



UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MAESTRÍA EN QUÍMICA APLICADA

**TÍTULO: CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE DIENTE DE LEÓN
(*TARAXACUM OFFICINALE*) FRENTE A MICROORGANISMOS
PATÓGENOS**

AUTOR: MONCAYO RIVERA CHRISTIAN MIGUEL MD.
TUTORA TFM: HERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ CARMEN SAGRARIO. PHD

MILAGRO, MARZO DE 2022
ECUADOR

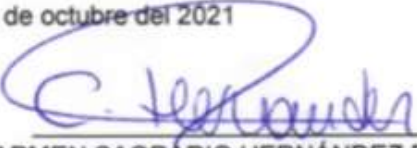
ACEPTACIÓN DE LA AUTORÍA

Es una carta elaborada por el/a tutor/a en la que debe constar la revisión del proyecto de Tesis y la aceptación de la tutoría. La carta debe estar firmada por el/la tutor/a.

Ejemplo:

Por la presente hago constar que he analizado el proyecto de grado presentado por la maestrante **Christian Miguel Moncayo Rivera**, para optar el título de **MAGISTER EN QUÍMICA APLICADA** y que acepto tuturar al maestrante durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación, evaluación y sustentación.

Milagro, a los 4 días del mes de octubre del 2021


DRA. CARMEN SAGRARIO HERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ
CEDULA: 0958178337

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

El autor de esta investigación declara ante el Comité Académico del Programa de Maestría en Química Aplicada de la Universidad Estatal de Milagro, que el trabajo presentado es de mi propia autoría, no contiene material escrito por otra persona, salvo el que está referenciado debidamente en el texto; parte del presente documento o en su totalidad no ha sido aceptado para el otorgamiento de cualquier otro Título de una institución nacional o extranjera.

Milagro, a los 17 días del mes de Marzo de 2022



MONCAYO RIVERA CHRISTIAN MIGUEL

0107581456

CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

EL TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGISTER EN QUÍMICA APLICADA**, otorga al presente trabajo de titulación las siguientes calificaciones:

MEMORIA CIENTÍFICA	[60]
DEFENSA ORAL	[40]
TOTAL	[100]
EQUIVALENTE	[EXCELENTE]



PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL
Mgtr. DELIA DOLORES NORIEGA V.



DIRECTOR/A TFM
DR. CARMEN SAGRARIO HERNÁNDEZ D.



SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL
Dr. ANA PAOLA ECHAVARRÍA V.

DEDICATORIA

El presente trabajo le dedico con toda mi dedicación y esfuerzo a mis padres ya que ellos fueron quienes han sido el apoyo incondicional para seguir adelante y culminar con esta meta.

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento eterno al personal docente de la Universidad Estatal de Milagro en especial a mi tutora delegada Lcda. Carmen Domínguez, ya que con sus conocimientos y apoyo incondicional he culminado satisfactoriamente esta investigación.

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Ingeniero.

Fabricio Guevara Viejó, PhD.

RECTOR

Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Mediante el presente documento, libre y voluntariamente procedo a hacer entrega de la Cesión de Derecho del Autor del Trabajo realizado como requisito previo para la obtención de mi Título de Cuarto Nivel, en la Maestría de Química Aplicada cuyo tema fue **CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE DIENTE DE LEÓN (*TARAXACUM OFFICINALE*) FRENTE A MICROORGANISMOS PATÓGENOS** y que corresponde a al Departamento de Investigación y Postgrado.

Milagro, a los 17 días del mes de Marzo de 2022



MONCAYO RIVERA CHRISTIAN MIGUEL M.D.

CI: 0107581456

ÍNDICE GENERAL

ACEPTACIÓN DE TUTORÍA	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR	vii
ÍNDICE GENERAL	viii
INDICE DE TABLAS	xi
INDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
EL PROBLEMA.....	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
Problematización.....	3
Delimitación del problema	4
Formulación del problema.....	4
OBJETIVOS	5
Objetivo General	5
Objetivos Específicos	5
JUSTIFICACIÓN	6
CAPÍTULO II	8
MARCO TEÓRICO	8
2.1.1 ANTECEDENTES	8
2.2. CONCEPTO Y DEFINICIÓN DEL DIENTE DE LEÓN	9
2.3. HISTORIA Y SIGNIFICADO CULTURAL TARAXACUM OFFICINALE	11
2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA TARAXACUM OFFICINALE	14
2.5. DIENTE DE LEÓN EN MEDICINA TRADICIONAL.....	17
2.6. USOS NUTRICIONALES	17
2.7. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL DIENTE DE LEÓN	18
2.8. TARAXACUM OFFICINALE (DIENTE DE LEÓN) Y EFECTOS BENEFICOS EN EL ORGANISMO HUMANO	19

2.8.1. ACCIÓN ANTIMICROBIANA.....	19
2.8.2 ACTIVIDAD ANTIVIRAL.....	21
2.8.3. ACTIVIDAD ANTICANCERIGENA.....	21
2.8.4. EFECTO PROTECTOR SOBRE LA LESIÓN PULMONAR.....	23
2.8.5 ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA.....	24
2.8.6. EFECTO SOBRE LA DISLIPIDEMIA.....	25
2.8.7. ACTIVIDAD ANTIDEPRESIVA.....	25
2.8.7. EFECTO SOBRE LA FATIGA.....	26
2.8.8. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	26
2.9. MICROORGANISMOS PATOGENOS EN ESTUDIO.....	27
2.9.1. CANDIDA ALBICANS.....	27
2.9.2. ESCHERICHIA COLI.....	30
2.9.3. STAPHYLOCCOCUS AUREUS.....	34
2.10. TÉCNICAS DE AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LAS PLANTAS MEDICINALES.....	37
2.10.1. TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS.....	38
2.10.2. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (CCF).....	38
2.10.3. CROMATOGRAFÍA DE COLUMNA (CC).....	39
2.10.4. Cromatografía líquida de alta presión (CLAP).....	40
2.10.5. Cromatografía de capa fina de alto rendimiento (CCFAR).....	40
2.10.6 Cromatografía de gases (GC).....	40
2.10.7. Técnicas no cromatográficas.....	41
2.10.8. Proceso para analizar las propiedades fitoquímicas y la actividad biológica de los productos naturales.....	42
2.11. ACEITE ESENCIAL.....	44
2.11.1. COMPOSICIONES QUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL.....	45
2.11.2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES.....	46
2.11.3. PRINCIPALES METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS PLANTAS.....	49
2.11.4. MECANISMO DE ACCIÓN ANTIMICROBIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES.....	50
2.10.5. ENSAYOS PRECLÍNICOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA IN VITRO.....	53
CAPÍTULO III.....	58
MATERIALES Y MÉTODOS.....	58
3.1.1 Lugar de trabajo.....	58
3.1.2 Obtención de material vegetal.....	58

3.1.3. Tipo de investigación.....	59
3.2. Obtención del aceite esencial.....	59
3.2.1. Obtención de aceites esenciales e hidrosoles de Taraxacum officinale por medio de la técnica de hidrodestilación.	60
3.3. Identificación de la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales e hidrosoles de Taraxacum officinale.	60
3.3.1. Actividad antibacterial Organismos de prueba:.....	60
3.3.2. Cribado in vitro de las actividades antimicrobianas de los extractos de hojas de plantas: ...	61
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	61
CAPÍTULO IV.....	62
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
5.1 CONCLUSIONES.....	75
5.2. RECOMENDACIONES	76
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
ANEXOS	80

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Resultados del análisis fitoquímico <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente de León)	75
Tabla 2: Composición química del aceite esencial de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león) por cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas	77
Tabla 3: Diámetros de halos de inhibición del Aceite es <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león) sobre cepas ATCC 25922 de <i>Escherichia coli</i>	79
Tabla 4: Susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de TARAXACUM OFFICINALE (DIENTE DE LEÓN) y el patrón ciprofloxacino frente a la cepa ATCC 25922 de <i>Escherichia coli</i>	80
Tabla 5: Descriptivos para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león) sobre cepa ATCC 25922 <i>Escherichia Coli</i> .	81
Tabla 6: Diámetros de halos de inhibición del Aceite esencial de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león) sobre cepas ATCC 25923 de <i>Staphylococcus aureus</i> .	81
Tabla 7: Susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león) y el patrón ciprofloxacino frente a la cepa ATCC 25923 de <i>Staphylococcus aureus</i> .	82
Tabla 8: Descriptivos para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de <i>Taraxacum officinale</i> sobre la cepa ATCC 25923 de <i>Staphylococcus aureus</i> .	84
Tabla 9: Diámetros de halos de inhibición del Aceite esencial de <i>Taraxacum officinale</i> sobre la cepa ATCC 90028 de <i>Cándida albicans</i>	84
Tabla 10: Susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león) y fluconazol frente a la cepa ATCC 90028 DE <i>Cándida albicans</i>	85
Tabla 11: Descriptivos para la actividad anti fúngica del Aceite esencial de <i>Taraxacum officinale</i> sobre la cepa ATCC 90028 de <i>Cándida albicans</i>	86

