribes</i> (aceite esencial)	ácido palmítico ácido linoleico linoleato de etilo N-eicosano N-tetracosano	Irán	Forough, Gholamreza Hossein y Hossein (2014)
<i>R. rhaponticum</i> (extractos)	<i>trans</i> -raponticina, <i>trans</i> -desoxirapontigenina, <i>cis</i> -desoxiraponticina, <i>trans</i> -resveratrol-4-O- β - glucopiranosido, <i>trans</i> -píceatannol-3-O β - glucopiranosido,	Alemania	Glomb, Kottke y Krafczyk (2008)

Fuente. Elaboración propia.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Algunos estilbenos encontrados en el género *Rheum* se pueden observar en las figuras 2-3.

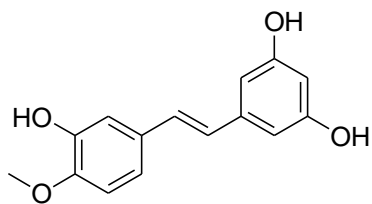


Figura 2. Estructura de la Rapontigenina

www.bdigital.ula.ve

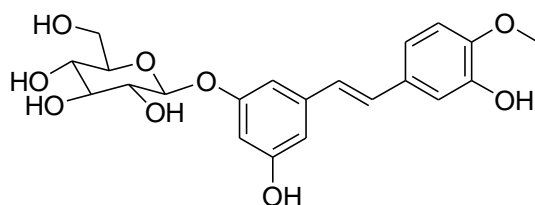


Figura 3. Estructura de la Raponticina

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Algunos flavonoides encontrados en el género *Rheum*. Figuras 4 y 5.

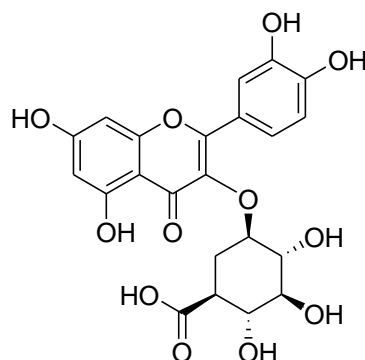


Figura 4. Estructura de la Quercetina-3-O-glucuronido

www.bdigital.ula.ve

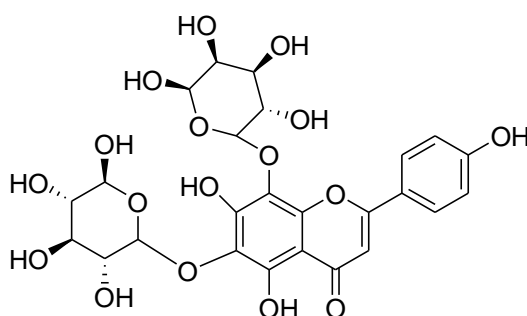


Figura 5. Estructura del 6-C-β-D-glucosil-8-C-β-D-arabinosilapigenina (schaftosido)

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Ahora bien, en relación a la composición química de la especie *Rheum rhabarbarum* L. se destacan los siguientes componentes ver tabla 3:

Tabla: 3. Algunos componentes químicos encontrados en la especie *Rheum rhabarbarum* L.

Especie	Componentes	Lugar	Fuente bibliográfica
<i>R. rhabarbarum</i> (extractos)	ácido oxálico antraquinonas glicosidos flavonoides	Colombia	Díaz, (2010)
	Taninos aldehídos	Alemania	Dregus y Karl-Heinz (2003)
<i>R. rhabarbarum</i> (extractos)	flavonoides:rutina,quercetina-3-O-glucurónidoisovitexina, 6,8-di-C-β-glucosilapigenina, 6-C-β-glucosil-8-C-β-arabinosilapigenina, 6-C-β-arabinosil-8-C-β-glicosilapigenina.	Alemania	Glomb, Kottke y Krafczyk (2008)
<i>R. rhabarbarum</i>	Ácido acético, β-caroteno, Ácido cafeíco, Crisoptanol, Émodina, Epicatequina, Ácido ferulico, Ácido fumarico Ácido gálico Isoquercitrina Luteína Ácido p-cumarico Ácido protocatéquico Rutina Ácido sinapico Ácido vanílico	Estados unidos	Phillys y Balch (2006)
<i>R. rhabarbarum</i>	Aloe- emodina Reína Emodina	Colombia	Pájaro y cols, (2018)

Fuente. Elaboración propia.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Algunos compuestos químicos de la especie *Rheum rhabarbarum* L. según Phillys y Balch (2006) se muestran en las figuras 6 - 9.

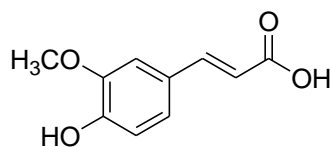


Figura 6. Ácido ferúlico.

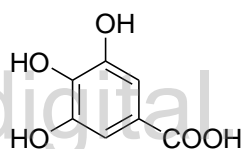


Figura 7. Ácido gálico.

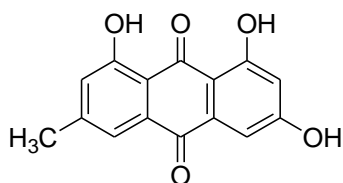


Figura 8. Émodina

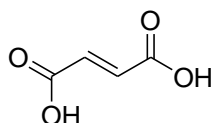


Figura 9. Ácido fumárico.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Principales usos farmacológicos y gastronómicos de *Rheum rhabarbarum* L.

El Ruibarbo debido a su composición química tiene diversos usos tanto a nivel farmacéutico como gastronómico.

a. Farmacológicos:

➤ Los derivados naturales de la antraquinona son glucósidos con acción laxante y purgante sumamente potente que son estimulantes de las funciones del estómago y del hígado.

➤ En la terapéutica farmacológica, la antraquinona pertenece a la categoría de catárticos y se usan en la terapia contra el estreñimiento; se encuentran en las hojas, vainas, raíces y semillas de diversas plantas como el *Senna* (botánica), *Sen*, el Ruibarbo y la frángula.

➤ Un derivado de la antraquinona, la antralina es un irritante utilizado en dermatología para combatir la psoriasis. También por su alto contenido de antraquinonas sus extractos son utilizados para el tratamiento de las aftas y otras afecciones de las mucosas bucales.

➤ Es muy utilizado para crisis biliares, jaquecas, desórdenes menstruales, inflamación de ovarios y alteraciones de la menopausia.

➤ El extracto de raíz de Ruibarbo fue usado contra el virus Coxsackie que produce una enfermedad conocida como enfermedad del pie y boca, el

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

extracto de raíz de la planta mostró efectos significativamente inhibidores contra la enfermedad (Rang, Shen, Luo, Hou, Luo, Xiao, Yang, 2012).

➤ El Ruibarbo ha demostrado en estudios gastrointestinales resultados benéficos cuando se le dio a pacientes con quemaduras severas, con el resultado de que alivió la distensión abdominal, promovió la regularidad y aumentó la tolerancia a la comida (Shang, 2011).

➤ En el mercado circula un producto en base a nivel fármaco llamado tintura de Ruibarbo usado como laxante o purgante dependiendo de las gotas que sean indicadas o del efecto que se desee (Shang, 2011).

➤ Usos futuros: Actualmente se estudian las acciones vasodilatadoras de extractos de su rizoma, como antioxidante y anticariogénico en la aparición de la placa dental (Shang, 2011).

b. Gastronómicos:

➤ El tallo del Ruibarbo puede consumirse crudo, directamente o aderezándolo como ensalada y también cocido, en forma de compota, mermelada o como relleno del pastel de Ruibarbo o de empanadas (Shang, 2011).

➤ Los peciolos ácidos e hilachudos se usan cocidos en sopas, dulces, salsas y pasteles; también se utiliza para la producción de vino o chicha de Ruibarbo. Pero su principal uso industrial es la producción de peciolos trozados congelados (Shang, 2011).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Composición nutricional del *Ruibarbo*

El Ruibarbo es una fuente de alimento para el ser humano, siempre y cuando lo incluya de manera adecuada en las preparaciones que realice. La Fundación Universitaria Iberoamericana (FUNIBER) señala según la base de datos Internacional de Composición de Alimentos la siguiente información nutricional del Ruibarbo expuesta en la tabla 4:

Tabla 4. Composición nutricional del *Ruibarbo* por 100 g.

Nutrientes	Cantidad
Energía	8
Proteína	0,90
Grasa total (g)	0,10
Colesterol (mg)	0
Glúcidos	0,80
Fibra (g)	1,40
Calcio (mg)	93
Hierro (mg)	0,30
Yodo (μ g)	-
Vitamina A (mg)	6
Vitamina C (mg)	6
Vitamina D (μ g)	0
Vitamina E (mg)	0,20
Vitamina B12 (μ g)	0
Folato (μ g)	7

Tomado de <https://www.composicionnutricional.com/alimentos/RUIBARBO-1>

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Metabolitos primarios y secundarios.

Las especies vegetales poseen diversos componentes en su estructura, estos sin lugar a duda son importantes para el desarrollo, crecimiento y mantenimiento de las plantas. Los componentes son de diversa naturaleza química y por lo general se les clasifica en dos grandes grupos: orgánicos e inorgánicos (Carrión y García, 2010).

Dentro de los componentes inorgánicos más importantes se encuentran el agua y los minerales. El agua, se encuentra en cantidad variable de acuerdo a la especie y a la parte de la planta así Carrión y García (2010) citando a Kuklinski señalan: “las hojas y los tallos contienen más cantidad de agua, hasta un 80% en algunos casos, mientras que las semillas contienen menos cantidad”.

Los minerales pueden presentarse en diversas formas como; sales solubilizadas (cloruros, nitratos, fosfatos, etc.), sales cristalizadas (carbonato cálcico, oxalato cálcico, etc.), además se encuentran oligoelementos (magnesio, hierro, manganeso, flúor, etc.). Los minerales se encuentran combinados con las sustancias orgánicas dentro de las especies vegetales (Carrión y García, 2010).

En este sentido cabe señalar que dentro de los componentes orgánicos se pueden citar:

- ✓ Primero: los metabolitos básicos o primarios relacionados con el metabolismo esencial celular.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

- ✓ Segundo: los metabolitos secundarios que no están necesariamente relacionados con el metabolismo esencial pero son en su mayoría responsables de la actividad terapéutica de las drogas vegetales.

A continuación se resumen los metabolitos primarios y secundarios más importantes. Ver tabla 5 tomada de Carrión y García (2010).

Tabla 5. Principales metabolitos vegetales primarios y secundarios

Compuestos procedentes del metabolismo primario	Compuestos procedentes del metabolismo secundario
<ul style="list-style-type: none">✓ Glúcidos✓ Lípidos y grasas✓ Aminoácidos✓ Proteínas✓ Ácido nucleicos✓ Compuestos (glucósidos) nitrogenados cianogenéticos.	<ul style="list-style-type: none">✓ Isoprenoides: terpenos, aceites esenciales, saponinas, cardiotónicos✓ Derivados Fenólicos: fenoles simples, ácidos fenólicos, taninos, cumarinas, lignanos, quinonas, flavonoides: Antocianinas✓ Alcaloides

Fuente. (Carrión y García, 2010).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Agrupación de los metabolitos secundarios.

Terpenos.

Estos son compuestos no saturados constituidos por C é H ó C, H, O, de estructura no aromática, los cuales se forman a través de la ruta de condensación isoprénica del ácido mevalónico. Constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40.000 moléculas diferentes), desde formas sencillas a estructuras complejas (*saponinas*) o mezclas complejas (*aceites esenciales*). Incluyen hormonas (*giberelinas* y *ácido abscísico*), pigmentos carotenoides (*carotenos* y *xantofilas*), esteroides (*ergosterol*, *sitosterol*, *colesterol*), derivados de los esteroides (*glicósidos cardiacos*), látex y aceites esenciales que proporcionan el olor y el sabor característico de las plantas (López-Casamayor, 2007).

Los terpenos pueden ser *acíclicos* (con la cadena de carbono ramificada), *mono cíclicos*, *bicíclicos* o *poli cíclicos*. Poseen uno o varios carbonos asimétricos. Se clasifican por el número de unidades de C₅ que forman la estructura del isoprenoide: Hemiterpenos C₅, de escaso valor farmacológico; Monoterpenos C₁₀, fuentes de aceites esenciales; Sesquiterpenos C₁₅, se encuentran libres formando parte de aceites esenciales o como lactonas sesquiterpénicas; Diterpenos C₂₀, giberelinas y el fitol, de cadena abierta que forma parte de la estructura de las clorofilas; Triterpenos C₃₀, fuentes del reino vegetal; Tetraterpenos C₄₀, carotenoides;

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

poliisoprenoides, hidrocarburos de alto peso molecular caucho y gutapercha (López-Casamayor, Castro 2007).

Muchos terpenoides son comercialmente interesantes por su uso como aromas y fragancias en alimentación y cosmética, o por su importancia en la calidad de productos agrícolas. Otros compuestos terpenoides tienen importancia medicinal por sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimaláricas, antimicrobianas (López-Casamayor, 2007).

Esteroides.

El nombre genético esteroide se emplea para designar sustancias con estructura ciclopentanoperhidrofenantrénica, con dos restos de metilo en las posiciones 10 y 13. Se pueden clasificar en: Esteroles: son derivados de los esteroides alcohólicos, poseen cadena lateral de 8, 9, ó 10 átomos de carbono, siempre con un grupo oxhidrilo en posición 3; los más abundantes en plantas son el estigmasterol y el sitosterol, que sólo difiere del estigmasterol en la ausencia del doble enlace entre C₂₂ y C₂₃, Estanoles: esteroides fuertemente saturados, se designan así porque introducen en su molécula una insaturación y un grupo oxhidrilo en posición 3. Dihidroxiestenoles: mono insaturados con dos grupos oxhidrilo (López-Casamayor, 2007).

