



Actividad antibacteriana de extractos etanólicos obtenidos de *Teobroma bicolor bonpl* y *Ficus benjamina* recolectados en Solano-Caquetá (Región amazonia) contra patógenos de importancia clínica

Estudiantes

Cristian Yesid Rodríguez Navarro

Código estudiantil: 202113333508

Jeriel Moisés Cervantes Pérez

Código estudiantil: 202113333114

Andrés David Niebles Barceló

Código estudiantil: 202113331161

Randy Donado Quintero

Código estudiantil: 202023328867

Profesores tutores

Fabián Espitia Almeida, *Ph. D*

Sirlhey Navarro Gómez, *Ph. D(e)*

Juan García Bustos, *Ph.D (c)*

RESUMEN

Introducción. Los antibióticos han sido clave para salvar vidas, avanzar en la medicina y la farmacología, pero la resistencia bacteriana es un creciente problema de salud pública. Según la OMS en 2024, muchas enfermedades infecciosas son causadas por bacterias, que pueden provenir de alimentos, agua contaminada y entornos sanitarios deficientes. Se están explorando nuevas formas de combatir la resistencia de ciertos patógenos a los tratamientos antimicrobianos, y las plantas han emergiendo como una opción prometedora. Estas se consideran como posibles alternativas para desarrollar nuevos tratamientos efectivos contra microorganismos tanto sensibles como resistentes. **Objetivo.** En este estudio, se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos obtenidos de *T. bicolor bonpl* y *F. benjamina* contra cuatro patógenos de importancia clínica (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* y *S. warneri*). **Metodología.** Se realizó un estudio experimental con diseño factorial, donde se evaluó el porcentaje de inhibición bacteriana como variable dependiente, y el tipo bacteria y de extracto como variables independientes. Para obtener los extractos, el material vegetal de *T. bicolor bonpl* y *F. benjamina* se recolectó en el municipio de Solano, departamento de Caquetá, fue clasificado por un botánico experto y depositado en el Herbario de la Universidad de la Amazonia. Posteriormente, se trasladó al laboratorio de Nanotecnología y Química de la Universidad Simón Bolívar, donde fue lavado con abundante agua y secado en un horno con flujo de aire continuo a 40°C por tres días, seguidamente se trituró y depositó en botellas de vidrio con etanol al 96 % por 4 semanas. Una vez completado el tiempo de



extracción, el producto se filtró y secó mediante rotaevaporación al vacío. Luego, se realizó una caracterización fitoquímica preliminar siguiendo los lineamientos descritos por Bilbao en 1997 y procesos estandarizados por nuestro equipo de trabajo. La actividad antibacteriana se determinó mediante el método de microdilución establecido por el CLSI en 2022 y procesos estandarizados por nuestro equipo de trabajo, en este proceso se testeó cada extracto a una concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$. **Análisis estadístico.** Cada experimento se realizó por triplicado, los resultados fueron respaldados por un análisis estadístico que buscaba establecer similitudes o diferencias entre cada tratamiento, mediante una ANOVA de una vía y un análisis Post Hoc (Tukey) con el software Graphpad Prism versión 9.3. **Resultados.** Los resultados de la mancha fitoquímica revelaron la presencia de varios metabolitos secundarios en los extractos de *T. bicolor bonpl* y *F. benjamina*. En ambos extractos se detectó la presencia de varios metabolitos con abundancia leve y moderada, tales como: alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas, triterpenos y esteroides. Adicionalmente, no se evidenció la presencia de quinonas. En cuanto a los resultados de actividad antibacteriana, contra las cepas gram negativas *E. coli* y *K. pneumoniae*, se encontró que ambos extractos mostraron una actividad moderada, con porcentajes de inhibición de $56.3 \pm 3.0 \%$ y $57.9 \pm 2.6 \%$ para *T. bicolor bonpl* y *F. benjamina*, respectivamente. Contra *K. pneumoniae* los porcentajes de inhibición fueron de $57.3 \pm 0.7 \%$ y $57.9 \pm 11.0 \%$, respectivamente. De igual forma, los extractos de *T. bicolor bonpl* y *F. benjamina* resultaron activos contra las cepas gram positivas, presentando $62.6 \pm 6.3 \%$ y $67.7 \pm 3.2 \%$ de inhibición contra *S. aureus*, y $51.5 \pm 1.9 \%$ y $56.1 \pm 1.2 \%$ contra *S. warneri*, respectivamente. **Conclusión.** Los extractos de *T. bicolor bonpl* y *F. benjamina* mostraron una actividad antibacteriana contra *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* y *S. warneri* al ser testeados a una concentración de 500 $\mu\text{g/mL}$. Los resultados de la mancha fitoquímica evidenciaron la presencia de varios metabolitos secundarios en *T. bicolor bonpl* y *F. benjamina* reportados en la literatura con actividad antibacteriana, tales como: alcaloides, cumarinas, flavonoides, triterpenos, esteroides y taninos. En consecuencia, la actividad bacteriana de nuestros extractos podría estar asociada a la presencia de estos metabolitos, sugiriendo a estas especies vegetales como promisorias al tratar las infecciones causadas bacterias gram negativas y gram positivas.