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Taraxacum officinale (diente de leon)	23
Figura 2: Taraxacum officinale (diente de leon)	24
Figura 3: Actividad antimicrobiana del diente de león	32
Figura 4: <i>Candida albicans</i> y <i>candidiasis</i>	41
Figura 5: Estructura microscopica de <i>Candida albicans</i>	43
Figura 6: Estructura microscopica de la bacteria <i>E. coli</i> .	44
Figura 7: Imagen microscopica <i>S. aureus</i>	48
Figura 8: Cálculo del factor de retención de TLC (Fr)	52
Figura 9: Sitios y mecanismos de acción que pueden ser sitios para la acción de compuestos naturales en la célula bacteriana (Adaptado de Burt, 2004, 2007)	63
<i>Figura 10. Diagrama que ilustra el método de difusión en disco de Kirby-Bauer utilizando 65 antibióticos diferentes (A, B, C, D, E). Las flechas indican la zona de inhibición.</i>	68

RESUMEN

Antecedentes y objetivos: La resistencia a los antibióticos ha despertado un gran interés en evaluar las propiedades antimicrobianas de las plantas naturales. El *Taraxacum officinale* se utiliza ampliamente como una planta medicinal del folclore por sus propiedades diuréticas, antirreumáticas y antiinflamatorias. Sin embargo, hay algunos informes sobre las propiedades antimicrobianas. El objetivo del estudio fue explorar la composición fotoquímica de los extractos de los aceites esenciales de la planta *Taraxacum officinale* y su actividad antibacteriana contra cepas bacterianas de importancia clínica. Métodos: Las propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Taraxacum officinale*, fueron examinado a través del método de difusión en disco de agar, y la concentración mínima inhibitoria (MIC). Resultados: La evaluación de la actividad antimicrobiana desarrollada por el método de difusión en medio sólido, la MIC y la CMM mostraron que las cepas bacterianas como *Staphylococcus aureus* y las levaduras como *Cándida Albicans*, fueron sensibles a la activiada antimicrobiana del aceite esencial estudiado pero actividad intermedia con bacterias gram negativas como la *Escherichia coli*. Conclusión: el aceite esencial de *Taraxacum officinale* presenta una alta actividad antibacteriana y se podría sugerir su uso como alternativa antimicrobiana natural en las industrias farmacéuticas.

Palabras claves: antimicrobiana, bacterias, resistencia.

ABSTRACT

Background and objectives: Antibiotic resistance has aroused great interest in evaluating the antimicrobial properties of natural plants. *Taraxacum officinale* is widely used as a medicinal plant in folklore for its diuretic, anti-rheumatic and anti-inflammatory properties. However, there are some reports on antimicrobial properties. The objective of the study was to explore the photochemical composition of the extracts of the essential oils of the *Taraxacum officinale* plant and their antibacterial activity against bacterial strains of clinical importance. Methods: The antibacterial properties of the essential oil of *Taraxacum officinale* were examined through the agar disc diffusion method and the minimum inhibitory concentration (MIC). Results: The evaluation of the antimicrobial activity developed by the diffusion method in solid medium, MIC and CMM showed that bacterial strains such as *Staphylococcus aureus* and yeasts such as *Candida Albicans* were sensitive to the antimicrobial activity of the essential oil studied but intermediate activity. with gram negative bacteria such as *Escherichia coli*. Conclusion: the essential oil of *Taraxacum officinale* has a high antibacterial activity and its use as a natural antimicrobial alternative in pharmaceutical industries could be suggested.

Keywords: antimicrobial, bacteria, resistance.

INTRODUCCIÓN

Las plantas son una de las fuentes más importantes de medicinas desde tiempos inmorales. Las plantas medicinales son fuente de metabolitos secundarios y aceites esenciales de importancia terapéutica. Las importantes ventajas frente al uso terapéutico de las plantas medicinales en diversas dolencias y trastornos son su seguridad además de económica, eficacia y su fácil disponibilidad.

El *Taraxacum officinale*, comúnmente llamado diente de león, es una hierba herbácea perenne que pertenece a la familia Asteraceae (Compositae). Crece en las regiones intemperantes del mundo y se encuentra principalmente en céspedes, bordes de carreteras, bancos alterados y orillas de cursos de agua y otras áreas con suelos húmedos. Esta planta se ha utilizado en muchos sistemas médicos a base de hierbas, como se ha mencionado particularmente en Asia, Europa y América del Norte. La raíz se considera principalmente como un remedio gastrointestinal, que apoya la digestión y la función hepática, mientras que las hojas se utilizan como fuente de fármaco diurético y estimulante digestivo amargo.

Hay varias referencias al tratamiento de infecciones bacterianas y al uso de remedios botánicos tradicionales. Estas propiedades se han atribuido a la gran cantidad de compuestos bioactivos en sus tejidos, y varios estudios han reportado una amplia gama de compuestos, incluidos terpenos, flavonoides y compuestos fenólicos, que se mencionan como responsables de la actividad medicinal de diferentes plantas. Para el género *Taraxacum*, solo unos pocos estudios sobre sus propiedades antimicrobianas consideran la identificación química de los extractos obtenidos y, la mayoría de las veces, esta identificación es cualitativa (por ejemplo, utilizando métodos colorimétricos que indican presencia o ausencia).

Los autores en varios estudios, informan la presencia de terpenoides, triterpenoides, esteroides, cumarinas, fenoles, saponinas, flavonoides, flavonas, flavonoles, calconas, flobataninos y glucósidos cardíacos en extractos antimicrobianos, pero no se realizó aislamiento de compuestos ni identificación adicional

La creciente resistencia de diferentes microorganismos a los antibióticos y el reconocimiento de la naturaleza generalmente autolimitante de muchas infecciones no complicadas, sugieren que es hora de reconsiderar el tratamiento empírico mediante el uso de antibióticos. La limitación de este tratamiento es la duración y la dosis de antibióticos y la resistencia que desarrollan las bacterias después de un largo período de administración. Por lo tanto, se deben considerar alternativas a los enfoques de la industria farmacéutica. Durante nuestra continua búsqueda exploratoria de nuevos extractos antibacterianos, hemos seleccionado a esta planta medicinal ecuatoriana, para un estudio experimental sobre la composición química y las posibles propiedades antibacterianas.

Por lo tanto, con base en el razonamiento y las observaciones anteriores, el objetivo del estudio fue explorar la composición fitoquímica de los extractos de los aceites esenciales de la planta *Taraxacum officinale* y su actividad antibacteriana contra cepas bacterianas de importancia clínica.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Problematización

A nivel mundial las plantas medicinales son fuente importante de nuevos medicamentos, es así que hasta el 80% de las personas en los países en desarrollo todavía dependen de los medicamentos tradicionales basados en plantas para su atención primaria y más del 25% de los medicamentos recetados en los países desarrollados se derivan de especies de plantas silvestres.(Harfouch & Ghosh, 2021)

Los estudios de fitoterapia en Ecuador son muy limitados aun cuando los nativos ecuatorianos poseen una gran variedad de tradiciones y prácticas medicinales populares las cuales tienen gran valor medicinal y merecen ser investigadas extensamente.

Según Azuero et al (2016) en la región Andina de Ecuador se han publicado estudios realizados en mercados tradicionales que enfatizan aspectos etnobotánicos y se estima que 273 especies de plantas medicinales son vendidas en los mercados tradicionales. Sin embargo, se requieren más estudios para investigar qué especies de plantas medicinales son las más vendidas y cómo estas se relacionan con los trastornos de salud locales, de esta manera se garantizará su uso seguro.

De acuerdo a la nueva tendencia en la investigación en Ecuador de explorar las propiedades proporcionadas por la flora de nuestro país, se ha venido buscando opciones que permitan encontrar nuevas alternativas que favorezcan la acción frente a los diversos microorganismos que han venido desarrollando resistencia a los antibióticos y que por lo tanto hace que crezca la dificultad para su tratamiento.