La principal función de los esteroles en plantas es formar parte de las membranas y determinar su viscosidad y su estabilidad, además tienen funciones protectoras frente a insectos como en el caso de la ecdisona

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

aislada del helecho común, en conjunto con los estanoles hacen decrecer el nivel de colesterol; disminuyen la absorción de los antioxidantes solubles en agua, como carotenoides y tocoferoles y los efectos del cáncer de próstata, el sitosterol mejora la hiperplasia benigna, y en cáncer de colon, parece tener un efecto protector de proliferación de células epiteliales (López-Casamayor, 2007).

Saponinas

Son metabolitos secundarios que aparecen normalmente como heterósidos que son solubles en agua y en disolventes orgánicos polares (*etanol, metanol*) e insolubles en disolventes orgánicos apolares (*éter de petróleo, cloroformo y hexano*); y son encontrados mayoritariamente, pero no de forma exclusiva, en el reino vegetal. Sus estructuras están formadas por una parte glucídica (azúcar o cadena azucarada) que puede ser neutra o ácida y otra no glucídica (aglicón o genina) denominada sapogenina, que son insolubles en agua y solubles en disolvente orgánicos apolares (López-Casamayor, 2007).

Las saponinas tienen las siguientes características: a) Son capaces de hemolizar los glóbulos rojos (*saponinas terpénicas*), b) Cuando están disueltas en agua, se agitan vigorosamente y producen espuma, persistente hasta por 30 min debido a sus propiedades tensioactivas, c) Las saponinas

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

son tóxicas para los peces, porque producen parálisis de las agallas (López-Casamayor, 2007).

Las saponinas, han sido poco estudiadas en el aspecto biológico, pero se han probado como anticancerígena, acción estimulante uterina, hipotensora y como depresores coronarios y su utilidad quimio sistemática. En farmacia como expectorantes, venotónicas y diuréticas, como es el caso de *Eryngium campestre* L., *Allium porrum* L., *Agave americana*. En la industria farmacéutica se emplean como agentes espumantes y emulgentes. Se han relacionado con un efecto estimulante, tonificante y anti estrés, así como antimicrobiano, antivírico, antimicótico y molusquicida debido a las saponinas triterpénicas (López-Casamayor, 2007).

Glicósidos cardíacos.

Son sustancias amargas, derivadas de los esteroides, tiene acción sobre el corazón. Son semejantes a las saponinas esteroideas en la solubilidad y porque disminuyen la tensión superficial cuando están disueltos en agua. Tienen unido al carbono 17 un anillo de una lactona insaturada. Se encuentran de forma natural en forma de glicósidos o de agliconas. Quizá el más conocido sea la digitoxina, o su análogo digoxina, aislada de *Digitalis purpurea* y son utilizados como medicamentos en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca congestiva (López-Casamayor, 2007).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Compuestos fenólicos (Flavonoides, Taninos y Antocianinas).

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, poli fenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo. Desde el punto de vista de la estructura química, son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos y la lignina. En el grupo también se encuentran pigmentos flavonoides. Muchos de estos productos están implicados en las interacciones planta-herbívoro (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Flavonoides.

Son un grupo de metabolitos secundarios ampliamente distribuidos, son los responsables de coloraciones de las plantas y de actividades biológicas. Derivan de la estructura fundamental $C_6-C_3-C_6$, es decir, dos anillos de benceno unidos por una cadena de 3 átomos de carbono. Se forman en las plantas a partir de una unidad del ácido cinámico (vía del ácido shiquímico). Se clasifican en función del grado de oxidación de la cadena de 3 átomos de carbono: siendo las principales las antocianinas, flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavanonas (regaliz), catequinas, leucoantocianinas, chalconas, auronas. Se han identificado cerca de 2.000 flavonoides y son particularmente abundantes en las familias: Polygonaceae, Rutaceae, Fabaceae, Umberiferae y Compositae. Suelen encontrarse en los órganos

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

jóvenes de las Angiospermas como botones florales y hojas. Tienen interés en la quimiotaxonomía, facilitan la polinización, reguladores de crecimiento, poseen sustancias que protegen a las plantas del ataque de microorganismos, sustancias edulcorantes, actividad estrogénica, anticancerígena, diurética (*Lespedecia capitata* Michx., *Aphloia*), antiespasmódica (*regaliz*, *perejil*), entre otras (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Antocianinas.

Son flavonoides pigmentados que se encuentran en la savia de las plantas, responsables de la mayoría de los colores de las flores y los frutos. Conserva el sistema C₆-C₃-C₆, pero carece de carbonilo en posición 4, pueden tener en su estructura grupos hidroxilo o metoxilo. Por ello son útiles en la polinización y en la dispersión de semillas. Cuando las antocianinas carecen de azúcar se denominan antocianidinas. Se encuentran en los arándanos rojos y negro (*Vaccinium vitis-idaea* L., *Vaccinium myrtillus* L.), la malva (*Malva sylvestris* L.), la zarzamora (*Rubus fruticosus* B.) y en las hojas de vid roja (*Vitisvinífera* L.). Entre sus aplicaciones terapéuticas está el uso en afecciones capilares y venosas, para disminuir la permeabilidad y fragilidad capilar el *V. myrtillus*, en enfermedades oculares, con problemas de visión nocturna, ya que regeneran la pigmentación de la púrpura retiniana, y en la prevención de las alteraciones vasculares propias de la diabetes (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Taninos.

Son compuestos polifenoles de origen natural, sin nitrógeno, hidrosolubles, capaces de precipitar macromoléculas (proteínas, celulosa, gelatina), alcaloides y metales pesados, esta capacidad de precipitar proteínas es la base de sus propiedades principales: capacidad de curtir cueros y el poder astringente. Con peso molecular entre 500-3.000 aproximadamente, son capaces de formar uniones estables con las proteínas y otros polímeros como la celulosa y la pectina. De acuerdo a la estructura del polifenol se clasifican en dos grupos: (1) Hidrolizables, tienen como núcleo un polialcohol; son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, sobre todo ácido gálico (*Rheum sp.*, *Hamamelis virginiana* L., *Castanea vesca* L.) y azúcares simples; son más pequeños que los condensados y son hidrolizados por ácidos, bases o enzimas. (2) Condensados, se forman por condensación de 2 o más moléculas de leucoantocianidinas o catequinas (*Fraxinus excelsior* L., *Eucalyptus globulus* Labill., *Kola vera* Schum., *Krameria triandra* Ruiz & Pavon); son polímeros de unidades de flavonoides unidas por enlaces C-C, los cuales no pueden ser hidrolizados pero sí oxidados por un ácido fuerte para rendir antocianinas (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Existen familias ricas en taninos como: Coniferae, Labiatae, Fabaceae (roble y castaño), Myrtaceae, Polygonaceae, Rosaceae (Zarzamora, agrimonia, tormentilla),

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Rubiaceae, Ericaceae (arándano, madroño), Jugladiaceae (nogal). Pueden estar en los órganos, cortezas, madera, raíces, rizomas, flores, frutos y semillas. En los vegetales desempeñan una función protectora, por su acción antibiótica y repelente; se usan como antídotos en intoxicaciones por metales pesados o alcaloides, como cicatrizante favoreciendo la regeneración, antidiarreico, tiene acción bactericida, bacteriostática, anti fúngica y antiviral por ser antisépticos, y también se usa para problemas de piel, acción hemostática en heridas sangrantes (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Cumarinas.

Las cumarinas son sustancias derivadas de la α -benzopirona, formadas en las plantas a partir del ácido cinámico. Es un compuesto sencillo y en las plantas existen derivados de hidroxilados (*umbeliferona*), metoxilados y prenilados (*suberosina*, *xantelitina*), furanocumarinas (*psolareno*) y una gran variedad de compuestos. Están ampliamente distribuidas en las plantas, se han identificado 1500 en más de 800 especies, especialmente en las familias: Fabaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Asteraceae, Umbeliferae, Apocinaceae, Compositae, Orquidaceae, Labiatae, Leguminoseae, Ericaceae, Myrtaceae (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Tiene importancia biológica como agentes fotosensibilizantes de la piel, por su acción anticoagulante, estrogénico, sedante, vasodilatadora, antihelmíntica, antibacteriana, antifúngica. Por sus propiedades farmacodinámicas abarcan una amplia gama terapéutica. Hay actividades

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

antioxidantes en extractos de *Terminalia chebula* Retz., *Punica granatum* L., *Myrica nagi* Thunb. y *Cassia auriculata* L. Algunas muestran fitotoxicidad frente a insectos (es el caso del psoraleno) tras activarse por luz UV, acción llevada a cabo por bloqueo de la transcripción y de la reparación de DNA, provocando la muerte celular (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Alcaloides.

Se puede afirmar según Sanabria (1983), que “la mayoría de alcaloides son sustancias con carácter básico, contienen nitrógeno heterocíclico, son obtenidas de Angiospermas y tienen actividades fisiológicas muy marcadas”. Son una familia de más de 15.000 metabolitos secundarios; se caracterizan porque se forman a partir de aminoácidos, contienen en general nitrógeno heterocíclico, tienen la capacidad de combinarse con sustancias de origen ácido para dar sales. Por lo tanto, son compuestos nitrogenados de origen vegetal, dan reacción alcalina, y tienen actividad biológica. Se sintetizan normalmente a partir de lisina, tirosina y triptófano, aunque algunos como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Son un grupo heterogéneo de compuestos con estructuras variadas y generalmente complejos, todos tienen C, H, N, la mayoría tienen oxígeno y poco azufre. Existen cuatro tipos: *Alcaloides verdaderos* tienen siempre un nitrógeno heterocíclico, son de carácter básico y existen en la naturaleza normalmente en estado de sal, biológicamente son formados a partir de

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

aminoácidos, poseen una significativa actividad farmacológica; *Protoalcaloides*, son aminas simples (colchicina y efedrina) con nitrógeno extra cíclico, de carácter básico y son productos del metabolismo de los aminoácidos; *Pseudoalcaloides*, presentan las características de los alcaloides verdaderos, tienen un anillo heterocíclico con N, pero no derivan de aminoácidos; *Alcaloides imperfectos*, son derivados de bases púricas, no precipitan con los reactivos específicos para alcaloides (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Se encuentran en el 20% aproximadamente de las plantas vasculares, la mayoría de dicotiledóneas como: Solanaceae, Papaveraceae, Rubiaceae, Apocinaceae, Rutaceae, abaceae, Logoniaceae, en alta cantidad, y en Rosaceae, Labiatae, Cruciferae en mínima cantidad. Está en las raíces (acónito, belladona, rauwolfia), corteza (quina, yohimbo), en hojas (belladona, coca, beleño, tabaco, té), en frutos (adormidera) o en las semillas (cacao, té, cólchico). Con propiedades hipotensoras a nivel general y en el globo ocular (*Pilocarpus jaborandi*), los alcaloides tropánicos tienen una acción intensa sobre el sistema nervioso, para tratamiento de migrañas e inducción del movimiento uterino (*Secale cereale*), para el tratamiento de la hipertensión (*Rawolfia serpentina*), en dosis pequeñas como estimulante y grandes dosis como veneno (*Strychnos nux-vomica*), para el tratamiento de la leucemia (*Vinca rosea* L.), estimulantes del sistema nervioso y diurético discreto (*Theobroma cacao*), género *Coffea*. En general los alcaloides

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

generan respuestas fisiológicas y psicológicas en los humanos como consecuencia de su interacción con neurotransmisores. En dosis altas, la mayoría de alcaloides son muy tóxicos. Sin embargo, en dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajante muscular, tranquilizante, antitusivo o analgésico (López-Casamayor, 2007).

Extractos.

Cuando de un proceso se obtiene una disolución que se formó a partir de un disolvente y sustancias disueltas en él, eso se conoce como extracto (Helman, 1982). También se le conoce como extracción sólido-líquido, por ser un procedimiento en el cual se pone en contacto un sólido triturado, como por ejemplo una muestra vegetal, con un líquido o disolvente de extracción en el que por lo general algunas de las sustancias composicionales del sólido son solubles en el disolvente de extracción (Ortuño, 2006). Este es un proceso de gran importancia en cuanto a que permite aprovechar las sustancias activas de una planta, el producto resultante puede ser una solución concentrada o espesa en función de la sustancia de origen, o espesarse por propio interés en base a la aplicación que se le vaya a dar. Los extractos según su consistencia y concentración de principio activo se clasifican en: extractos fluidos, secos, blandos y los crío extractos (Carrión y García, 2010).

Extractos Fluidos. Son extractos de materia vegetal que con la concentración prescrita de etanol, están preparados de forma que una parte

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

de la materia vegetal corresponde a una parte o dos partes del extracto fluido; teniendo en cuenta que 85 partes de materia vegetal seca corresponden a 100 partes de planta fresca. Por lo general los extractos fluidos se obtienen por percolación (Carrión y García, 2010).

Extractos Secos. Los extractos secos son aquellos que tienen una consistencia seca como lo indica su nombre y son fácilmente pulverizables, se obtienen por evaporación del disolvente y desecación del residuo, por ello, este tipo de extractos no deben presentar un contenido de humedad mayor del 5%, los extractos secos se caracterizan por presentar una concentración muy superior de principio activo que la droga original, son preparados bastante estables (aunque en ocasiones resultan higroscópicos) y de fácil manipulación; como líquido extractor se utiliza alcohol de diversa concentración y agua (Carrión y García, 2010).