Palabras clave: Actividad antibacteriana, metabolitos secundarios, extractos etanólicos, resistencia a antibióticos.

ABSTRACT

Introduction. Antibiotics have been key to saving lives, advancing medicine and pharmacology, but bacterial resistance is a growing public health problem. According to WHO in 2024, many infectious diseases are caused by bacteria, which can come from food, contaminated water and poor sanitary environments. New ways to combat the resistance of certain pathogens to antimicrobial treatments are being explored, and plants have emerged as a promising option. Plants are being considered as possible alternatives for developing new effective treatments against both sensitive and resistant microorganisms. **Objective.** In this study, the antibacterial activity of ethanolic extracts obtained from *T. bicolor bonpl* and *F. benjamina* was evaluated against four clinically important pathogens (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* and *S. warneri*). **Methodology.** An experimental study was carried out with a factorial design, where the percentage of bacterial inhibition was evaluated as a dependent variable, and the type of bacteria and extract as independent variables. To obtain the extracts, the plant material of *T. bicolor bonpl* and *F. benjamina* was collected in the municipality of Solano, department of Caquetá, classified by an expert botanist and deposited in the Herbarium of the Universidad de la Amazonia. Subsequently, it was



transferred to the Nanotechnology and Chemistry laboratory of the Universidad Simón Bolívar, where it was washed with abundant water and dried in an oven with continuous air flow at 40°C for three days, then it was crushed and deposited in glass bottles with 96 % ethanol for 4 weeks. Once the extraction time was completed, the product was filtered and dried by rotary evaporation under vacuum. Then, a preliminary phytochemical characterization was performed following the guidelines described by Bilbao in 1997 and processes standardized by our work team. The antibacterial activity was determined using the microdilution method established by CLSI in 2022 and processes standardized by our work team, in this process each extract was tested at a concentration of 500 µg/mL. **Results.** Phytochemical staining results revealed the presence of several secondary metabolites in the extracts of *T. bicolor bonpl* and *F. benjamina*. In both extracts, the presence of several metabolites with slight and moderate abundance was detected, such as: alkaloids, tannins, flavonoids, saponins, triterpenes and sterols. Additionally, the presence of quinones was not evidenced. As for the results of antibacterial activity, against gram-negative strains *E. coli* and *K. pneumoniae*, it was found that both extracts showed moderate activity, with inhibition percentages of 56.3 ± 3.0 and 57.9 ± 2.6 % for *T. bicolor bonpl* and *F. benjamina*, respectively. Against *K. pneumoniae* the inhibition percentages were 57.3 ± 0.7 and 57.9 ± 11.0 %, respectively. Similarly, the extracts of *T. bicolor bonpl* and *F. benjamina* were active against gram-positive strains, presenting 62.6 ± 6.3 and 67.7 ± 3.2 % inhibition against *S. aureus*, and 51.5 ± 1.9 and 56.1 ± 1.2 % against *S. warneri*, respectively. **Conclusion.** Extracts of *T. bicolor bonpl* and *F. benjamina* showed antibacterial activity against *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* and *S. warneri*) when tested at a concentration of 500 µg/mL. Phytochemical staining results evidenced the presence of several secondary metabolites in *T. bicolor bonpl* and *F. benjamina* reported in the literature with antibacterial activity, such as: alkaloids, coumarins, flavonoids, triterpenes, sterols and tannins. Consequently, the bacterial activity of our extracts could be associated to the presence of these metabolites, suggesting these plant species as promising in treating infections caused by gram-negative and gram-positive bacteria

Keywords: Antimicrobial activity, secondary metabolites, ethanolic extracts, antibiotic resistance.

REFERENCIAS

- Cushnie, T. P., & Cushnie, B. (2017). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 50(1), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Espinoza Olazabal, C., & Suyon, M. (2023b). Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia Cujete* L. (Totumo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tesis. <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1502/TESIS%20ESPINOZA-SUYON.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Espitia-Almeida, F., Brito-Tapia, L., Pimienta-Daza, L. A., Barragán-Avilez, C., & Flórez-Santiago, J. (2023a). Caracterización fitoquímica preliminar y cuantificación de fenoles totales de extractos etanólicos obtenidos de *Hylocereus undatus* y *Hylocereus megalanthus*. Repositorio digital, Bonga. Universidad Simón Bolívar. <https://hdl.handle.net/20.500.12442/13539>
- Espitia-Almeida, F., Díaz-Theran, M. E., Nieto-Tomases, A. M., Cabrera-Barraza, J., & Valle-Molinares, R. (2023b). Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos etanólicos obtenidos de las flores