Las bacterias y otros microorganismos patógenos a lo largo de la historia se han adaptado y son resistentes frente a los medicamentos de uso para su control, de igual manera se han convertido actualmente en un problema de salud pública ya que

muchas de ellas ocasionan enfermedades transmitidas por alimentos, infecciones nosocomiales o sencillamente son oportunistas, y por lo tanto constituyen un riesgo significativo para la salud de la población tanto en los países en vía de desarrollo como en los desarrollados.

Delimitación del problema

El presente estudio se realizó con la finalidad de conocer el efecto antimicrobiano “in vitro” sobre las cepas *Escherichia coli spp*, *Staphylococcus aureus spp*, y *Candida albicans spp* con el aceite esencial de las hojas y tallos del *Taraxacum officinale* perteneciente al género *Taraxacum*

Formulación del problema

¿El aceite esencial de hojas y tallo de *Taraxacum officinale* tiene actividad antimicrobiana “in vitro” frente a *Escherichia coli spp*, *Staphylococcus aureus spp*, y *Candida albicans spp*??

OBJETIVOS

Objetivo General

-Determinar la composición fotoquímica y efectividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de las hojas y tallos del *Taraxacum officinale* (diente de león) frente a microorganismos patógenos.

Objetivos Específicos

- Cuantificar por cromatografía de gases y espectrometría de masas, los principales componentes químicos del aceite esencial de las hojas y tallo de *Taraxacum officinale* (diente de león).

- Determinar la sensibilidad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial obtenido de las hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) por difusión en agar con el método de sensibilidad por Kirby B. frente a cepas ATCC de *Escherichia coli spp*, *Staphylococcus aureus spp*, y comparar con ciprofloxacino como control positivo.

- Evaluar la sensibilidad antifúngica in Vitro del aceite esencial por el método difusión de discos por Kirby B. frente a cepas ATCC de *Cándida albicans spp* y comparar con fluconazol como control positivo..

JUSTIFICACIÓN

La resistencia a los medicamentos antimicrobianos es ampliamente reconocida como una amenaza para la salud ya que pone en peligro la efectividad del tratamiento de las enfermedades infecciosas, es así que en la actualidad existe la tendencia a efectuar estudios etno farmacológicos, botánicos, microbiológicos y químicos de productos naturales de los cuales se podrían desarrollar nuevas formas farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades infecciosas, es decir, nuevas terapias antimicrobianas como opciones alternas a los tratamientos con antibióticos sintéticos.

Los compuestos bioactivos de los fármacos botánicos son supuestamente superiores a las sustancias mono debido a sus efectos sinérgicos. De manera similar, la terapia con múltiples fármacos es muy importante contra las cepas microbianas resistentes debido a la mayor eficacia, la reducción de la toxicidad, la disminución de los efectos secundarios adversos, el aumento de la biodisponibilidad, la reducción de la dosis y la reducción de la evolución de la resistencia a los antimicrobianos.

Incluso cuando los antibióticos han sido eficaces en el tratamiento de enfermedades infecciosas, la resistencia a los mecanismos de acción ha provocado la aparición de enfermedades infecciosas nuevas y la reaparición de antiguas. Varios extractos de plantas exhiben actividad sinérgica contra microorganismos, con productos naturales (incluidos flavonoides y aceites esenciales) y medicamentos sintéticos que combaten eficazmente las infecciones bacterianas, fúngicas y micobacterianas. El modo de acción de las combinaciones difiere significativamente del uso individual de los mismos medicamentos; por lo tanto, aislar un solo componente puede no resaltar su importancia, simplificando la tarea de las industrias farmacológicas.

De aquí surge la necesidad de efectuar estudios etnobotánicos, análisis fitoquímicos y análisis microbiológicos a partir del aceite esencial de hojas y tallos del *Taraxacum*

officinale, la misma que se compone de sustancias muy importantes como terpenos, alcaloides, flavonoides, quinonas, saponinas y fenoles que le otorgan grandes propiedades antimicrobianas sobre bacterias patógenas de importancia clínica, por tanto, este estudio contribuirá para la innovación y elaboración de nuevas investigaciones Fito terapéuticas con actividad antimicrobiana y por ende promoverá el desarrollo de la industria farmacéutica.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1.1 ANTECEDENTES

Entre 2000 y 2010, se lanzaron al mercado aproximadamente 40 nuevos fármacos provenientes de plantas terrestres, microorganismos terrestres, organismos marinos y vertebrados e invertebrados terrestres contra diferentes bacterias, hongos y virus. Esto sigue distintas tendencias de investigación. Los estudios relacionados con las propiedades antimicrobianas y antifúngicas generalmente apuntan, en países en desarrollo y desarrollados, a responder a la necesidad de encontrar nuevos medicamentos o productos basados en la medicina tradicional a bajo costo, confirmando la actividad ya establecida proveniente de la tradición oral.

El motor que impulsa el estudio de nuevas alternativas antimicrobianas es la necesidad de encontrar nuevos fármacos o productos naturales que actúen contra las enfermedades debido al aumento de la farmacorresistencia en estas últimas. Además, la toxicidad de los compuestos sintéticos que se utilizan actualmente en la agricultura y las industrias agrícolas ha creado un mercado para los compuestos naturales que son más seguros, más baratos y más efectivos contra los patógenos.

La fitoquímica moderna, el equipo científico y la tecnología han tenido un impacto significativo en la química de los productos naturales, incluido el aislamiento, la extracción, la purificación y la determinación de la estructura. Sin embargo, esta disciplina todavía exige que los investigadores establezcan el significado clínico de los compuestos naturales y los reconozcan como fármacos o productos industriales (pesticidas, bactericidas, productos farmacéuticos, etc.). Los compuestos bioactivos en las drogas botánicas supuestamente son superiores a las monosustancias debido a los efectos sinérgicos. De manera similar, la terapia con múltiples fármacos es muy importante contra las cepas microbianas resistentes debido a la eficacia mejorada, la toxicidad reducida, la disminución de los efectos secundarios adversos, el aumento de la biodisponibilidad, la dosis más baja y la evolución reducida de la resistencia a los antimicrobianos.

Incluso cuando los antibióticos han sido efectivos en el tratamiento de enfermedades infecciosas, la resistencia a los mecanismos de acción ha llevado a la aparición de nuevas enfermedades infecciosas y al resurgimiento de antiguas. Varios extractos de plantas exhiben actividad sinérgica contra microorganismos, con productos naturales (incluidos flavonoides y aceites esenciales) y drogas sintéticas que combaten eficazmente las infecciones bacterianas, fúngicas y micobacterianas.

El modo de acción de las combinaciones difiere significativamente del uso individual de las mismas drogas; por lo tanto, aislar un solo componente puede no resaltar su importancia, simplificando la tarea de las industrias farmacológicas.

2.2. CONCEPTO Y DEFINICIÓN DEL DIENTE DE LEÓN

El diente de león es una maleza perenne que produce una raíz pivotante robusta, que alcanza una longitud promedio de 15-30 cm con 2 a 3 cm de ancho. Sin embargo, también se encuentran raíces de 60-100 cm de longitud. Es carnoso y quebradizo y es de color marrón oscuro por fuera, blanco y lechoso por dentro. Las raíces pueden producir nuevas plantas incluso cuando la planta se corta en o debajo de la superficie del suelo. Las hojas grandes, largas, pulidas, lampiñas y de color verde claro a oscuro (5-40 cm de largo y 1-10 cm de ancho) están reunidas en una roseta en la parte inferior de la planta y están profundamente dentadas al nivel del suelo. (Ceron et al., 2019)



Figura 1: *Taraxacum officinale* (diente de león)

Las hojas crecen desde el extremo más alto de la raíz al nivel del suelo y tiene un tallo corto. Son de diversa índole: con bordes dentales, con bordes casi completos, algunos de ellos tienen bordes dentales profundos que terminan en la nervación

central. Los tallos florales son erguidos, de 5-40 cm de largo, y llevan una inflorescencia terminal y solitaria. Tallos huecos sin hojas, que emergen del centro de la roseta. Tiene flores simples de color amarillo dorado rectas. En promedio, cada planta desarrolla de 5 a 10 flores. La fluorescencia varía de 7 a 15 mm de diámetro y se compone de 140-400 flósculos ligulados amarillos. Las flores se producen desde principios de primavera hasta finales de otoño. (Linde et al., 2016)



Figura 2: Taraxacum officinale (diente de leon)