Extractos Blandos. Este tipo de extractos poseen una concentración de principio activo superior a la de la materia vegetal original y tienen consistencia semisólida. El disolvente suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas. Los extractos blandos son poco estables y resultan difíciles de manipular; por lo que no se utilizan (Carrión y García, 2010).

Extracción.

Cuando se desea aprovechar las sustancias activas de una planta, se recurre frecuentemente a los extractos. El proceso de extracción o la extracción se basa en incorporar las sustancias activas de una planta a un

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

solvente, el solvente generalmente suele ser agua o alcohol; y el mismo se puede realizar en frío o en caliente, y el producto resultante puede ser una solución concentrada o espesa en función de la sustancia de origen, o espesarse por propio interés dependiendo de la aplicación que se le vaya a dar (Sanabria, 1983).

Procesos de extracción.

Los procesos de extracción pueden dividirse de acuerdo al disolvente utilizado, en este sentido encontramos: aquellos que se realizan mediante la extracción con agua como lo son; infusión, destilación por arrastre con vapor de agua y decocción. El segundo procedimiento es el que se realiza por extracción con solventes orgánicos y entre ellos se encuentran maceración, lixiviación o percolación, extracción Soxhlet, digestión y por fluido supercrítico (Ortuño, 2006).

Extracción con solventes orgánicos.

Maceración. La extracción se realiza a temperatura ambiente. Para ello se deja remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua o etanol, se prefiere el etanol puesto que a largos tiempos de extracción el agua puede propiciar la fermentación o la formación de mohos, lo cual no sucede con soluciones de alcohol o hidroalcohólicas) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles. El recipiente y tapa donde se almacene la muestra vegetal puede ser cualquiera, solo se debe tener precaución de que no sea atacado con el disolvente; en éste se coloca el

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

material vegetal con el disolvente y tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Luego de este periodo se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto (Sanabria, 1983).

Percolación o lixiviación. También conocido como lixiviación, es uno de los procesos más difundidos pues se puede realizar con disolventes orgánicos en frío para preservar los compuestos termolábiles que pudiera contener el material. Consiste en colocar el material fragmentado o pulverizado en un embudo o recipiente cónico y hacer pasar un disolvente adecuado a través del mismo (Sanabria, 1983). No es apropiado para resinas o materiales que se hinchen dado que el disolvente no percolará. Se requiere agregar solvente constantemente, éste al atravesar sucesivamente las capas del material, impelido por su propio peso y por la presión de la columna líquida dicho solvente se satura de los principios solubles (Albornoz, 1980).

Extracción Soxhlet. Es un método en caliente, éste se desarrolla empleando solventes con puntos de ebullición bajo, con la finalidad de evitar la degradación de la muestra. Este es un método de gran conveniencia para obtener los extractos crudos de las plantas (Sanabria, 1983).

Digestión. En el proceso de digestión se agrega solvente caliente (con temperaturas no mayores a los 50 °C) el material vegetal debe estar molido y se coloca en un material de vidrio de boca pequeña, la temperatura del

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

solvente permite una mayor extracción de los compuestos ya que la solubilidad de la mayoría de las especies aumenta con el aumento de la temperatura (Sanabria, 1983).

Extracción con fluidos supercrítico. La importancia de este proceso es que en él se aprovecha el poder disolvente de fluidos a temperaturas y presiones por encima de sus valores críticos, para llevarlo a cabo se hace uso de otros procedimientos como la separación, compresión, condensación y extracción (Sanabria, 1983).

Procesos de extracción con agua.

Decocción.

Llamada también cocimiento, este procedimiento consiste en llevar el material crudo como cortezas, raíces o tallos relativamente duros a la temperatura de ebullición durante un período variable que suele oscilar de 15 a 30 minutos (Albornoz, 1980).

Infusión.

Es el proceso en cual se somete el material vegetal (hojas, flores y sumidades floridas) previamente humedecida al contacto con el solvente a una temperatura igual a la de ebullición del agua por cinco minutos, manteniendo bien cerrado el recipiente y se deja enfriar hasta temperatura ambiente (Sanabria, 1983).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Destilación por arrastre con vapor de agua.

En el caso de la destilación por arrastre con vapor de agua, se hace referencia a una técnica utilizada para separar sustancias que son ligeramente volátiles e insolubles en agua, de otros productos no volátiles que se encuentran mezclados con ellas (Sanabria, 1983).

La destilación se puede realizar de tres formas distintas, siendo las más conocidas: la hidrodestilación simple o destilación con agua, es un caso donde se sumerge el material vegetal directamente en agua para llevarla y someterla a ebullición, la acción del agua es máxima en este método y puede presentarse hidrólisis y oxidaciones. Otra forma de destilación es la que se realiza con vapor saturado o destilación con agua y vapor, en este caso el material vegetal no entra en contacto con el agua, el vapor de agua se inyecta a través de la masa vegetal dispuesta sobre placas perforadas, para este procedimiento se recomienda que el material vegetal tenga un tamaño uniforme y así se favorezca el paso del vapor de agua. Por último se puede mencionar la destilación con vapor seco o sobre calentado, se trata de impulsar el vapor a través de la masa vegetal, colocada sobre columnas o cestones. El vapor tiende a recalentarse por la resistencia opuesta a su paso por el material y esto debe evitarse en lo posible, debido a que seca las membranas celulares e impide la salida del aceite (Sanabria, 1983).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Bacterias

Son microorganismos procariotas (unicelulares simples), sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi ni retículo endoplásmico; que se reproducen por división asexual. La pared celular que rodea a las bacterias es compleja, y existen dos formas básicas: una pared celular Gram positiva con una gruesa capa de peptidoglicano y una pared celular Gram negativa con una delgada capa de peptidoglicano; así como una membrana externa (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009).

Estructura bacteriana

Mediante el microscopio electrónico ha sido posible detallar la estructura de una célula bacteriana. Según Barrios (1996), básicamente está formada por componentes estructurales esenciales como membrana citoplasmática, material nuclear, citoplasma y ribosomas; también posee estructuras no esenciales que incluyen pared celular, capsula, flagelos, gránulos, fimbrias y esporas.

Clasificación de las bacterias

Las bacterias se pueden clasificar según su aspecto macroscópico y microscópico, por el crecimiento y las propiedades metabólicas características, por su antigenicidad y por su genotipo (Pírez y Mota, 2008).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Bacterias Gram positivas.

Poseen una pared gruesa que consta de varias capas y está formada principalmente por peptidoglicanos que rodean la membrana citoplasmática. El peptidoglicano es un esqueleto en forma de malla con una función semejante a la del exoesqueleto de los insectos. Sin embargo, el peptidoglicano de la célula es lo suficientemente poroso como para permitir la difusión de los metabolitos a membrana plasmática (Murray y cols., 2009).

Bacterias Gram negativas.

Son más complejas que las células Gram positivas. Desde el punto de vista estructural, su pared celular contiene dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplasmática. Inmediatamente por fuera de la membrana citoplasmática se encuentra una delgada capa de peptidoglicano que representa tan solo un 5% al 10% del peso de la pared celular, además esta pared celular no contiene ácido teicoicos ni lipoteicoicos. En la parte externa de la capa de peptidoglicanos se halla la membrana externa, la cual es exclusiva de dichas bacterias (Murray y cols., 2009).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Características de las bacterias

Staphylococcus aureus

Pertenece a la familia Staphylococcaceae, son cocos Gram positivos, no móviles, que no forman esporas, anaerobios facultativos y catalasa positivos. Se acomodan en pares, tétradas y en cadenas cortas, pero aparecen en forma predominante en grupos como racimos. Aunque forma parte de la microflora humana normal colonizando las narinas en el 20-40% de los adultos, puede causar infecciones oportunistas importantes en condiciones apropiadas, siendo el patógeno humano más importante de los estafilococos (Koneman, 2008).

Enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*: según Koneman, 2008 se encuentran:

- Síndrome de la piel escaldada (causado por infección de la toxina producida por la bacteria, la cual ocasiona daño a la piel en forma de ampollas, creando la apariencia de piel escaldada).
- Shock tóxico (enfermedad grave causada por una toxina producida por algunas bacterias estafilococos, que desencadena fiebre, shock y problemas en varios órganos del cuerpo).
- Impétigo (infección cutánea común).
- Foliculitis (inflamación de uno o más folículos pilosos y se puede presentar en cualquier parte de la piel).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

- Forúnculos (son infecciones que afectan a grupos de folículos pilosos y tejido cutáneo adyacente).
- Bacteremia y endocarditis (la primera indica la presencia de bacterias en la sangre; mientras la segunda es la inflamación del revestimiento interno del endocardio por una infección por bacterias).
- Neumonía (inflamación de los pulmones, causada por la infección de un virus o una bacteria, que se caracteriza por la presencia de fiebre alta, escalofríos, dolor intenso en el costado afectado del tórax, tos y expectoración).
- Osteomielitis (Es una infección ósea que es causada por bacterias u otros microorganismos).
- Artritis séptica (también llamada artritis infecciosa o bacteriana, consiste en la invasión del espacio articular por una bacteria, lo cual provoca la inflamación de la articulación que se manifiesta por dolor, enrojecimiento, hinchazón).

Enterococcus faecalis

Se caracteriza por ser cocos Gram positivos, anaerobios facultativos y que pueden crecer en condiciones de temperatura, pH y osmolaridad extremas. Es la más importante en patología humana, del 100% de aislamientos de enterococos, el 85-95% se aísla *E. faecalis*. Es causante de infecciones en pacientes hospitalizados y de sepsias postoperatoria. Son 40

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

saprophytes habituales del tracto gastrointestinal y ocasionalmente forman parte de la flora vaginal y de la uretra masculina (Guirao, 2006).

Enfermedades causadas por *Enterococcus faecalis*: bacteremia; endocarditis; infecciones del aparato urinario; infecciones de heridas según Guirao, (2006):

***Escherichia coli*.**

Son bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios y anaerobios facultativos. Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y se caracteriza por su capacidad de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas. Además tiene una aptitud para desarrollarse entre 43,5-45,5°C, para crecer en presencia de sales biliares y facultad para producir indol en agua de peptona. Se encuentra en el intestino del hombre y de los animales, pero en otros ambientes también como suelo y plantas (Pascual y Calderón, 2006).

Enfermedades causadas por *Escherichia coli*:

- Gastroenteritis (es una inflamación de la membrana interna del intestino causada por un virus, una bacteria o parásitos).
- Infecciones extra intestinales.
- Infección del aparato urinario.
- Meningitis neonatal (inflamación de las meninges causada por bacterias).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

➤ Septicemia (Infección grave y generalizada de todo el organismo debida a la existencia de un foco infeccioso en el interior del cuerpo del cual pasan gérmenes patógenos a la sangre) (Pascual y Calderón, 2006).

Pseudomonas aeruginosa.

Pertenece a la familia *Pseudomonadaceae*, bacilo Gram negativo rectos o ligeramente curvos que son aerobios estrictos, son móviles por medio de unos flagelos polares, utilizan glucosa en forma oxidativa y produce un pigmento difusible. Cuando crece en placas aparece como grandes colonias grises con una periferia en expansión, muestra β -hemólisis y muestran un brillo metálico. Es el pseudomonadal que se aísla con más frecuencia en muestras clínicas, también provoca infecciones ópticas, cutáneas, urinarias y en las vías respiratorias altas, estas dos últimas son graves incluso potencialmente mortales en pacientes inmunodeprimidos. Por otro lado *P. aeruginosa* puede portar plásmidos de multirresistencia y esta característica ha conducido a la aparición de algunas cepas resistentes a todos los antibióticos eficaces (Koneman, 2008).

Klebsiella pneumoniae.

Es la especie de mayor relevancia clínica dentro del género bacteriano *Klebsiella*, compuesto por bacterias Gram negativas de la familia *Enterobacteriaceae*, que desempeñan un importante papel como causa de las enfermedades infecciosas oportunistas. El género fue llamado

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

así en honor a Edwin Klebs, un microbiólogo alemán de finales del siglo XIX. El bacilo ahora conocido como *Klebsiella pneumoniae* también fue descrito por Karl Friedländer, y durante muchos años se conoció como el bacilo de Friedländer (Koneman, 2008).

Enfermedades causadas por *Klebsiella pneumoniae*:

- Neumonía lobular (La neumonía lobular, como su nombre indica sólo afecta a un lóbulo del pulmón).
- Infecciones de heridas.
- Infecciones de tejidos blandos.
- Infecciones del aparato urinario (Koneman, 2008).

Actividad antibacteriana.

Los antibacterianos dañan a los patógenos perturbando la síntesis de la pared celular bacteriana, inhibiendo la síntesis de proteínas o de ácidos nucleicos, alterando la estructura y la función de la membrana, o bloqueando vías metabólicas por la inhibición de enzimas claves. Las bacterias poseen una estructura relativamente simple. Son microorganismos procariotas, es decir, unos microorganismos unicelulares sencillos, sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi ni retículo endoplásmico que se reproducen por división asexual (Prescott, Harley y Klein, 1999).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

El organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente. También se encuentran bacterias en el ambiente, como el aire que se respira, el agua que se bebe y los alimentos que se comen; aunque muchas de ellas son relativamente avirulentas, otras son capaces de provocar enfermedades potencialmente mortales, la enfermedad puede deberse a los efectos tóxicos de los productos bacterianos (toxinas) o bien a la invasión de regiones corporales que acostumbran a ser estériles (Murray y cols, 2009).

Métodos para la evaluación de la actividad antibacteriana

Método de difusión en agar con discos.