- de Crescentia cujete L. frente a patógenos de importancia clínica. Repositorio digital, Bonga. Universidad Simón Bolívar. <https://hdl.handle.net/20.500.12442/13464>
- Espitia-Almeida F, Valle-Molinares R, Navarro Quiroz E, Pacheco-Londoño L.C & Galán-Freyre N. J. (2023c). Photodynamic Antimicrobial Activity of a Novel 5, 10, 15, 20-Tetrakis (4- Ethylphenyl) Porphyrin against Clinically Important Bacteria. *Pharmaceuticals*, 16(8), 1059-1071. <https://doi.org/10.3390/ph16081059>
- Espitia-Almeida, F., Meléndez-Gómez, C., Gómez-Camargo, D., & Ochoa-Díaz, M. (2014). Estudio de la actividad antibacteriana en Pseudomonas aeruginosa de 4-amido-2-alkil tetrahidroquinolinas. Tesis. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/282239643_ESTUDIO_DE_LA_ACTIVIDAD_ANTIBACTERIANA_en_Pseudomonas_aeruginosa_DE_4-AMIDO-2-ALQUIL_TETRAHIDROQUINOLINAS
- Espitia-Almeida, F., Meléndez-Gómez, C., Ochoa-Díaz, M., Valle-Molinares, R., Gutiérrez, M., & Gómez-Camargo, D. (2016). Antimicrobial and degradative bacterial DNA effects of new 2-alkyl (tetrahydroquinoline-4-yl) formamide. *Pharmacologyonline*, 1, 72-80. <https://www.semanticscholar.org/paper/ANTIMICROBIAL-AND-DEGRADATIVE-BACTERIAL-DNA-EFFECTS-Espitia-Almeida-Ochoa-D%C3%ADaz/43b51842f0fec2b59e7a369a0c6d49e294dae971>
- González Mendoza, J., Maguiña Vargas, C., & González Ponce, F. D. M. (2019). La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. *Acta Médica Peruana*, 36(2), 145-151. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172019000200011
- Hernández Díaz, L., & Rodríguez Jorge, M. (2001). Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2001(2). Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), Departamento de Investigaciones Microbiológicas. https://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000200002
- Iáñez Pareja, E. (s.f.). La pared celular bacteriana. Universidad de Granada. Recuperado de <https://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/05pared.htm>
- Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, L., Martínez-Meléndez, A., & Cruz-López, F. (2023). Los metabolitos secundarios como agentes antimicrobianos. *Biología y Sociedad*, 6(12), 33-40. <https://doi.org/10.29105/bys6.12-94>
- Maldonado, C., Paniagua-Zambrana, N., Bussmann, R. W., Zenteno-Ruiz, F. S., & Fuentes, A. F. (2020). La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19) [Editorial]. *Ecología en Bolivia*, 55(1). https://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1605-25282020000100001
- McNeil, C. L., Cameron, L., et al. (2011). Las semillas de cacao en rituales, alimentos y medicina. *Journal of Ethnopharmacology*. 138 (2), 261-267. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.010>
- Organización Mundial de la Salud-OMS. (2023). Estrategia de la OMS para la medicina tradicional 2012-2023. 2013: 75. Disponible en: chrome-extension://efaidnbnmnibpcjpcglclefindmkaj/https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf



- Organización Mundial de la Salud-OMS. (2023). Resistencia antimicrobiana. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/6-6-2023-partir-ahora-semana-mundial-concientizacion-sobre-uso-antimicrobianos-waaw-por>
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875-3883. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/003194229183426>
- Sierra-García, I. N., Romero-Tabarez, M., & Orduz-Peralta, S. (2012). Determinación de la actividad antimicrobiana e insecticida de extractos producidos por bacterias aisladas de suelo. *Acta Biológica Colombiana*, 34(96), 1-15. https://scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-35842012000100001
- Starr, F., Starr, K., & Loope, L. (2003). *Ficus benjamina* (Weeping fig) (Moraceae). United States Geological Survey--Biological Resources Division, Haleakala Field Station, Maui, Hawai'i.
- Tagousop CN, Tamokou JD, Kengne IC, Ngnokam D, Voutquenne-Nazabadioko L. Antimicrobial activities of saponins from *Melanthera elliptica* and their synergistic effects with antibiotics against pathogenic phenotypes. *Chem Cent J*. 2018 Sep 20;12(1):97. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0466-6>
- Todar, K. (2012). Bacterial Resistance to Antibiotics. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Recuperado de <http://textbookofbacteriology.net/resantimicrobial.html>
- Zhang, Q. (2018). Global situation and WHO strategy on traditional medicine. World Health Organization, Geneva, Switzerland. <https://www.worldscientific.com/doi/pdf/10.1142/S257590001820001X>