Cuando las flores maduran, crean semillas suaves, que son fácilmente esparcidas por el viento. Los frutos son aquenios cónicos, marrones y coronados por un pappus peludo blanco, que permite que las semillas se distribuyan por el viento. La fruta es similar al algodón con muchas semillas. flores de color amarillo dorado en línea recta. En promedio, cada planta desarrolla de 5 a 10 flores. (Rodríguez et al., 2017)

La fluorescencia varía de 7 a 15 mm de diámetro y se compone de 140-400 flósculos ligulados amarillos. Las flores se producen desde principios de primavera hasta finales de otoño. Cuando las flores maduran, crean semillas suaves, que son fácilmente esparcidas por el viento. Los frutos son aquenios cónicos, marrones y coronados por un pappus peludo blanco, que permite que las semillas se distribuyan por el viento. La fruta es similar al algodón con muchas semillas. flores de color amarillo dorado en línea recta. En promedio, cada planta desarrolla de 5 a 10 flores. La fluorescencia varía de 7 a 15 mm de diámetro y se compone de 140-400 flósculos

ligulados amarillos. (Waizel Bucay & Waizel Haiat, 2019)

Las flores se producen desde principios de primavera hasta finales de otoño. Cuando las flores maduran, crean semillas suaves, que son fácilmente esparcidas por el viento. Los frutos son aquenios cónicos, marrones y coronados por un pappus peludo blanco, que permite que las semillas se distribuyan por el viento. (Waizel Bucay & Waizel Haiat, 2019)

2.3. HISTORIA Y SIGNIFICADO CULTURAL TARAXACUM OFFICINALE

El botánico, herbolario y médico británico del siglo XVII Nicholas Culpeper, en su obra Complete Herbal, escribió que la hoja y la raíz del diente de león tienen una "cualidad de apertura y limpieza" y son eficaces para promover la micción; tratamiento de obstrucciones y enfermedades del hígado, vesícula biliar y bazo; promoción del descanso y el sueño en personas con fiebre; limpieza y curación de abscesos y úlceras de las vías urinarias; y ayudando en general mala salud con emaciación. ¹⁶ En Inglaterra e Irlanda, el diente de león alguna vez se usó casi tan ampliamente como el saúco (*Sambucus nigra*, Adoxaceae), las ortigas (*Urtica dioica*, Urticaceae) y el muelle (*Rumex* spp., Polygonaceae).

Los usos principales incluían el tratamiento de la tos, los resfriados y otros problemas respiratorios; el aumento de la producción de orina; y "limpiar la sangre" para tratar forúnculos y otras afecciones de la piel. El látex lechoso también se usó externamente para eliminar las verrugas. El diente de león se usó en Irlanda para cortes, diabetes, fracturas, trastornos funcionales del hígado, nerviosismo, dermatosis (trastornos no inflamatorios de la piel), dolor de ojos, esguinces, hinchazón, aftas (una infección causada por el hongo *Candida albicans*) y tuberculosis.

El diente de león tiene usos etnobotánicos persas y de las Indias Orientales como laxante suave y estimulante del apetito, y para el tratamiento de problemas urinarios, afecciones hepáticas y problemas digestivos. También se ha usado por vía oral para tratar mordeduras de serpientes y externamente para heridas, forúnculos, esguinces e hinchazón. El etnobotánico James A. Duke, PhD, refiriéndose a Plants of the Bible

de Harold y Alma Moldenke (Chronica Botanica Company, 1952), sugiere que el diente de león pudo haber sido una de las hierbas amargas del Antiguo Testamento; que se usa en la India como estimulante hepático y para la dispepsia, la hepatitis y la ictericia; y que se usa en el Líbano como laxante o purgante.

Introducidas y naturalizadas en partes de América del Norte, varias tribus nativas americanas consumían hojas de diente de león como alimento y como tónico para purificar la sangre; usó una cataplasma de hojas de diente de león para heridas de curación lenta, dolor de estómago y dolor de garganta; bebió una decocción o infusión de hojas tiernas o flores para los dolores menstruales; bebió una decocción o infusión de las raíces para el dolor de estómago, purificación de la sangre, para producir el flujo de leche posparto, como emético y como "medicina anti-brujería" y "medicina del amor"; y usó la planta entera o una parte no especificada de la planta como un "tónico laxante", para el dolor, anemia, manchas en el hígado, edema, dolencias renales y testículos aplastados o hinchados.

Los médicos eclécticos de principios del siglo XIX usaban el extracto de raíz de diente de león como tónico, diurético y aperitivo (para aliviar el estreñimiento); para afecciones del hígado, el bazo y los riñones; y para el edema. Además, se usaba un extracto de raíz como colagogo (para descargar la bilis); en ictericia crónica; para el reumatismo, trastornos de la sangre, problemas de la piel, úlceras bucales y gastritis; y para estimular el estómago. El *British Herbal Compendium* describió los efectos amargos (una sustancia medicinal que promueve el apetito o la digestión), laxante suave y colagogo, mientras que la *British Herbal Pharmacopoeia* señaló el efecto beneficioso del diente de león sobre el hígado.

Las hojas de diente de león se han comido durante mucho tiempo como un verde primaveral, generalmente cuando recién brotan, tiernas y menos amargas que las hojas más viejas. El diente de león es especialmente apreciado por los franceses que han convertido el cultivo de variedades selectas de ensalada en un arte.

Es una buena fuente de vitaminas, minerales y nutrientes, particularmente vitaminas A y K, y potasio. Se cree ampliamente que la capacidad del diente de león para

reemplazar el potasio perdido a través de la diuresis es lo que lo convierte en un diurético efectivo, especialmente en casos de enfermedades cardíacas.

En 1982, la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) propuso la inclusión de la raíz de diente de león como un ingrediente diurético activo en su establecimiento de una monografía para medicamentos de venta libre (OTC, por sus siglas en inglés) para la dismenorrea. En 1988, en una "monografía final tentativa" posterior para medicamentos menstruales de venta libre, el diente de león permaneció incluido en la categoría IIE, lo que significa que se determinó que era seguro pero carecía de evidencia suficiente de eficacia para el uso previsto. Cuatro años más tarde, la FDA propuso que el diente de león se clasificara como no generalmente reconocido como seguro y eficaz (GRASE) para su uso como ingrediente activo menstrual diurético y aprobó una resolución final a tal efecto en 1993.

Tras la aprobación de la Ley de Educación y Salud de Suplementos Dietéticos de 1994 (DSHEA), los últimos productos farmacéuticos de venta libre restantes que habían sido etiquetados con diente de león como ingrediente activo pasaron al marco de suplementos dietéticos recientemente establecido.

En 1984, la Comisión E alemana aprobó el uso de la raíz de diente de león con hierba (preparada como una infusión de té de hierbas, una decocción o una tintura) como medicamento sin receta para tratar los trastornos del flujo biliar, para estimular la diuresis y para tratar la pérdida de apetito y dispepsia.

En 1992, la Comisión E aprobó el uso de la hierba de diente de león para tratar la pérdida de apetito, la dispepsia, la hinchazón y la flatulencia. Ahora, las monografías oficiales de estándares nacionales de etiquetado de los estados miembros de la Unión Europea (UE), como las de la Comisión E alemana, han sido reemplazadas por monografías de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA).

Hasta hace poco, las monografías oficiales de estándares de calidad para el diente de león no estaban disponibles en inglés. Antes de la admisión del diente de león en la *Farmacopea Europea* en 2009, las empresas establecieron especificaciones de

calidad basadas en las monografías en alemán de la *Farmacopea austriaca* (Taraxaci radix ÖAB) o el Código de Medicamentos Alemán (Taraxaci herba cum radice DAC), o en el monografía de idioma de la *Farmacopea Estatal de la Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas* (Radices Taraxaci CCCP), o en una monografía no oficial como la *Farmacopea Británica de Hierbas de la Asociación Británica de Medicina Herbal* (Taraxaci radix BHP).

Hoy en día, existen monografías de estándares de calidad en idioma inglés establecidas por la Dirección Europea para la Calidad de los Medicamentos (EDQM) para diferentes partes de la planta (Taraxaci officinalis radix PhEur y Taraxaci officinalis herba cum radice PhEur), con las correspondientes monografías de estándares de etiquetado establecidas por la EMA. Las monografías EDQM y EMA son aplicables a los solicitantes de registro de productos en los estados miembros de la UE y en países no pertenecientes a la UE que reconocen las normas europeas, como Australia y Canadá, entre otros. Actualmente, no hay estándares oficiales para el diente de león disponibles en la *Farmacopea de los Estados Unidos* (USP) o el *Código de Regulaciones Federales de los Estados Unidos* (CFR).