De todos los métodos disponibles se selecciona el de difusión en agar con discos por las siguientes características: factibilidad y reproducibilidad. Conocido como método Kirby-Bauer, la difusión en agar es empleada para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico. Este método comprende lo que se denomina un antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas (Garassini, 2003).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Consiste en colocar sobre la superficie de una placa de agar Müller-Hinton (que es un medio de cultivo diseñado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad) una cantidad estandarizada de bacterias, sembrándolas de forma uniforme para obtener después de la inoculación un "césped" bacteriano. Luego se colocan discos de papel de filtro impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes antibióticos (cuya elección depende del germen y del foco de infección). Posteriormente el antibiótico se difundirá desde el papel filtro al agar de forma radial. Se incuba la placa durante 18-24 horas a 37 °C (y se debe respetar tal parámetro, porque a temperaturas menores puede disminuir la velocidad de crecimiento del germen y la difusión del antibiótico, dando halos irregulares, que generalmente son difíciles de medir). La evaluación se enmarca en medir los halos de inhibición desarrollados, interpretándose de acuerdo a tablas confeccionadas previamente. Normalmente los resultados se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente sensible (I) y Resistente (R) (Garassini, 2003).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Definición Operacional de Términos

Plantas Herbáceas: las plantas herbáceas son llamadas vulgarmente hierbas o yerbas, son plantas que no presentan órganos decididamente leñosos. Los tallos de las hierbas son verdes y mueren generalmente al acabar la buena estación, siendo sustituidos por otros nuevos si la hierba es vivaz (Solomon, Berg y Martin, 2004).

Fitoquímica: aparte de nutrientes y antioxidantes en los alimentos de origen vegetal existen muchísimos componentes, que en algunos casos resultan altamente beneficiosos para la salud. Desde la década de los años cincuenta, se suele hacer referencia a ellos con la denominación de *sustancias fitoquímicas*. Bajo este concepto se reúnen sustancias que corresponden a las estructuras químicas más variadas: grandes familias de compuesto fenólicos, alcaloides derivados de isoprenos (terpenos, esteroides, carotenos), entre otros (Bello, 2010).

Material vegetal: Son partes específicas de ciertos animales o plantas medicinales, de las cuales serán extraídas dichas sustancias con poderes curativos o de los que se piense tienen poderes curativos (Carrión y García, 2010).

Principios Activos: Los principios activos son aquellos componentes de las plantas que tienen acción farmacológica, esos componentes son extraídos a partir de una droga vegetal, con la finalidad de provocar una

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

acción en el organismo, estos pueden ser de diferentes tipos y se los puede clasificar en dos grandes grupos: metabolitos primarios y secundarios (Carrión y García, 2010).

Operacionalización de las Variables

Una variable es toda característica susceptible de cambiar o adoptar, en forma cualitativa o cuantitativa, distintos valores, calidad, cantidad o dimensión. En una investigación las variables constituyen las diferentes características que presenta la población estudiada. Según Arias (2006) operacionalizar una variable es establecer el significado de la misma, con base en la teoría. En tal sentido, las variables de esta investigación fueron las siguientes:

Variable dependiente (VD): Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas, tallos y raíces de la especie *Rheum rhabarbarum* L.

Variable independiente (VI): Metabolitos secundarios presentes en los extractos de diclorometano y metanol de las hojas, tallos y raíces de la especie *R. rhabarbarum* L.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Tabla 6. Operacionalización de la variable independiente.

Variable independiente	Definición conceptual	Dimensión operacional	Dimensiones	Indicadores
Metabolitos secundarios presentes en los extractos de diclorometano y metanol de las hojas, tallos y raíces de la especie <i>R. rhabarbarum</i> L.	Los metabolitos secundarios no están necesariamente relacionados con el metabolismo esencial de la planta pero son en su mayoría responsables de la actividad terapéutica de las drogas vegetales (Carrión y García, 2010).	Se miden con pruebas cualitativas, generando reacciones de color o precipitación	Alcaloides Flavonoides Triterpenos Esteroles Cumarinas Quinonas Fenoles	Aparición de un precipitado o cambio de color. Ausencia de un precipitado o cambio de color.

Fuente. Autor

www.bdigital.ula.ve

Tabla 7. Operacionalización de la variable dependiente.

Variable Dependiente	Definición conceptual	Dimensión operacional	Dimensiones	Indicadores
Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas, tallos y raíces de la especie <i>Rheum rhabarbarum</i> L.	El fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayadas individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos (National Committee for Clinical Laboratory, 1997).	La actividad antibacteriana se puede medir usando el método de difusión en agar Kirby-Bauer con discos	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Presencia o ausencia de halos de inhibición

Fuente. Autor

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Hipótesis

Estudios previos reportan que varias especies del género *Rheum* producen metabolitos secundarios biológicamente activos, en tal sentido, es de esperar, que la especie *Rheum rhabarbarum* L. contenga compuestos relacionados y posean actividad contra cepas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) y Gram-negativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*).

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

En este capítulo se abordaron aspectos relacionados con la descripción de los métodos y procedimientos de investigación seguidos en el desarrollo del trabajo que se llevó a cabo, en este sentido encontraran: el tipo de investigación, diseño de investigación, la población y muestra, las técnicas e instrumentos de recolección de datos y los procedimientos de análisis de la información.

Tipo de Investigación

De acuerdo con el problema planteado y para dar respuesta a las características de la información, se debió delimitar el tipo de estudio con su respectivo esquema de investigación (Balestrini, 2006).

Hurtado (2009) señala que existen varios tipos de investigación los cuales pueden ser: exploratorios, descriptivos, analíticos, comparativos, explicativos, predictivos, proyectivos, interactivos, confirmatorios y evaluativos. En base a los tipos de investigación que el autor describe debemos particularmente señalar que la presente investigación es de tipo confirmatoria y que la misma se llevó a cabo existiendo investigaciones previas que fueron de carácter exploratorio, descriptivo y explicativo, Por lo

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

tanto esta investigación se basó en los tipos de investigación descriptivo, confirmatorio, y exploratorio ya que se estableció la relación de causa-efecto entre los componentes químicos de los extractos obtenidos de la *Rheum rhabarbarum* L. y su actividad antibacteriana.

Diseño de la Investigación

El diseño de la investigación fue de campo, la investigación se basó en hechos o datos reales, para ello fue necesario llevar a cabo una estrategia que permitiera analizar las características directamente de los datos o resultados obtenidos. Arias define el diseño de la investigación como “la estrategia que adopta el investigador para responder al problema planteado” (Arias, 2006). Los datos de interés se recogieron en forma directa de la realidad, en este sentido, se trató de una investigación a partir de datos originales para así describir de acuerdo a lo obtenido en las pruebas de laboratorio la posible actividad antibacteriana y los metabolitos secundarios de la planta *Rheum rhabarbarum* L.

En investigación de campo suelen hablarse de dos tipos: los experimentales y los no experimentales. Los diseños experimentales son aquellos donde el investigador ejerce control y manipulación sobre las

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

variables de estudio. Particularmente, para este caso la investigación fue experimental.

El diseño planteado para llevar a cabo la investigación estuvo definido en cuatro etapas a saber:

- ✓ La primera etapa fue preliminar o informativa, esta etapa comprendió la compilación de material bibliográfico (libros, tesis, artículos, publicaciones, ensayos, información electrónica, entre otros) con relación al tema objeto de estudio, los cuales se listaron en el apartado de las referencias bibliográficas; esto se realizó con la finalidad de establecer un marco documental, relacionado con la disposición y acondicionamiento teórico del tema sujeto a investigación y organización para la aplicación del análisis y los ensayos de laboratorio pertinentes.
- ✓ La segunda fue una etapa de campo, en la cual se hizo el reconocimiento preliminar del área de recolección de la muestra, se observó las características de las mismas, se hizo una descripción de estructuras y geomorfología de la planta y es en esta etapa donde se tomó la muestra.
- ✓ La tercera etapa fue la de laboratorio en la cual se hizo el secado de las secciones de la planta en la estufa y posterior molienda, se llevó a cabo la preparación de los extractos-muestras mediante el proceso de maceración con diclorometano (CH_2Cl_2) y metanol (CH_3OH); se llevó a

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

cabo las pruebas de tamizaje fitoquímico y finalmente se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos.

- ✓ La cuarta etapa fue la descripción de los metabolitos secundarios encontrados en los extractos y la descripción de los resultados que dieron las pruebas de actividad antibacteriana de la especie.
- ✓ En la última fase de este estudio se desarrolló un análisis e interpretación de los datos obtenidos, en el cual se correlacionaron los mismos con información ya existente de la especie en estudio y otras de la misma familia, la finalidad fue la de diferenciar los usos y aplicaciones de las diversas especies existentes, esta fase se encuentra en el trabajo como el capítulo IV.

En la figura 10 se muestra la secuencia metodológica seguida.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.



Figura 10. Secuencia del proceso metodológico.
Fuente. Elaboración propia.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

Arias (2006), señala que la población “es el conjunto de elementos con características comunes que son objetos de análisis y para los cuales serán válidas las conclusiones de la investigación”. De acuerdo a lo anterior se estableció como población todas las plantas de la especie *Rheum rhabarbarum* L.

Selección del Tamaño de la Muestra

La muestra es, en esencia un subgrupo de la población; digamos, un subconjunto de elementos que pertenecen a ese conjunto definidos en sus características al que llamamos población (Hernández, Fernández y Baptista 1998). La muestra estuvo representada por las hojas, tallos y raíces de la especie *Rheum rhabarbarum* L recolectada en el municipio Rangel del estado Mérida, específicamente en el sector La Venta del Páramo como se muestra en las figuras 11- 13.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.



Figura 11. Muestra vegetal recolectada de la especie *Rheum rhabarbarum* L.
Fuente. Autor



Figura 12. Sector La Venta del Páramo Merideño, lugar donde se recolectó la muestra de la especie *Rheum rhabarbarum* L.

Fuente. Autor

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.



Figura 13. Sector La Venta del Páramo Merideño, lugar donde se recolectó la muestra de la especie *Rheum rhabarbarum* L.

Fuente. Autor

Sistema de Variables

Mediante el proceso de Operacionalización de las Variables, se visualizan las propiedades del objeto que no son cuantificables directamente, son llevadas a expresiones más concretas y directamente medibles. Según su función las variables estudiadas en la presente investigación se clasifican en:

- ✓ **Variable Dependiente:** Actividad antibacteriana de los extractos de las hojas, tallos y raíces de la especie *Rheum rhabarbarum* L.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

- ✓ **Variable Independiente:** Metabolitos secundarios presentes en los extractos de diclorometano y metanol de las hojas, tallos y raíces de la especie *R. rhabarbarum* L.

Instrumento de Recolección de Datos

Los instrumentos que se utilizaron para la recolección de datos fueron fotografías y tablas donde se registraron los resultados del tamizaje fitoquímico de la especie *Rheum rhabarbarum* L. y actividad antibacteriana de los extractos estudiados.

Procedimientos de la Investigación

Estos son definidos como la expresión operativa del diseño de investigación y que especifica concretamente cómo se realizó la investigación (Tamayo y Tamayo, 1999). En vista de que la misma se llevó a cabo en 4 fases que fueron: la etapa preliminar, etapa de campo, etapa de laboratorio y la etapa descriptiva, a continuación se señalan las técnicas e instrumentos para cada fase o etapa.

Etapa preliminar: para recolectar la información necesaria en la investigación se usaron instrumentos como computadoras, teléfonos móviles,

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

internet. En relación a las técnicas empleadas se usó el fichaje, resumen y análisis de contenido.

Etapas de campo: para la recolección de la muestra se utilizaron técnicas de podamiento y los instrumentos usados fueron una podadora de mano para recolectar la muestra y un saco de yute para trasladar la misma, el material vegetal recolectado para la investigación, comprendió el tallo, las hojas y raíces de la planta para un total de 705 gr. Ver figura 14.

Cabe además señalar que se tomaron algunos criterios tanto de inclusión como de exclusión para la toma de la muestra con la finalidad de obtener uno de los mejores ejemplares para las pruebas que se llevarían a cabo.

Criterios de Inclusión:

- Planta de Ruibarbo con tallos entre los 15 y 30 cm.
- Germinaciones en áreas de páramo con rangos de temperatura inferiores a los 12 grados centígrados.
- Selección de muestra que comprenda toda la estructura o parte de ella (hojas tallo y raíz).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.



Figura 14. Partes de la muestra vegetal recolectada.

Fuente. Autor

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Criterios de exclusión:

- Plantas de Ruibarbo con tallos inferiores a los 15 cm o superiores a los 30 cm. Asimismo, aquellas muestras muy deterioradas por la influencia de condiciones climáticas, erosión o intemperismo en la zona, fueron rechazadas.
- Muestras incompletas en cuanto a secciones estructurales.

Etapa de laboratorio:

Preparación del material vegetal: las muestras de hojas, tallos y raíces de la especie *Rheum rhabarbarum* L. se colocaron cada una de forma independiente, en bolsas de papel periódico, en trozos pequeños, seleccionando las partes que estuvieran en mejores condiciones y desechando las que estuvieran afectadas por el sol o afectadas por insectos. Posteriormente se trasladaron a la estufa a una temperatura de 40°C. Una vez terminado el proceso de secado, se llevó cada parte a un molino con la finalidad de obtener muestras pulverizadas.