2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA TARAXACUM OFFICINALE

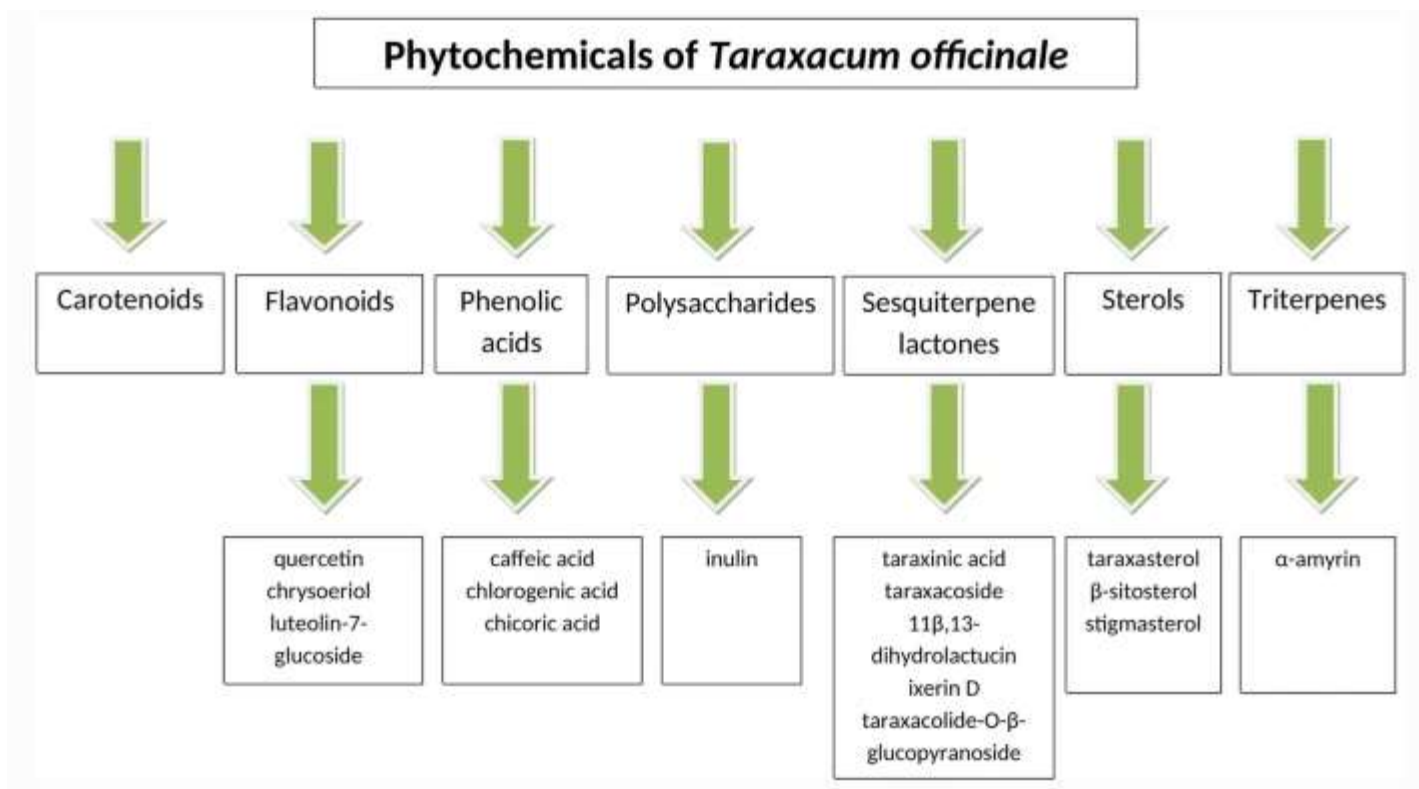
Teniendo en cuenta la gran historia del diente de león en la medicina herbal, se sabe relativamente poco sobre los componentes químicos. Recientemente se introdujo el ADNc de la enzima sintética de los triterpenos de esta hierba, que son los responsables de la reacción de anillamiento del óxido-cuadrado. (Ruano et al., 2016)

Entonces, aquí todavía podrían existir nuevos triterpenos en las plantas de la especie *Taraxacum*. El tiempo de cosecha influyó en las cantidades de fitocompuestos en el diente de león. El período más adecuado para la recolección de plantas de sus entornos naturales depende de sus aplicaciones médicas específicas. La raíz de diente de león es una rica fuente de insulina: alrededor del 2% en la primavera, aumentando a alrededor del 40% en otoño. Al igual que en las raíces, las hojas de diente de león contienen sesquiterpenos, así como ácido

phidroxifenilacético y b-sitosterol. (Rodríguez et al., 2017)

Los compuestos fenólicos más abundantes en las hojas y flores son los derivados del ácido hidroxicinámico, en particular el ácido cafeico ésteres como los ácidos clorogénico, chicórico y monocafoiltartárico. En comparación con las raíces, las hojas de diente de león se caracterizan por un mayor contenido de polifenoles. También es una fuente rica de una variedad de vitaminas y minerales, incluyendo beta caroteno, no provitamina A, carotenoides, xantofilas, clorofila, vitaminas C y D, muchas de las vitaminas del complejo B, colina, así como minerales hierro, silicio, magnesio, sodio, zinc, manganeso, cobre y fósforo. (Díaz-de León et al., 2020)

Cuadro 1. Composición fitoquímica del *Taraxacum officinale*



Las lactonas sesquiterpénicas confieren un sabor amargo a la planta, que es particularmente notable en las hojas pero también en las raíces, especialmente cuando se recolecta en primavera. Las saponinas, flavonoides, alcaloides, fenoles

estaban muy concentrados en el tallo, raíz y flor, con mayor concentración de flavonoides en los extractos florales. También se encontraron fenoles y esteroides en las partes de la planta investigadas.(Waizel Bucay & Waizel Haiat, 2019)

Los conocidos efectos farmacológicos, junto con la baja toxicidad, hacen de esta hierba un buen candidato para su uso como fuente alimenticia. Además de utilizarse como productos farmacéuticos, las flores, hojas y raíces de diente de león se procesan en diferentes productos alimenticios. A menudo se comercializa como un alimento saludable debido a su historia como planta medicinal utilizada para aliviar los síntomas que tiene propiedades diuréticas, coleréticas y laxantes. Las hojas de especies cultivadas o silvestres se consumen frescas como ensalada.

Un té hecho con hojas es laxante. A menudo se usan para agregar sabor a ensaladas, sándwiches y tés. Las raíces *Taraxacum officinale* se tuestan y se utilizan como sustituto del café. Sus raíces se procesan en preparaciones farmacéuticas como tés, tinturas, cápsulas, tabletas y jugos. Además, los extractos se utilizan como componentes de sabor en varios productos alimenticios, incluyendo bebidas alcohólicas y refrescos, postres lácteos congelados, dulces, productos horneados, gelatinas y pudines y queso. (Ceron et al., 2019)

En la medicina herbal moderna, se han mantenido todas las funciones antes mencionadas del diente de león, y las hojas secas, flores, raíces y extractos se venden hoy en día como infusiones de hierbas, jarabe y en forma de cápsula. Las flores se utilizan para elaborar ciertos vinos.

La ensalada de diente de león a menudo se acompaña con huevos duros. Como se mencionó anteriormente, los resultados de los estudios indicaron un potencial nutritivo para las hojas de diente de león; por tanto, se fomenta el uso en ensalada fresca junto con la promoción y producción local de plantas autóctonas subexplotadas, como sugiere la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, con el fin de mejorar la condición nutricional de zonas de población con escasos recursos económicos. (Ceron et al., 2019)

2.5. DIENTE DE LEÓN EN MEDICINA TRADICIONAL

En el sistema de medicina tradicional, todas las partes del diente de león, particularmente las raíces, son ligeramente aperientes, colagogas, depurativas, poderosamente diuréticas, hepáticas, laxantes, estomacales y tónicas. La primera confirmación para el uso terapéutico del diente de león fue citada por médicos árabes de los siglos X y XI para tratar enfermedades del hígado y el bazo. (Linde et al., 2016)

2.6. USOS NUTRICIONALES

Los efectos farmacológicos bien conocidos, junto con la baja toxicidad hacen de esta hierba un buen candidato para su uso como fuente de alimento. Además de utilizarse como producto farmacéutico, las flores, las hojas y las raíces del diente de león se procesan en diferentes productos alimenticios. A menudo se comercializa como un alimento saludable debido a su historia como planta medicinal utilizada para aliviar los síntomas con propiedades diuréticas, coleréticas y laxantes. Las hojas de especies cultivadas o silvestres se consumen frescas como ensalada. Un té hecho con las hojas es laxante. A menudo se usan para agregar sabor a ensaladas, sándwiches y tés. Las raíces (*Taraxaci radix*) se tuestan y se utilizan como sustituto del café. Sus raíces se procesan en preparaciones farmacéuticas como tés, tinturas, cápsulas, tabletas y jugos.