El material obtenido fue de 106 g de hojas, 325 g de tallo, 140 gr de raíz; luego se tomó 50 g de hojas, 70 g de raíz y 100 g de tallo para maceración en diclorometano (CH_2Cl_2), se tomaron las mismas cantidades (50 g de hojas, 70 g de raíz y 100gr de tallo) para realizar otra maceración en metanol (CH_3OH) y se dejó reposar durante una semana con agitación esporádica.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Obtención de los extractos vegetales: luego de una semana se realizó el proceso de obtención de los extractos a través del método de maceración se filtraron las soluciones obtenidas y se evaporaron las muestras a presión reducida (rota evaporador), finalmente se guardaron los extractos obtenidos debidamente etiquetados.

Pruebas de tamizaje fitoquímico.

Sobre los extractos de la planta seleccionada, se realizaron pruebas químicas de coloración y/o precipitación, para identificar la presencia del metabolito respectivo.

Reconocimiento de alcaloides: los alcaloides son bases nitrogenadas, las cuales pueden convertirse en sus respectivas sales mediante la adición de un ácido diluido y formar precipitados al reaccionar con los reactivos específicos para alcaloides. En este caso se utilizaron los reactivos de: Mayer, Dragendorff y Wagner, para las pruebas químicas correspondientes a alcaloides, se tomó extracto de diclorometano y metanol en (raíz, tallo y hojas), se adicionó aproximadamente 0,5 mL de cada uno de los extractos; luego se agregó volumen suficiente de ácido clorhídrico al 1%, calentando al baño maría durante 10 minutos, se enfrió la muestra y se filtró, nuevamente se agregó el filtrado correspondiente a cada uno de los tubos de ensayo. Posteriormente se adicionó 2 gotas del reactivo de Dragendorff, 2 gotas del reactivo de Mayer y una pizca de NaCl a los extractos correspondientes y

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

finalmente se les agrego 2 gotas de reactivo Wagner a los otros extractos. Lo que se debe observar en las pruebas es una turbidez o precipitado, eso es indicativo de la presencia de alcaloides (Domínguez, 1973).

Reconocimiento de esteroides y triterpenos: la prueba se realizó para los extractos obtenidos en diclorometano y metanol tanto para raíz, tallo y hojas; la prueba cualitativa llevada a cabo fue el ensayo de Lieberman Bourchard: para ello en un tubo de ensayo limpio y seco se tomó 1 mL de los filtrados y se agregó por la pared del tubo 1 mL de anhídrido acético y con precaución 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado (Domínguez, 1973). En este caso la aparición de coloraciones: verdes, azules, rojas o violetas es prueba positiva para esteroides y/o triterpenoides en la muestra.

Reconocimiento de taninos: para la prueba se colocaron 2 mL de extracto de diclorometano y metanol: raíz, tallo y hojas en un tubo de ensayo cada uno y se adicionaron 2 gotas de solución de tricloruro férrico (FeCl_3 al 1%) (Domínguez, 1973). En este caso la aparición de un color verde, azul o negro es prueba positiva para taninos.

Reconocimiento de quinonas: para la prueba se colocaron 2 mL de extracto de diclorometano y metanol en: raíz, tallo y hojas en un tubo de ensayo cada uno y se le adicionó 1 mL de la solución previamente preparada de hidróxido de sodio al 5% en amoníaco al 2% (Domínguez, 1973). La

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

aparición de un color rojo cereza en la capa acuosa indica presencia de quinonas en la muestra.

Reconocimiento de antraquinonas: en este caso la prueba se basó en la reacción de Bornträger, la cual se utiliza frecuentemente para investigar la presencia de principios antraquinónicos en vegetales. Se colocaron 2 mL de extracto de diclorometano y metanol en: raíz, tallo y hojas en un tubo de ensayo cada uno y se les agregó 1 mL de NaOH diluido, se observó la coloración formada la cual fue indicativo de la presencia o no de antraquinonas. Según Domínguez, (1973) una coloración roja indicará la presencia de agliconas libres oxidadas y la intensidad del color será proporcional a la concentración de principios activos que dan los derivados antraquinónicos en medio alcalino.

Reconocimiento de cumarinas: se llevó a cabo mediante el ensayo de Hidróxido de Amonio el cual se basó en la apertura y solubilización en medio básico. Las cumarinas se caracterizan por su intensa absorción de la región UV del espectro, las cuales al ser examinadas a la luz ultravioleta presenta coloración exaltada en presencia de amoniaco (Domínguez, 1973).

Reconocimiento de flavonoides: para la prueba se hizo el ensayo de Shinoda para lo cual se usó el magnesio en polvo que reacciona con ácido clorhídrico concentrado. El hidrógeno generado produce por reducción el ión flavilio de color rojo escarlata (Varia desde rosa muy débil hasta el rojo escarlata). Todos los flavonoides, excepto chalconas, auronas e isoflavonas

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

dan positiva esta reacción (Domínguez, 1973). En la tabla 8 se observan las pruebas realizadas como parte del tamizaje fitoquímico.

Tabla 8. Pruebas de tamizaje fitoquímico.

Objetivo de investigación	Reacción	Insumos
Alcaloides	Dragendorff	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 0,5 mL de extracto en metanol y diclorometano. ✓ 1 mL de HCl al 1% ✓ 2 gotas de reactivo Dragendorff.
	Wagner	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 0,5 mL de extracto en metanol y diclorometano. ✓ 1 mL de HCl al 1% ✓ 2 gotas de reactivo Wagner.
	Mayer	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 0,5 mL de extracto en metanol y diclorometano. ✓ 1 mL de HCl al 1% ✓ pizca de NaCl. ✓ 2 gotas reactivo Mayer
Compuestos fenólicos	FeCl ₃ al 1%	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 5 gr de extracto en metanol y diclorometano. ✓ 2 gotas de Cloruro férrico (FeCl₃)
Cumarinas		<ul style="list-style-type: none"> ✓ 0,5 mL de etanol. ✓ Dos gotas de hidróxido de Amonio.
Quinonas		<ul style="list-style-type: none"> ✓ 5 gr de extracto en metanol y diclorometano. ✓ Dos gotas de hidróxido de Amonio.
Antraquinonas	Borntrager	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 2 mL de extracto en metanol y diclorometano. ✓ Hidróxido de sodio al 5% en ✓ Amoniaco al 2%.
Triterpenos y Esteroides	Liebermann- Bourchard	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 mL de extrato en metanol y diclorometano. ✓ Ácido sulfúrico ✓ 1 mL de anhídrido acético C₄H₆O₃
Flavonoides	Shinoda	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1mL de extracto acuoso -1mL HCl concentrado ✓ 1 Biruta de Mg ✓ 1mL de alcohol amílico (agitar y dejar reposar)

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Determinación de la actividad antibacteriana por el método de Difusión de Agar en Disco (Kirby – Bauer).

Prueba de Susceptibilidad Antibacteriana.

Para evaluar la actividad antibacteriana se empleó la técnica de difusión en agar con disco llamada también método de Kirby- Bauer, prueba que permite medir la susceptibilidad *in vitro* de microorganismos patógenos y fitopatógenos frente a una sustancia o a la mezcla de varias sustancias desconocidas de origen vegetal con potencial antimicrobiano (Prescott et al., 1999). Se emplearon bacterias de referencia internacional: *Staphylococcus aureus* (ATCC 27922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Actinomicetos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo la asesoría de la Profesora Yndra Cordero de Rojas.

Método de Difusión en Agar con Discos.

Preparación de las Placas: Se depositaron aproximadamente 20 mL de agar Müller-Hinton (HIMEDIA®) en placas de Petri (CLSI, 2014), suplementado con 2 % p/v de glucosa y azul de metileno (0,05 µg/mL)

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

(NCLS, 2004). Luego las placas se dejaron solidificar a temperatura ambiente y se conservaron a 4 °C hasta su uso.

Preparación de los Discos: Se emplearon discos de papel de filtro de 2 mm de grosor por 6 mm diámetro, los cuales se organizaron en una placa de Petri y se esterilizaron con luz ultravioleta (LUV), durante toda la noche previa al ensayo. Posteriormente fueron impregnados con 10 µL de cada extracto en una concentración de 1000 µg/mL por separado y de igual modo se impregnaron discos con el solvente utilizado (dimetil-sulfóxido DMSO), como control negativo y disco de antibióticos comercial como control positivo.

Preparación del Inóculo Microbiano: Cada inóculo bacteriano se preparó en solución salina fisiológica (SSF) estéril (0,85 % p/v NaCl), a partir de un cultivo fresco de cada cepa bacteriana repicada en caldo Müeller-Hinton, hasta que se logró una turbidez correspondiente al patrón de McFarland N° 0,5 (1×10^6 - 8×10^8 UFC/mL, UFC: unidades formadoras de colonias).

Inoculación: Una vez preparado el inóculo de cada microorganismo, se sembró en la superficie del agar con un hisopo estéril. Se colocaron los discos de papel de filtro, previamente impregnados con los extractos y con el control negativo sobre la superficie del agar inoculado. También se colocó el

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

disco estándar del antibiótico de referencia como control positivo según el microorganismo ver tabla 9.

Tabla 9. Microorganismos y Compuestos de Referencia Usados en la Prueba de Susceptibilidad Antibacteriana.

Microorganismos	Compuesto de referencia.
<i>S. aureus</i> ATCC 27922	Eritromicina 15 µg
<i>E. faecalis</i> ATCC 19433	Ampicilina 10 µg
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Piperacilina 100 µg
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357	Piperacilina 100 µg
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Piperacilina 100 µg

Incubación: Después de haber colocado los discos en las placas con agar Müeller-Hinton éstas se dejaron a temperatura ambiente por 30 minutos (Preincubación); luego se incubó a 37 °C por 24 horas en posición invertida, en atmósfera aeróbica. Durante dicho tiempo las cepas inoculadas bacterias adquieren los nutrientes necesarios para su crecimiento, específicamente cuando alcanzan su fase exponencial o de multiplicación en la curva de crecimiento bacteriano.

Lectura de los Ensayos: Se realizó la lectura de los halos de inhibición a las 24 horas. La medición de los diámetros de inhibición alrededor de los

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

discos impregnados con los extractos, son producto de la acción antibacteriana y se expresaron en milímetros.

Etapa descriptiva: los datos fueron procesados a través de Microsoft Word a partir de tablas con los datos obtenidos en las pruebas de tamizaje y la actividad antibacteriana.

Diseño de Análisis

Este punto es indicativo de que los datos debieron someterse a un proceso de elaboración técnica, lo cual permitió recontarlos y resumirlos, fue una etapa técnica, pero de mucha reflexión, que también involucró ciertas operaciones ordenadas y relacionadas entre ellas permitiendo interpretaciones significativas (Balestrini, 2006). En las 4 etapas; preliminar, de campo, laboratorio y descriptiva se recurrió al análisis de contenido y análisis de los datos obtenidos, cabe destacar que cuando se realizó la integración final de los hallazgos también se recurrió a otra técnica llamada triangulación de la información con la finalidad de considerar la información que se había recabado con respecto a la planta objeto de estudio para que justo con los datos obtenidos se interpretaran mejor los resultados.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de la especie.

Para realizar la descripción de la especie se usó otra investigación en la que definen técnicamente las partes de la misma habiéndose identificado estas en la muestra recolectada, de este modo se puede decir que el sistema foliar de la planta de Ruibarbo es megáfila, esto significa, que posee un sistema venoso bien ramificado y que se caracteriza por su simetría (Araya, 2010), presenta hojas grandes de aproximadamente 35 cm desde el punto donde nace la hoja hasta la punta de esta, y 40 cm perpendicular a la vena principal de la hoja, las láminas tienen forma circular y ovalada, son de color verde intenso por la cara superior (haz de la hoja) como se muestra en la figura 15 y de color verde claro por la cara inferior (envés) ver figura 16 y se caracterizan por su textura la cual es muy similar al papel. Su margen presenta ondulaciones y una prominente nervadura, de largos pecíolos (Araya, 2010).

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.



Figura 15. Haz de la hoja *Rheum rhabarbarum* L.
Fuente. Autor.

www.bdigital.ula.ve



Figura 16. Envés de la especie *Rheum rhabarbarum* L.
Fuente. Autor.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

El pecíolo es la parte comestible de la planta, son redondeados en su parte dorsal y aplastado ventralmente de color rojo. Esto además de servir como transporte de agua, actúa como soporte del limbo (de forma ondulada) y mediante movimientos de crecimiento adecuados se expone a la luz, es en esta parte en que se realiza la fotosíntesis (Araya, 2010). La estipula se encuentra en la base del pecíolo, al comenzar la brotación envuelve a la yema y al desarrollarse la hoja queda como una vaina seca que la rodea completamente y también recibe el nombre de ócrea (Araya, 2010). Ver figura 17.



Figura 17. Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Fuente. Autor

**Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.**

**Resultados para las pruebas de tamizaje fitoquímico de la especie
Rheum rhabarbarum L.**

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos de las pruebas químicas realizadas para identificar los metabolitos secundarios presentes en la planta *Rheum rhabarbarum* L.

Tabla 10. Resultados de las pruebas de tamizaje fitoquímico.