Además, los extractos se utilizan como componentes de sabor en varios productos alimenticios, incluyendo bebidas alcohólicas y refrescos, postres lácteos congelados, dulces, productos horneados, gelatinas y pudines y queso.

En la medicina herbaria moderna, se han mantenido todas las funciones antes mencionadas del diente de león, y las hojas, flores y raíces secas y los extractos se venden hoy en día como tés de hierbas, jarabe y en forma de cápsula. Las flores se utilizan para hacer ciertos vinos. La ensalada de diente de león a menudo se acompaña con huevos duros.

Como se mencionó anteriormente, los resultados de los estudios indicaron un

potencial nutritivo para las hojas de diente de león; por ello, se fomenta su uso en ensalada fresca junto con la promoción y producción local de plantas autóctonas subexplotadas, como sugiere la Organización para la Agricultura y la Alimentación, con el fin de mejorar la condición nutricional de zonas de población de escasos recursos económicos.

2.7. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL DIENTE DE LEÓN

La mayor incidencia de resistencia de las bacterias a muchos fármacos antibacterianos es motivo de gran preocupación y las plantas medicinales se han confirmado como una fuente alternativa de agentes antibacterianos. En la atención de muchos investigadores está el potencial antibacteriano de varias plantas. La extracción y el uso de antibióticos sintéticos e inorgánicos son costosos y representan una grave amenaza para la salud y el medio ambiente; esto ha hecho que la atención se centre en el uso de medicamentos tradicionales a base de hierbas. (Glicerio et al., 2015)

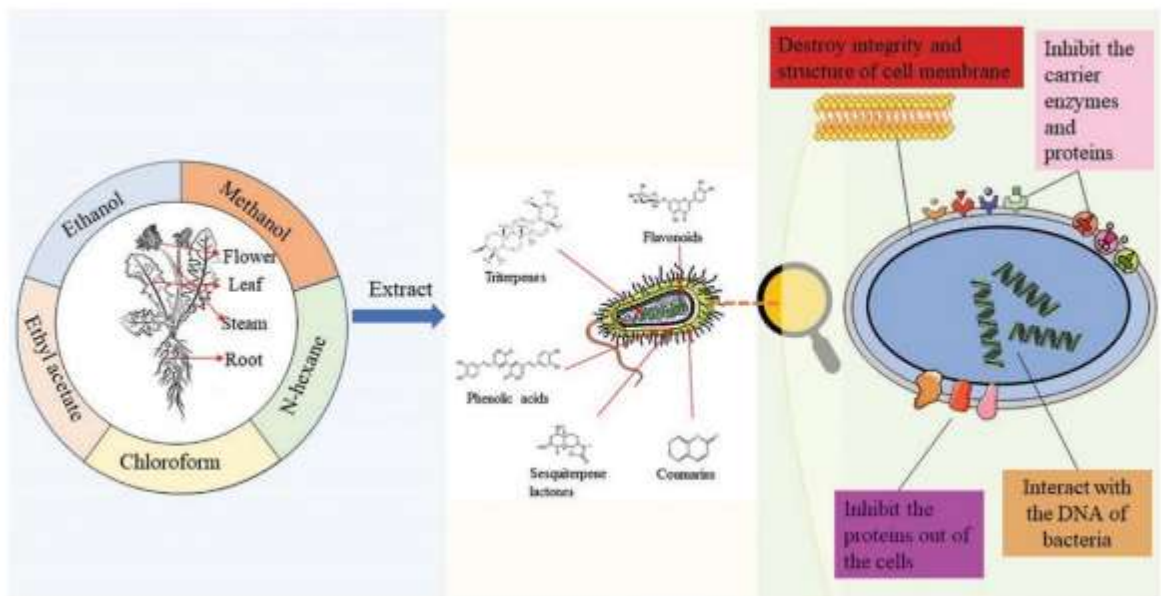


Figura 3: Actividad antimicrobiana del diente de león

La evidencia mostró que los extractos de plantas tenían sitios de destino diferentes de los utilizados por los antibióticos y serán activos contra patógenos microbianos resistentes a los medicamentos. Se examinó la actividad antibacteriana de varios extractos de diferentes partes de diente de león. Parece que el tipo de disolventes afecta la actividad antibacteriana del diente de león porque pueden extraer los diferentes bioorgánicos que difieren en número y potencial antimicrobiano. (Navarrete et al., 2016)

El diente de león también tiene una buena actividad antimicrobiana contra los patógenos dentales y puede sugerirse como una hierba útil para controlar la caries dental y las infecciones endodónticas. Pueden ser mejores candidatos a fármacos para combinar con agentes antimicrobianos habituales.

2.8. TARAXACUM OFFICINALE (DIENTE DE LEÓN) Y EFECTOS BENEFICOS EN EL ORGANISMO HUMANO

2.8.1. ACCIÓN ANTIMICROBIANA

La inmunidad innata de las plantas implica varias respuestas de defensa, que incluyen refuerzos de la pared celular, biosíntesis de enzimas líticas, producción de metabolitos secundarios y proteínas relacionadas con la patogénesis. Para protegerse de los microorganismos no beneficiosos, las plantas acumulan metabolitos secundarios que forman barreras químicas a los ataques microbianos (fitoanticipinas) y producen antimicrobianos (fitoalexinas). (Mir M & SS, 2016)

Los fenólicos y terpenoides se consideran los principales mecanismos de defensa de las plantas porque reducen los ataques microbianos al alterar las membranas celulares de los microorganismos, se unen a adhesinas y compuestos de la pared celular e inactivan enzimas, entre otras funciones. Los mecanismos de acción de los compuestos naturales están relacionados con la desintegración de la membrana citoplasmática y la desestabilización de la fuerza motriz del protón, el flujo de electrones, el transporte activo, la coagulación del contenido celular, la inhibición de

la síntesis de proteínas, la inhibición de la síntesis de ADN y la síntesis de metabolitos. utilizado para la síntesis de ADN. Algunos mecanismos de acción son específicos para determinados objetivos y algunos objetivos también pueden verse afectados por más de un mecanismo. (Azüero et al., 2016)

Aunque *Taraxacum* es una planta con una resistencia a patógenos extremadamente alta, los mecanismos moleculares subyacentes de la actividad antimicrobiana están poco estudiados. Hasta ahora, la mayor parte de la investigación sobre *Taraxacum* se ha centrado en dilucidar los compuestos presentes en el extracto y, en menor medida, en el mecanismo implicado en la propia actividad antimicrobiana. (Phil Scholar et al., 2015)

Un estudio ilustró específicamente el efecto de cuatro proteínas de *T. officinale* flores en hongos por microscopía óptica y distinguió dos modos de acción antimicrobiana, dependiendo del hongo probado. *Taraxacum* las proteínas bloquearon completamente la germinación de los conidios o indujeron el engrosamiento de múltiples hifas locales y plasmólisis del citoplasma irreversible.(Phil Scholar et al., 2015)

Diferentes extractos de este género mostraron actividad inhibidora positiva en estudios controlados y se caracterizaron por inhibición de la síntesis de proteínas (p. Ej. Cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina y kanamicina) y síntesis de la pared celular (p. Ej. Anfotericina, cefixima, cefalotina y penicilina). Estos mecanismos deben abordarse para dilucidar la *Taraxacum* mecanismos de acción del compuesto activo porque no se puede buscar una relación directa con los controles positivos.(Parham et al., 2020)

Otra respuesta que se ha estudiado es la modulación de la adherencia de los microbios a los tejidos corporales. La adhesión a las células epiteliales se ha representado como el primer paso en la subsiguiente invasión bacteriana de las células huésped. Según Parham et al., 2020, estos autores informaron la inhibición parcial de la adherencia intestinal de *C. jejuni* Células HT-29 que utilizan un etanólico comercial *Taraxacum* extraer. La actividad citotóxica fue inferior al 10%,

pero no se observó actividad antibacteriana.

Es más, *Taraxacum* ha sido probado con el objetivo de controlar enfermedades bacterianas inhibiendo la comunicación entre bacterias. Un extracto etanólico de *T. officinale* partes aéreas alteraron los sistemas de comunicación bacteriana (o detección de quórum) para *C. violaceum*, que muestra el efecto moderadamente positivo del extracto sobre la atenuación de la patogenicidad microbiana. Por el contrario, un extracto etanólico y acuoso de los rizomas de la misma planta no mostró actividad significativa en el mismo ensayo.

2.8.2 ACTIVIDAD ANTIVIRAL

Los virus son responsables de un gran número de trastornos humanos. Varias enfermedades difíciles de curar y síndromes complejos, como la enfermedad de Alzheimer, la diabetes tipo 1 y el carcinoma hepatocelular, se han relacionado con infecciones virales.

Además, debido al aumento de los viajes globales y la rápida urbanización, los brotes epidémicos causados por virus emergentes y reemergentes representan una amenaza crítica para la salud pública, particularmente cuando no se dispone de vacunas preventivas y terapias antivirales. Sin embargo, hasta la fecha, muchos virus siguen sin una inmunización eficaz y solo unos pocos medicamentos antivirales están autorizados para uso clínico. La situación empeora aún más por el desarrollo potencial de mutantes resistentes a los medicamentos. Por lo tanto, existe un requisito urgente para identificar nuevos antivirales que sean muy eficientes y rentables para el manejo y control de infecciones virales cuando se carece de vacunas y terapias estándar. Los medicamentos a base de hierbas y los productos naturales purificados presentan un rico recurso para el desarrollo de nuevos fármacos antivirales⁵². La actividad antiviral de diferentes extractos de diente de león se probó contra cuatro virus

2.8.3. ACTIVIDAD ANTICANCERIGENA

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial. Numerosos estudios han

sugerido que el consumo de una dieta basada en plantas tiene un efecto beneficioso en la terapia contra el cáncer. Más del 60 % de los medicamentos de quimioterapia autorizados y utilizados actualmente se han aislado de productos naturales, en su mayoría de origen vegetal.⁸² En 1981, por primera vez, se demostró que el extracto de diente de león en agua caliente poseía actividad antitumoral.

Después de eso, se realizaron varios estudios para aprobar las propiedades anticancerígenas del diente de león y encontrar el mecanismo detrás de su efecto sobre las células malignas adultas y pediátrica. El diente de león muestra una citotoxicidad específica de células cancerosas⁸⁴. Induce la muerte celular apoptótica al aumentar la producción de factor de necrosis tumoral (TNF)- α e interleucina (IL)-1 α . Se sabe que las citocinas y sus correspondientes receptores son importantes reguladores de la muerte celular. El TNF- α y la IL-1 α son dos potentes inductores de la apoptosis de las células cancerosas⁸⁵. El diente de león induce la apoptosis a través de vías tanto extrínsecas (receptor de muerte celular) como intrínsecas (mitocondriales)⁸⁴. Además de su efecto citotóxico, también reduce la invasión de células cancerosas al disminuir los niveles de fosforilación de la quinasa de adhesión focal y src, así como al amortiguar las actividades de las metaloproteinasas de matriz (MMP) como MMP-2 y MMP-9.

Se demostró que el diente de león reguló a la baja la expresión del factor de transcripción 2 (Sox2) de SRY-Box y aumentó la expresión del gen y la proteína del receptor de ácido retinoico β 2 (RAR β 2) en células madre cancerosas (CSC).

Las CSC desempeñan un papel importante en el inicio y el progreso de la tumorigénesis. Las terapias convencionales contra el cáncer tienen efectos incompletos y temporales que solo reducen el tamaño del tumor, y el tumor tiende a recaer principalmente debido a los múltiples mecanismos de resistencia existentes en las CSC. Sox2, uno de los genes que mantiene la autorrenovación de las células madre embrionarias y se relaciona con el potencial de diferenciación de estas células, se expresa de manera anormal en varios tumores humanos. Sox2 juega un papel importante en la tumorigénesis porque la sobreexpresión de Sox2 aumenta la

proliferación, la clonogenicidad y la tumorigenicidad en el cáncer, y estos resultados sugieren que Sox2 es una molécula diana terapéutica potencial en el cáncer. RAR β 2, un miembro de la superfamilia de reguladores transcripcionales nucleares de receptores de hormonas tiroideas, codifica RAR β . Se une al ácido retinoico, la forma biológicamente activa de la vitamina A que media la señalización celular en la morfogénesis embrionaria, el crecimiento celular y la diferenciación. Se cree que esta proteína limita el crecimiento de muchos tipos de células al regular la expresión génica.

La expresión del gen supresor de tumores RAR β 2 se reduce en muchos tumores malignos. Como se mencionó antes, el diente de león regula a la baja la expresión de Sox2 y aumenta la expresión del gen y la proteína RAR β 2 en las CSC, por lo que controla la apoptosis en el cáncer. El ligando inductor de la apoptosis relacionado con el TNF (TRAIL) es un objetivo farmacológico anticancerígeno prometedor que induce selectivamente la apoptosis en las células cancerosas. Sin embargo, muchas células cancerosas son resistentes a la apoptosis inducida por TRAIL. Por lo tanto, revertir la resistencia a TRAIL es un paso importante para el desarrollo de terapias contra el cáncer eficaces basadas en TRAIL. La eliminación de la proteína similar al regulador de la vía de señalización TOR (TI-PRL) provocó la apoptosis inducida por TRAIL mediante la activación de la vía de la quinasa N-terminal (JNK) MKK7-c-Jun a través de la interrupción de la interacción MKK7- TIPRL. El diente de león es un sensibilizador de TRAIL. El tratamiento combinado con orientación de TRAIL y diente de león dio como resultado la apoptosis inducida por TRAIL mediada por la inhibición de la interacción MKK7-TIPRL y la posterior activación de la fosforilación de MKK7-JNK. Ácido chicorico como elemento principal del extracto de diente de león

2.8.4. EFECTO PROTECTOR SOBRE LA LESIÓN PULMONAR

La lesión pulmonar aguda (ALI) se describe como un síndrome de inflamación pulmonar con aumento de la permeabilidad vascular. Las características principales de ALI son la entrada extensa de neutrófilos en los pulmones, la producción de

mediadores proinflamatorios de las células inflamatorias y el daño a las superficies epiteliales y endoteliales de los pulmones que conducen a edema rico en proteínas y deterioro de la función respiratoria. Aunque los avances recientes en el manejo clínico y las extensas investigaciones sobre nuevas estrategias de tratamiento se han mostrado prometedores, la mortalidad por ello sigue siendo alta en la última década.

El estudio sobre el efecto protector del diente de león en ALI inducido por lipopolisacárido (LPS) en ratones mostró que el diente de león disminuyó la proporción de pulmón húmedo a seco, la concentración de proteína y la cantidad de neutrófilos en el líquido de lavado broncoalveolar después del desafío con LPS. Disminuyó la actividad de mieloperoxidasa inducida por LPS y aumentó la actividad de superóxido dismutasa en los pulmones.

Además, el examen histopatológico indicó que el diente de león atenuó la lesión tisular de los pulmones en la ALI inducida por LPS. Además, el diente de león inhibió la producción de citoquinas inflamatorias TNF- α e IL-6 en el líquido de lavado broncoalveolar LPS desafío de una manera dependiente de la dosis. Estos resultados sugirieron que el diente de león protege contra el ALI inducido por LPS en ratones

2.8.5 ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA

El estado saludable del cuerpo depende del funcionamiento preciso del hígado para la excreción de desechos, el metabolismo xenobiótico y su disfunción por sustancias químicas tóxicas da como resultado un problema de salud grave. El mal funcionamiento hepático debido a la inhalación o ingestión de materiales hepatotóxicos como paracetamol, cloruro de cadmio, etanol, tetracloruro de carbono (CCl₄) y alcoholes alílicos está aumentando significativamente en todo el mundo. Las plantas utilizadas en la medicina tradicional necesitan una investigación detallada desde un enfoque etnofarmacológico para el tratamiento de los trastornos hepáticos.

2.8.6. EFECTO SOBRE LA DISLIPIDEMIA

Empíricamente, el diente de león (especialmente su raíz) se usa contra la obesidad. En 1974 se demostró que el extracto fluido de diente de león administrado a una dosis de 8 ml/kg de peso corporal durante un mes provocó una pérdida de peso en ratones y ratas de hasta un 30% en comparación con los valores iniciales.¹⁰³ Las estrategias globales basadas en modificaciones del estilo de vida y medicamentos para bajar de peso no han logrado proporcionar una pérdida de peso duradera en personas con sobrepeso. Según la OMS, la obesidad se ha convertido en una epidemia mundial.