Prueba química	Metabolitos secundarios	Resultados	E.D	E.M	E.D	E.M	E.D	E.M.
			(Raíz)		(Tallos)		(Hojas)	
FeCl ₃	Compuestos fenólicos	Formación de color negro.	-	+	-	+	-	+
Shinoda	Flavonoides	Formación de color rojo.	-	+	-	+	-	-
	Cumarinas	No hubo fluorescencia bajo la luz UV	-	-	-	-	-	-
NaOH al 5% en amoníaco	Quinonas	Formación de color rojo.	+	+	++	++	+	+
Borntrager	Antraquinonas	Formación de color rojo.	-	-	++	+++	-	-
Dragendorff	Alcaloides	Formación de color naranja.	+	+	+	+	+	+
Wagner		Formación de color marrón.	+	+	+	+	+	+
Mayer		Formación de color blanco crema.	+	+	+	+	+	+
Liebermann-Bourchard	Esteroides/ triterpenos	Cambio de coloración a verde.	+++	++	+++	++	+++	++
Ensayo de Espuma	Saponinas							

(-): ausencia; (+); (++): presencia; (+++): abundancia; ED: extracto diclorometano; EM: extracto metanol.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Las pruebas de tamizaje fitoquímico muestran la presencia de compuestos fenólicos en raíz, tallo y hojas de los extractos obtenidos en metanol, sin embargo, en los extractos de hojas, tallo y raíz en diclorometano arrojan que no hay presencia de los mismos, lo cual puede indicar que debido a que este solvente tiene una polaridad distinta a los compuestos fenólicos presentes en el extracto estudiado, se supone que no solubilizó a este tipo de compuesto polifenólico, como si lo hizo el metanol; se debe recordar que los solventes usados (diclorometano y metanol) son de polaridad distinta y en función de ello los compuestos pueden o no disolverse, en tanto, se presume que el metanol fue mejor disolvente para los compuestos fenólicos que el diclorometano pues al dar una prueba positiva a través de una coloración negra que indica la presencia de este tipo de metabolito secundario en la planta. Ver figura 18.

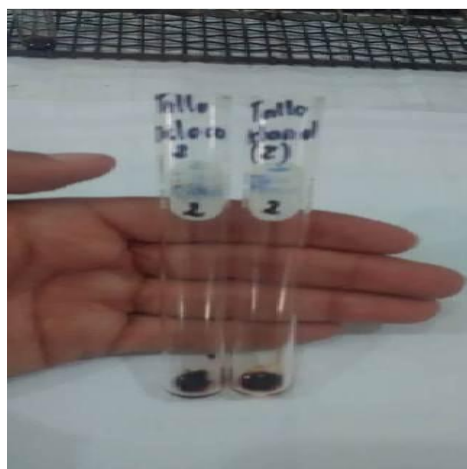


Figura 18. Reconocimiento de compuestos fenólicos.
Fuente. Autor

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Son variados los usos que se les ha dado a los compuestos fenólicos entre ellos vale la pena destacar a los taninos Rengifo (2018) citando a Monteiro indican que según la estructura química de los mismos, presentan diferentes efectos farmacológicos tales como antioxidante y antimicrobiano; se ha evidenciado actividad frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis* y *Shigella dysenteriae*, además se ha visto un efecto cicatrizante en los taninos.

Está comprobado que este tipo de compuestos son abundantes en el mundo vegetal, Rengifo (2018) hace referencia específicamente a la familia de las Rosáceas, Fabáceas, Mirtáceas y Poligonáceas; indica además que los taninos pueden encontrarse en diversos órganos como raíces y rizomas de Ruibarbo pero no indica específicamente a cual especie del género *Rheum* hace referencia, sin embargo a través de las pruebas se comprueba que están presentes en la especie estudiada.

Metabolitos secundarios como los flavonoides también fueron identificados, la prueba realizada de Shínoda permitió observar la formación de color rojo en los extractos en metanol de raíz y tallo indicando la presencia de flavonoles según la coloración.

Este tipo de metabolitos secundarios ya ha sido identificado en la especie *Rheum rhabarbarum* L. Granados y Torrenegra (2016) se refieren a

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

la especie estudiada indicando que pertenece a la familia poligonácea que contiene derivados del metilantraceno, quinonas, y compuestos fenólicos que han sido reportados como antibacterianos y antioxidantes promisorios, en la investigación llevada a cabo por ellos se identificó un total de $43,55 \pm 0,08$ para el extracto etanólico de Ruibarbo mg/g extracto como contenido total de fenoles. Ellos llegan finalmente a la conclusión de que el Ruibarbo puede ser una fuente para el desarrollo de antioxidantes naturales con potencial aplicación en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica, asimismo se puede afirmar que la capacidad antioxidante presentada por el extracto etanólico de Ruibarbo está relacionada con la presencia de fenoles.

Por otra parte Guerrero y Alarcón (2018) indican: el *Rheum rhabarbarum* L. (Ruibarbo) es una planta ampliamente distribuida en la Patagonia, poseedor de un alto contenido de derivados del estilbeno, una familia de polifenoles, por lo que en su trabajo demostraron su capacidad antiagregante en el extracto recolectado desde la ciudad de Punta Arenas, Chile. Es decir, que la capacidad antiagregante que posee la planta se debe en buena parte a la presencia de polifenoles de la misma, confirmándose así la presencia de flavonoides en la especie estudiada.

Otra clase de compuestos encontrados en la muestra vegetal fueron las quinonas, confirmándose su presencia tanto en los extractos de

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

diclorometano y metanol de hojas, tallos (principalmente) y raíz ya que hubo presencia de una coloración roja en los mismos, ver figura 19.



Figura 19. Reconocimiento de quinonas.
Fuente. Autor

Otras investigaciones han reportado la presencia de quinonas en la especie *Rheum rhabarbarum* L., por ejemplo: Pájaro y cols (2018) indican la presencia de quinonas desde la familia Poligonácea y específicamente presente en esta especie estudiada. López, Lluvia, Leyva y García de la Cruz (2011) señalan igualmente que las quinonas se encuentran en la naturaleza en forma de pigmentos en plantas y animales y están presentes en muchas hierbas que se usan tradicionalmente en China, como el Ruibarbo, cassia, sen, consuelda, nudillo gigante, polygonum y aloe vera. Evidenciándose

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

nuevamente la identificación del Ruibarbo como una de las especies que presenta este tipo de metabolitos secundarios. Las quinonas son de gran importancia pero por supuesto debe indicarse el tipo de quinonas presente en la muestra considerando que hay tres grupos principales de quinonas: las benzoquinonas (1,4-benzoquinona y la 1,2-benzoquinona), las naftoquinonas y las antraquinonas. Jiménez (2016) indica que varias quinonas desempeñan un papel importante en la naturaleza animal y vegetal teniendo funciones vitales en la bioquímica celular y en los organismos; estos son compuestos indispensables en la industria textil, fotográfica, de cosméticos, colorantes, laboratorios químicos, entre otros, por lo cual si se siguen desarrollando más investigaciones en esta especie de plantas se puede potenciar en varios niveles el uso de la misma.

De allí que también se identificaron antraquinonas, en este caso dio negativo tanto para extractos de raíz como para extractos de hojas, en extractos de diclorometano y metanol, esto pudo ser debido a que la mayor parte de las antraquinonas presentes en el Ruibarbo se encuentran glicosiladas y la prueba de Borntrager da positiva para las agliconas, sin embargo, la prueba indicó abundancia de antraquinonas en el extracto de metanol y presencia en el extracto de diclorometano para el caso de los extractos de tallo, Ver figura 20.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.



Figura 20. Identificación de antraquinonas.

Fuente. Autor

www.bdigital.ula.ve

Prateeksha, Yusuf, Singh, Sudheer, Kharwar, Siddiqui, Abdel-Azeem, Fernandes, Dashora y Gupta (2019) indican que en la especie *Rheum rhabarbarum* L. se ha encontrado presencia de antraquinonas específicamente hacen referencia al crisoptanol, este es de gran importancia porque tiene un gran potencial terapéutico, se ha evidenciado efectos beneficiosos del crisoptanol en la salud humana, validándose así el potencial de la especie trabajada.

La importancia de las antraquinonas glucolisadas radica en que los glucósidos se activan mediante las enzimas que producen las bacterias intestinales y a las pocas horas de ser absorbidas desarrollan en el intestino

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

grueso una acción laxante, por supuesto dependiendo de la dosis que sea suministrada, la forma de actuar es mediante la estimulación de los movimientos peristálticos del intestino y una inhibición de la absorción de agua por el organismo, por lo que las heces progresan más fácilmente y resultan menos deshidratadas. Este glucósido también posee acción digestiva, colerética y colagoga, es decir, favorece la digestión, así como la producción y evacuación de la bilis (Naturísima, 2017).

Según Naturísima (2017) las plantas ricas en glucósidos antraquinónicos son: aloe (*Aloe vera*), rubia (*Rubia tinctorum*), sen (*Senna Mill.*), rizoma del Ruibarbo (*Rheum rhabarbarum* L) y corteza de la cambronera (*Cortex Lycii*). Se puede ver entonces que los resultados obtenidos concuerdan con algunos reportes que hacen referencia a que el *Ruibarbo* contiene antraquinonas.

Otras investigaciones hechas al mismo género *Rheum* han arrojado presencia de antraquinonas, por ejemplo la desarrollada por Saavedra, Borja, Gordilla, Apesteguía, Jurado y Revilla (2010) en sus conclusiones indican que el análisis de los macerados acuosos y alcohólicos de *Aloe vera* L. y *Aloe barbadensis* y las infusiones acuosas recientes de *Rheum palmantum* y *Cassia senna* L. le permitieron identificar derivados antracénicos en dichas soluciones, con ello, se evidencia la presencia de antraquinonas no

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

solamente en el *Rheum rhabarbarum* L. sino en otras especies *Rheum* como el *Rheum palmatum*.

En la investigación llevada a cabo por Prateeksha, Yusuf, Singh, Sudheer, Kharwar, Siddiqui, Abdel-Azeem, Fernandes, Dashora y Gupta (2019) señalan que desde la antigüedad se utilizan distintas especies vegetales, indicando además que estas plantas se caracterizaban por presentar constituyentes con efecto laxante o purgante. Y al investigar su composición química se estableció, en todas ellas, la presencia de heterósidos antracénicos (antracenosidos), metabolitos secundarios, que por lo general, se hidrolizan fácilmente.

Más adelante Valenzuela y Peña (2014), también hablan acerca de las diantronas, estos son compuestos derivados de dos moléculas de antrona, que pueden ser idénticas o diferentes entre sí, son geninas importantes en especies del género *Cassia*, *Rheum* y *Rhamnus*. Unas de las más conocidas son los senósidos, derivado de dos moléculas de reínantrona unida a dos moléculas de glucosa. Podemos entonces decir que posiblemente un tipo de antraquinona en la especie sería la diantrona, ya que se han identificado dentro del género *Rheum*, esto serviría de indicadores cuando se investigue específicamente acerca de los tipos de antraquinonas presentes.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

En las pruebas de tamizaje fitoquímico también se obtuvo resultados positivos para esteroides, en el caso de los extractos de diclorometano de raíz dio abundancia y presencia en el extracto de metanol y los mismos resultados se obtuvieron tanto para tallo como para hojas, la coloración para la reacción de Liebermann - Bouchard dio como resultado color verde en los extractos de estos últimos.

En este caso los extractos de diclorometano de raíz, tallos y hojas parecen tener mayor efectividad para la disolución de esteroides en la especie estudiada que el metanol, Ver figura 21.



Figura 21. Identificación de esteroides.
Fuente. Autor

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Castillo, Ramírez y Coto (2009) indican que los esteroides son ampliamente distribuidos en las plantas y funcionan como moléculas señal involucradas en procesos como la elongación del tallo, la diferenciación vascular, fertilidad masculina, tiempo de senescencia y florecimiento, desarrollo de las hojas y resistencia al estrés biótico y abiótico. Con ello queda en evidencia que los esteroides forman parte de la estructura química de las plantas.

En la especie *Rheum hotaoense* los investigadores Agarwal, Singh, Lakshmi (2001) identificaron sitosterol y daucosterol, que a nivel farmacológico son de gran importancia. Castillo y cols, (2009) en la investigación desarrollada para ver la función de tres grupos de esteroides de plantas como lo fueron los brasinoesteroides, seco-pregnanos y ácido ursólico observaron resultados inhibitorios de estos ante distintos virus de animales.

Por otra parte, en las pruebas de tamizaje se buscó identificar la presencia de metabolitos secundarios como las Cumarinas, pero las pruebas indicaron que no hay presencia de estos compuestos en ninguno de los extractos obtenidos de raíz, tallo y hojas para la especie *Rheum rhabarbarum* L. Lo cual es congruente con lo que expresa la bibliografía consultada hasta ahora, Smith (2014) indica que se han aislado al menos 1000 cumarinas naturales en unas 150 especies distribuidas en aproximadamente 30 familias

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

principalmente; Umbeliferae / Apiaceae, Rutaceae, Leguminosae, Fabaceae, Papilionaceae, Rubiaceae Luminaceae, Asteraceae, Solanaceae, Gramineae, entre otros. En este sentido se puede descartar la presencia de Cumarinas en la especie estudiada ya que la misma pertenece a las Polygonaceae; además según la tabla 2 en la que se presentan algunos compuestos químicos de algunas especies del género *Rheum* se puede evidenciar que ninguna de las especies indican la presencia de cumarinas, de allí ese resultado negativo puede validarse.

Finalmente se indica que se hicieron las pruebas para identificar presencia de alcaloides en la especie *Rheum rhabarbarum* L, en este caso se usaron las reacciones Dragendorff, Wagner y Mayer para los extractos de diclorometano y metanol en hojas, tallo y raíz; estas dieron positivas para cada uno de los extractos, observándose una coloración naranja para Dragendorff, marrón para Wagner y blanco crema para Mayer. Sin embargo, cabe acotar que este resultado puede ser un falso positivo, ya que dentro los metabolitos secundarios encontrados están las quinonas y antraquinonas que pueden reaccionar con los reactivos usados para la determinación de alcaloides y producir precipitados, adicionalmente, según la revisión bibliográfica realizada sobre la especie ningún autor indica la presencia de alcaloides en la especie *Rheum rhabarbarum* L, en tal se sentido se sugiere

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

realizar una extracción acido-base, específica para alcaloides y determinar si realmente están presentes en los extractos analizados.

Resultados para las pruebas de actividad antibacteriana de la especie *Rheum rhabarbarum* L.

Los resultados obtenidos en base a una concentración de 1000 µg/mL se observan en la tabla 11.

Tabla 11. Resultados de las pruebas de actividad antibacteriana.

Extractos 1000 µg/mL	Bacterias/Halos de inhibición (mm)				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
EDM. Hojas	7	----	8	7	7
EDM. Tallos	7	----	8	7	8
EDM. Raíz	7	----	8	8	8
EM. Hojas	8	----	----	7	7
EM. Tallos	8	----	7	9	9
EM. Raíz	8	----	7	8	9
Control positivo	26 Eritromicina	17 Ampicilina	21 Piperacilina	18 Piperacilina	32 Piperacilina

EDM: Extracto Diclorometano; EM: Extracto Metanol; mm: milímetro

Los resultados de la evaluación de la sensibilidad antibacteriana de los extractos diclorometano y metanol de *R. rhabarbarum* L. (tabla 11), permitieron inferir que los extractos tienen una actividad antibacteriana frente a las cepas: *S. aureus*, *E. coli* (excepto para el extracto de hojas en metanol donde

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

no se obtuvo halo de inhibición), *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*; mientras que para *E. faecalis* no se obtuvo halo de inhibición en ninguno de los extractos.

Asimismo, se puede observar que los halos de inhibición fueron mayores en las cepas de bacterias Gram- negativas variando entre 7 mm y 9 mm, mientras que para las bacterias Gram-positivas se obtuvo una variación entre 7mm y 8 mm (ver figuras 22- 26 en anexos).

Ahora bien, se obtuvieron los porcentajes de inhibición obtenidos para las cepas de bacterias en cada uno de los extractos (ver tabla 12) para así tomar como criterio de selección, aquellos que fueron capaces de inhibir en más de 90% en las cinco cepas (*S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y) y así determinar si se podía obtener la CMI, sin embargo como el halo de inhibición dio por debajo de 50% en todas la cepas no se determinó la CMI (Pájaro, Granados y Torrenegra, 2018).

Tabla 12. Porcentajes de inhibición obtenidos en comparación con los controles positivos de las cepas de bacterias.

Extractos	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
EDM. Hojas	26,92 %	----	38,10 %	38,89 %	21,87 %
EDM. Tallo	26,92 %	----	38,10 %	38,89 %	25,00 %
EDM. Raíz	26,92 %	----	38,10 %	44,44 %	25,00 %
EM. Hojas	30,76 %	----	----	38,89 %	21,87 %
EM. Tallo	30,76 %	----	33,33 %	50,00 %	28,13 %
EM. Raíz	30,76 %	----	33,33 %	44,44 %	28,13 %

EDM: Extracto Diclorometano; **EM:** Extracto Metanol

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Los resultados obtenidos en la investigación coinciden con otras investigaciones desarrolladas tal es el caso del trabajo realizado por Pájaro, Granados y Torrenegra en (2018) que demuestran que el extracto etanólico posee actividad antibacteriana, con valores de CMI ≥ 700 $\mu\text{g/mL}$ frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Indican además que su efecto podría ser de tipo bacteriostático y no bactericida, por tanto, concluyen que la especie vegetal *Rheum rhabarbarum* L. podría ser considerada como promisorio para el control bacteriano.

En otra investigación llevada a cabo por Canli y cols, (2016) obtuvieron como resultados que el extracto etanólico de raíz a las concentraciones de 1250 μg y 2500 μg del *Rheum rhabarbarum* L. tienen actividad inhibitoria contra 17 cepas de bacterias entre las que se encuentran *Staphylococcus aureus* que presentó una inhibición de 12 mm, *Enterococcus faecalis* con una inhibición de 12 mm, *Klebsiella pneumoniae* con inhibición de 9 mm, *Escherichia coli* con inhibición de 10 mm y *Pseudomonas aeruginosa* con inhibición de 14 mm, estos resultados muestran halos de inhibición que varían entre 12 mm y 14 mm, mientras que los obtenidos en el presente trabajo varían entre 7 mm y 9 mm para los extractos de raíz en diclorometano y metanol; dando mejor inhibición para el extracto de raíz en metanol de

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

manera similar con la investigación de Canli y cols, en donde usaron el extracto etanólico de la raíz.

Hasta los momentos distintos estudios realizados indican que los extractos de la especie *Rheum rhabarbarum* L. poseen actividad antibacteriana por lo cual, es de suponerse que entre los componentes de la misma existen diversos metabolitos secundarios que son caracterizados como antimicrobianos, entre estos vale la pena mencionar a las quinonas, las cuales en las pruebas de tamizaje de esta investigación indicaron abundancia, (Canli y cols, 2016, Pájaro, Granados y Torrenegra 2018 y Granados y Torrenegra 2016) de allí los resultados obtenidos.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En la especie *Rheum rhabarbarum* L. mediante la realización del tamizaje fitoquímico se logró identificar la presencia de compuestos fenólicos en raíz, tallo y hojas; de flavonoides en tallo y raíz; de quinonas en raíz y hojas pero abundancia en tallo; de antraquinonas en tallo pero no en raíz y hojas y de esteroides en raíz y hojas pero abundancia en tallos.

En relación a la actividad antibacteriana los resultados indicaron que los extractos de diclorometano y metanol de raíces, tallos y hojas a una concentración de 1000 µg/mL fueron activos frente a las cepas: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, excepto el extracto metanólico de las hojas que no fue activo contra la cepa *E. coli*. Asimismo, ninguno de los extractos fueron activos frente a la cepa *Enterococcus faecalis*.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

Recomendaciones

Se recomienda la separación e identificación de los compuestos presentes en cada uno de los extractos de raíz, tallos y hojas, con la finalidad de determinar otras actividades biológicas (antifúngica, antioxidante, antiinflamatoria).

Se recomienda la extracción acido-base específica para alcaloides y así poder de este modo confirmar si estos metabolitos secundarios están presentes en la especie, ya que los resultados dieron positivos pero en el material bibliohemerográfico no se encuentran reportes de presencia de alcaloides en la especie *Rheum rhabarbarum* L.

www.bdigital.ula.ve

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

BIBLIOHEMEROGRÍA

- Albornoz, A. (1980). *Productos naturales: Estudio de las Sustancias y Drogas Extraídas de las Plantas*. Caracas, Venezuela: Editorial XIX.
- Agarwal, S., Singh, S. y Lakshmi, V. (2001). Chemistry and pharmacology of *Rhubarb (Rheum* especies) – A Review. *Journal of Scientific e Industrial Research*. 60(1), 1-9.
- Araya, V. (2010). *Estudio preliminar de la composición química y el valor nutricional de frutos regionales de interés económico* (tesis de pregrado), Universidad de Magallanes, Chile.
- Arias, F. (2006). *El proyecto de investigación, introducción a la metodología científica*. Caracas, Venezuela: Espíteme.
- Ávalos, A., & Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Universidad Complutense, Madrid. Facultad de Biología. Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal). *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145pp. Recuperado desde:http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf.
- Balestrini, M. (2006). *Cómo se elabora el proyecto de investigación*. Maracaibo, Venezuela: BL Consultores Asociados.
- Barquero, A. (2007). Plantas sanadoras: pasado presente y futuro. *Química viva*, (2), 53-69. Recuperado de <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v6n2/barquero.pdf>
- Barrios, A. (1996). *Microbiología General*. Mérida, Venezuela: Universidad de Los Andes.
- Bata M., Debiao L., Saikia A., (2006). Antibacterial activity of the crude extract of chinese Green Tea. *African Journal of Biotechnology*, 7(19), 15-71.
- Bello, J. (2010). *Ciencia Bromatológica. Principios generales de los alimentos*. Madrid, España: Edigrafos.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia: fitoquímica, plantas medicinales*. Zaragoza, España: Acribia S. A.
- Canli, K., Yetgin, A., Akata, I. y Altuner, E. (2016). In vitro Antimicrobial Activity Screening of *Rheum rhabarbarum* Roots. *International journal of pharmaceutical science invention*. Recuperado de [http://www.ijpsi.org/Papers/Vol5\(2\)/A05020104.pdf](http://www.ijpsi.org/Papers/Vol5(2)/A05020104.pdf)
- Carrión, A. y García, C. (2010). "Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica" (tesis de pregrado). Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Castillo, Ramírez y Coto (2009). Prospectiva del uso de esteroides de plantas como antivirales. *Química viva*, (9), 8-24. Recuperado de <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v8n1/castilla.pdf>
- Castillejos, C. y Solano, E. (2008). *Polygonacea*. Distrito Federal, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- De Costa, J. (2011). Lynn Margulis in Memoriam. *Revista Eubacteria*, (27), 25-37. Recuperado de <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/60/64>
- Díaz, B. y Ramírez, L. (2007) Actividad antibacteriana de extractos y fracciones del Ruibarbo (*Rumex Conglomeratus*). *Scientia et Technica*. 1 (33), 397-400. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/849/84933113.pdf>
- Diccionario teórico, práctico, histórico y geográfico de comercio (1840). *Ruibarbo*. Barcelona, España: imprenta de Valentín Torres.
- Domínguez, X. (1973). *Métodos de investigación fitoquímica*. Distrito federal, México: Editorial Limusa.
- Dregus, M. y Karl-Heiz, E. (2003). Volatile Constituents of Uncooked Rhubarb (*Rheum rhabarbarum* L.) Stalks. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 51(22), 6530-6536. <https://doi.org/10.1021/jf030399I>

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

- Faisal, T., Hristozov, N., Western, T. y Rey, A. (2014). Computational study of the elastic properties of *Rheum rhabarbarum* tissues via surrogate models of tissue geometry. *J Struct Biol.* 185 (3), 285-294.
- Fernández, S. (2019). *El confidencial*. Recuperado de https://www.alimente.elconfidencial.com/nutricion/2019-06-16/ruibarbo-vegetal-rico-vitamina-k-calcio_2060186/
- Forouh, N., Gholamreza, A., Hosein, Y. y Hosein, A. (2014). Chemical composition of essential oil and anti-trichomonas activity of leaf, stems, and flower of *Rheum ribes* L. extracts. *Avicenna Journal of Phytomedicine.* 4(2), 191-199.
- Fonnegra, R. y Jiménez, S. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia.
- Fundación Universitaria Iberoamericana (FUNIBER). (2005). *Base de datos internacional de composición de alimentos*. Recuperado de <https://www.composicionnutricional.com/alimentos/RUIBARBO-1>
- Garassini, L. (2003). *Microbiología Tecnológica*. Caracas, Venezuela: Ediciones de la Biblioteca de la Universidad del Zulia.
- Gil, R., Mejías, R., Carmona, J., Mejías, R. y Rodríguez, M. (2003). Estudio etnobotánico de algunas plantas medicinales expendidas en los herbolarios de Mérida, Ejido y Tabay (Estado Mérida - Venezuela). *Revista de la Facultad de Farmacia*, 45(1), 69-76.
- Guirao, X. (2006). *Guía Clínica de Infecciones Quirúrgicas*. Barcelona, España: Aran Ediciones.
- Guerrero, A. y Alarcón, M. (2018). *Actividad antiagregante plaquetaria de Rheum rhabarbarum (ruibarbo)* (tesis de pregrado). Universidad de Talca, Chile.
- Glomb, M., Kottke, M. y Krafczyk, N (2008). Phenolic composition of rhubarb. *European food research and technology*, 228(2), 187-196. Doi: 10.1007/s00217-008-0922-y

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

- Granados, C. y Torrenegra, M. (2016). Actividad antioxidante y contenido fenólico del peciolo de *Rheum rhabarbarum*. *Revista cubana de farmacia*. Recuperado de <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/60/64>
- Helman, H. (1982). *Farmacotécnica teórica y práctica*. Ciudad de México, México: Editorial Continental.
- Herbario de la Universidad pública de Navarra (s,f). *Plantas invasoras en Navarra*. Recuperado de https://www.unavarra.es/herbario/invasoras/htm/Polygonaceae_i.htm
- Hurtado, J. (2009). *La Investigación holística* (5ª edición). Caracas: Consultores ABC.
- Instituto Interamericano de Derechos Humanos Organización Panamericana de la Salud. (2006). *Medicina tradicional y medicina convencional*. Recuperado de <http://www.bvsde.paho.org/bvsapi/e/proyectreg2/paises/costarica/medicina.pdf>
- Jiménez, L. (7 de Diciembre de 2016). Quinonas. Recuperado de <http://quinonasquimica.blogspot.com/>
- Koneman, E. (2008). *Diagnóstico Microbiológico*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana S.A.
- Labbe, E. (1994). *Pruebas de enraizamiento de estructuras vegetativas del ruibarbo (Rheum rhaponticum L)*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, (INIA), Chile. Base de Información Bibliográfica Agrícola Chilena. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias.
- López-Casamayor, E. (2007). Estudio fitoquímico y Aproximación genética en especies de la sección PLINTHINE del Género Arenaria (Caryophyllaceae). Tesis (Dr. Sc). Granada, ES: Universidad de Granada. Recuperado desde: <http://hera.ugr.es/tesisugr/16727216.pdf>.
- López L., Lluvia, I., Leyva, E. y García de la Cruz, R. (2011). Las naftoquinonas: más que pigmentos naturales. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 42(1), 6-17.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

- Ministerio de Agricultura de la República de Chile. (2009). *Resultados y lecciones en cultivo de Ruibarbo*. Recuperado de https://www.opia.cl/static/website/601/articles-75562_archivo_01.pdf
- McNeil, J., Barrie, F., Buck, W., Demoulin, V., Greuter, W., Hawksworth, D., Herdendeen, P., Knapp, S. Marhold, K., Prado, J., Prud'Home, W., Smith, G., Wirsema J., y Turland, N. (2012). *Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Hongos y Plantas*. Madrid, España: CSIC. Trads. Greuter, W y Rankin Rodríguez, R.
- Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2009). *Microbiología Médica*. Barcelona, España: Elsevier.
- National Committee for Clinical Laboratory. (1997). *Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar*. National Committee for Clinical Laboratory standards, Villanova. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC87384/>
- Naturísima. (2017). *Los glicósidos*. Recuperado de <https://www.naturisima.org/los-glucosidos/>
- Organización Mundial de la Salud. (2004). *Formulario de la Organización Mundial de la Salud OMS*. Recuperado de <https://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/4.4.html>
- Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas, y perfumes*. Recuperado de <https://books.google.com.pr/books?id=cW5TsDKqx9wC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Pájaro, N. Granados, C. y Torrenegra, M. (2018). Actividad antibacteriana del extracto etanólico del peciolo de *Rheum rhabarbarum*. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 47 (1), 26-36.
- Pascual, M. y Calderón, V. (2006). *Microbiología Alimentaria*. Barcelona, España: Ediciones Díaz de Santos S. A.
- Phyllis, A. y Balch, C. (2006). *Prescripción For Nutritional Healing*. Recuperado de https://books.google.co.ve/books?id=2s_q2y_J3rwC&pg=PA121&dq=B+s

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

[itosterol+en+Rheum+rhabarbarum&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwik2pr1o5PmAhUlx1kKHT_WBXgQ6AEIJzAA#v=onepage&q=B%20sitosterol%20en%20Rheum%20rhabarbarum&f=false](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20000000)

Pírez, M. y Mota, M. (2008). *Morfología y estructura bacteriana*. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/200g8/MorfologiayEstructuraBacteriana.pdf>

Prateeksha, S., Yusuf, M., Singh, B., Sudheer, S., Kharwar, R., Siddiqui, S., Abdel-Azeem, A., Fernandes, L., Dashora, K. y Gupta, V. (2019). Crisoptanol: una antraquinona natural con potencial bioterapéutico multifacético. *Journal Biomoleculas*, 9 (68), doi: 10.3390/ biom9020068

Prescott, L., Harley, J. y Klein, D. (1999). *Microbiología*. Caracas, Venezuela: Mc Graw- Hill- Interamericana.

Rang, H., Shen, Y., Lu, L., Hou, W., Luo, F., Xiao, H. y Yang, Z. (2012). El efecto inhibitorio de *Rheum palmatum* contra Coxsackievirus B₃ in vitro e in vivo. *The American Journal of Chinese Medicine*, 9 (2), 1-7. Recuperado de <https://doi.org/10.1142/S0192415X12500607>

Real Jardín Botánico. (2012). *Talleres de botánica ¿Para qué sirven las plantas?* Recuperado de <http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/didactica/Paraquesirvenlasplantas.pdf>

Rengifo, D. (2018). Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium Vargasianum*: Schubert. *Rev Soc Quím Perú*, 84(2), 175-182.

Rosado, J. y Moreno, M. (2010). Farmacopea guajira: el uso de las plantas medicinales xerofíticas por la etnia wayuu. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*, 41 (Especial), 1-10.

Saavedra, F., Borja, N., Gordilla, G., Apesteguía, A., Jurado, B. y Revilla, A. (2010). Análisis por espectroscopia UV y FTIR de macerados acuosos y alcohólicos de Aloe vera L. y Aloe Barbadosensis Miller. Interacción con sales inorgánicas. *Rev Soc Quím Perú*, 73 (3), 242-260.

Sanabria, A. (1983). *Análisis fitoquímico preliminar*. Bogota, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

- Shang, Z. (2011). Influencia del ruibarbo sobre la motilidad gastrointestinal y la barrera de la mucosa intestinal en pacientes con quemaduras graves. *Publmed*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22224253>
- Smith, W. (2014). *Cumarinas*. Scribd. Recuperado de <https://es.scribd.com/doc/239851124/CUMARINAS>
- Solomon, E., Berg, L. y Martin, D. (2004). *Biology*. EEUU: Cengage Learning.
- Stephens, P. (2001). *Angiosperm Phylogeny Website*. Recuperado de <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/>
- Takeoka, G., Dao, L. y Harden, L. Pantoja, M. y Kuhl, L. (2012). Antioxidant activity, phenolic and anthocyanin contents of various rhubarb (*Rheum* spp.) varieties. *Science and Technology*. 48(1), 172-178.
- Tamayo, Y. y Tamayo, M. (1999). *El Proceso de la Investigación Científica*. Distrito Federal, México: Editorial Limusa.
- Valenzuela, G. y Peña, M. (2014). *Guía de trabajos prácticos farmacognosia*. Recuperado de https://www.u-cursos.cl/usuario/c25b93f7ec03b9603ab499e3f1f7c8eb/mi_blog/r/GUIA_TRABAJOS_PRACTICOS_FARMACOGNOSIA_2014.pdf
- Vázquez, B., Martínez, B., Aliphat, M. y Aguilar, A. (2011, Julio, 7). Uso y conocimiento de plantas medicinales por hombres y mujeres en dos localidades indígenas en Coyomeapan. *Interciencia*, 36(7), 493-499.
- Vollmer, G., Papke, A. y Zierau, O. (2010). Treatment of menopausal symptoms by an extarct from the roots of rhapontic rhubarb: the role of estrogen receptors. *Chin med* 5(7), 18-24. Doi: 10.1186/1749-8546-7

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.

ANEXOS

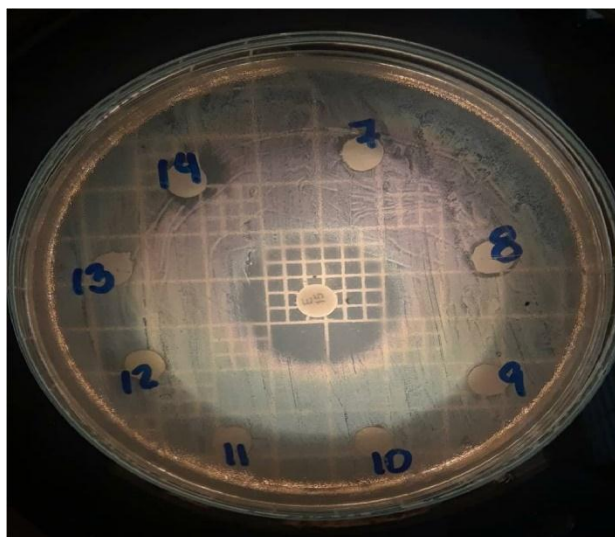


Figura 22. Actividad antibacteriana en *S. aureus*. 7: Extracto metanol de hojas, 8: Extracto metanol de tallo, 9: Extracto metanol de raíz, 10: Extracto diclorometano de raíz, 11: Extracto diclorometano de tallo, 12: Extracto diclorometano de hojas.

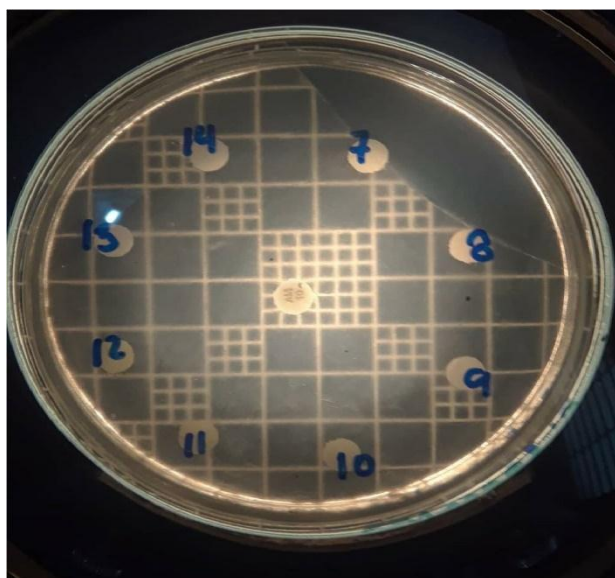


Figura 23. Actividad antibacteriana en *E. faecalis*. 7: Extracto metanol de hojas, 8: Extracto metanol de tallo, 9: Extracto metanol de raíz, 10: Extracto diclorometano de raíz, 11: Extracto diclorometano de tallo, 12: Extracto diclorometano de hojas.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie *Rheum rhabarbarum* L.

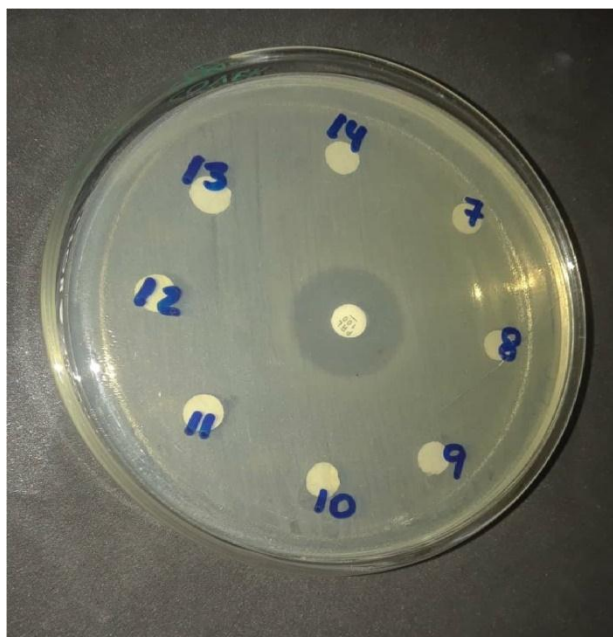


Figura 24. Actividad antibacteriana en *E. coli*. 7: Extracto metanol de hojas, 8: Extracto metanol de tallo, 9: Extracto metanol de raíz, 10: Extracto diclorometano de raíz, 11: Extracto diclorometano de tallo, 12: Extracto diclorometano de hojas.

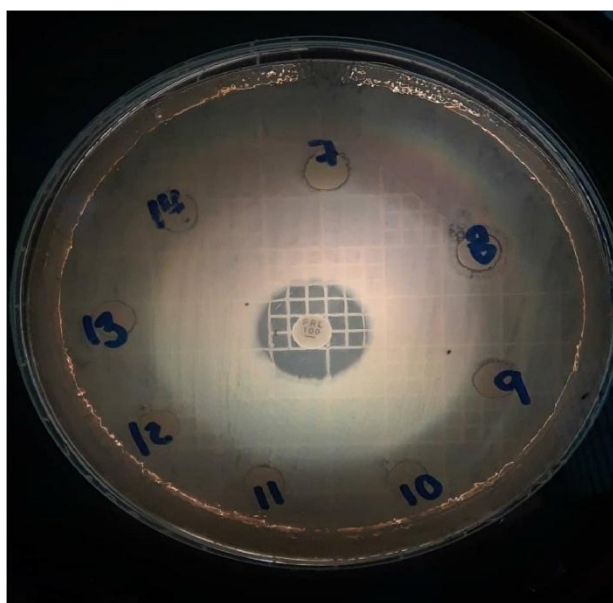


Figura 25. Actividad antibacteriana en *K. pneumoniae*. 7: Extracto metanol de hojas, 8: Extracto metanol de tallo, 9: Extracto metanol de raíz, 10: Extracto diclorometano de raíz, 11: Extracto diclorometano de tallo, 12: Extracto diclorometano de hojas.

Composición Química y Actividad Antibacteriana de la Especie
Rheum rhabarbarum L.

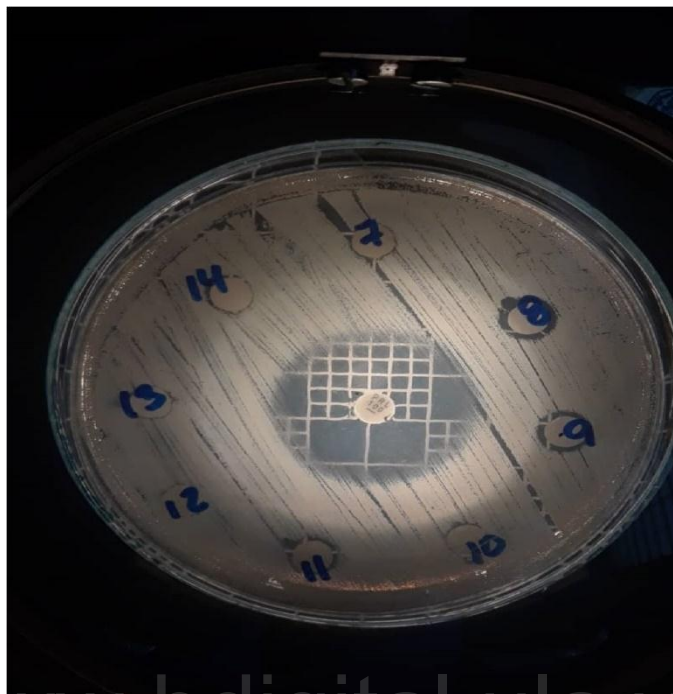


Figura 26. Actividad antibacteriana en *P. aeruginosa*. 7: Extracto metanol de hojas, 8: Extracto metanol de tallo, 9: Extracto metanol de raíz, 10: Extracto diclorometano de raíz, 11: Extracto diclorometano de tallo, 12: Extracto diclorometano de hojas.