Es un importante problema de salud pública y generalmente le siguen trastornos metabólicos, diabetes, hipertensión, cáncer, enfermedades cardiovasculares y enfermedades relacionadas con la inflamación. Diversos estudios han evaluado productos naturales con actividad antiobesidad, incluidos materiales vegetales. Algunos estudios también han examinado el efecto del diente de león en las condiciones relacionadas con la hiperlipidemia.

2.8.7. ACTIVIDAD ANTIDEPRESIVA

La depresión se está convirtiendo cada vez más en un problema de salud pública mundial y puede tener muchos resultados graves. Si bien se habían logrado avances en el desarrollo de antidepresivos durante las últimas décadas, la eficacia terapéutica sigue siendo insatisfactoria debido a los numerosos efectos secundarios que los acompañan. Por tanto, la tarea de descubrir y desarrollar fármacos seguros y eficaces para la depresión es importante y urgente en la actualidad. La creciente evidencia indica que los productos naturales y los compuestos derivados de productos naturales exhibieron un notable efecto antidepresivo. Los efectos similares a los antidepresivos del extracto acuoso de hojas y raíces de diente de león se investigaron en ratones mediante la prueba de natación forzada (FST), la prueba de suspensión de la cola (TST) y la prueba de campo abierto (OFT). El tratamiento crónico disminuyó el tiempo de inmovilidad tanto en FST como en TST. El tratamiento agudo también disminuyó el tiempo de

inmovilidad tanto en FST como en TST. Sin embargo, todos los tratamientos no afectaron la actividad locomotora en la OFT. Es más, FST indujo un aumento significativo en los niveles séricos de hormona liberadora de corticotropina, hormona adrenocorticotrópica y corticosterona. El tratamiento crónico disminuyó el factor liberador de corticotrofina sérica y los niveles de corticosterona. Estos resultados demostraron los efectos antidepresivos de la hierba en modelos animales de comportamiento desesperado y sugirieron el mecanismo involucrado en el sistema neuroendocrino.

2.8.7. EFECTO SOBRE LA FATIGA

La fatiga es un signo común que puede ocurrir tanto en la salud como en la enfermedad. Se puede dividir en fatiga física y mental. En China, la Medicina Tradicional China tiene una larga historia de uso como 'tónicos' para tratar la fatiga física y ahora está siendo validada por el enfoque científico por su notable potencial curativo. El diente de león poseía un efecto contra la fatiga física. Mejoró la capacidad máxima de natación de los ratones, retrasó drásticamente la disminución de la glucosa en la sangre y evitó el aumento de las concentraciones de lactato y triglicéridos.⁶⁰ El efecto antifatiga del diente de león en ratones se probó realizando una FST y in vitro mediante el uso de macrófagos peritoneales. Después de la administración oral diaria de diente de león, se midieron los parámetros bioquímicos sanguíneos relacionados con la fatiga después de la FST. El tiempo de inmovilidad FST se redujo en el grupo tratado con diente de león. El tratamiento con diente de león aumentó los niveles de glucosa, sirviendo como fuente de energía. El nivel de deshidrogenasa láctica, que es un indicador preciso del daño muscular, tendió a disminuir después de la administración. Cuando se administró diente de león por vía oral a ratones, los niveles de nitrógeno ureico en sangre disminuyeron.

2.8.8. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los mamíferos aeróbicos utilizan oxígeno para mantener las funciones fisiológicas normales y hasta el 2 % del consumo de oxígeno termina en forma de especies

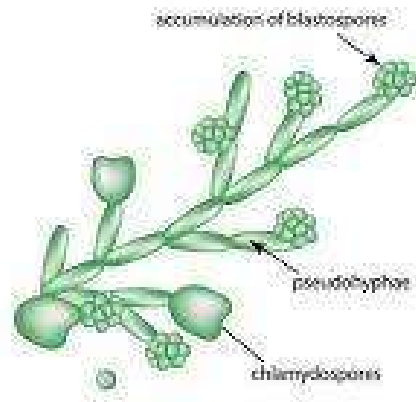
reactivas de oxígeno (ROS). Las ROS son derivados del oxígeno con electrones orbitales desapareados y son inestables y Altamente reactivo. ROS incluye radical hidroxilo, radical superóxido, radical peroxilo y oxígeno singulete. Además de ROS, las especies de nitrógeno reactivo, como el óxido nítrico (NO) y el peroxinitrito, también tienen una alta reactividad con un significado biológico potencialmente importante. Los extractos de plantas naturales se han investigado ampliamente por su potencial antioxidante. Los compuestos antioxidantes más comunes en las frutas son el ácido ascórbico, los carotenoides y las sustancias polifenólicas. La calidad del antioxidante natural depende no solo de la naturaleza de la fuente vegetal, el origen geográfico, las condiciones climáticas, el momento de la cosecha y el almacenamiento, sino también del método de extracción y el solvente utilizado.

2.9. MICROORGANISMOS PATOGENOS EN ESTUDIO

2.9.1. CANDIDA ALBICANS

Es un hongo patógeno oportunista que existe como comensal inofensivo en los tractos gastrointestinal y genitourinario en aproximadamente el 70% de los humanos y aproximadamente el 75% de las mujeres sufren de Cándida infección al menos una vez en la vida. Sin embargo, se convierte en patógeno oportunista para pacientes inmunodeprimidos, para algunos individuos inmunológicamente débiles o incluso para personas sanas. La infección causada por *C. albicans* se conoce comúnmente como candidiasis. La candidiasis se puede clasificar en dos categorías según la gravedad de la enfermedad. En la primera categoría se encuentran las infecciones de las mucosas y la más conocida entre estas infecciones de las mucosas es la candidiasis que se caracteriza por manchas blancas en las membranas infectadas. (Lazo et al., 2018)

Candida albicans



CANDIDIASIS



Figura 4: *Candida albicans* y candidiasis

Estas infecciones generalmente afectan las células epiteliales gastrointestinales, la mucosa vaginal u orofaríngea. Además, candidiasis vulvo vaginal (VVC) es bastante común entre las mujeres, y algunas de ellas experimentan apariciones repetidas de esta infección, que se conoce como candidiasis vulvo vaginal recurrente (RVVC). Sin embargo, causa infecciones sistémicas potencialmente mortales en pacientes gravemente enfermos en los que la tasa de mortalidad es de aproximadamente el 30%.(Javier Pineda Murillo, Cortés Figueroa Arturo Ángel, Uribarren Berrueta Teresita del Niño Jesús, 2018)

Las infecciones son comunes en las personas inmunodeprimidas, incluidos los pacientes infectados por el VIH, los receptores de trasplantes, los pacientes de quimioterapia y los bebés de bajo peso al nacer. Aunque algunas especies como *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis*, y *Candida tropicalis* se recuperan de personas infectadas, *C. albicans* sigue siendo un importante agente fúngico infeccioso. Históricamente, *C. albicans* lo conocemos desde el año 400 a. C. cuando el reconocido médico griego Hipócrates identificó una infección microbiana y la denominó "candidiasis", que es causada por este patógeno. Sin embargo, no se estudió como cualquier otro organismo modelo hasta tarde.(Otero Rey et al., 2015)

Los primeros estudios del siglo XX se limitaron principalmente a la identificación de *C. albicans* cepas. Con las mejoras en el sistema de salud en todo el mundo, el número de personas mayores y pacientes inmunodeprimidos se ha incrementado dramáticamente y, por lo tanto, las infecciones causadas por varios microbios. Se ha observado que la *Candida* especies son una de las cuatro causas más comunes de infecciones del torrente sanguíneo y cardiovasculares en los hospitales de EE. UU. Infecciones del torrente sanguíneo causadas por *Cándida* son responsables de una tasa de mortalidad de hasta el 50% entre los pacientes infectados. (Reyes, 2019)

En caso de unidades de cuidados neonatales, *Candida* las infecciones del torrente sanguíneo relacionadas son aún más frecuentes. Debido a las razones mencionadas anteriormente, *C. albicans* ha ganado importancia como un patógeno humano potencial, lo que ameritó un estudio detallado de este organismo para comprender su biología. En las décadas de 1970 y 1980, algunos *Saccharomyces cerevisiae* los laboratorios comenzaron a trabajar en *C. albicans*, y en la década de 1990, un gran número de laboratorios de levadura se cambiaron para estudiar diferentes aspectos de *C. albicans* resultando en el inicio de la secuenciación del genoma de este patógeno en 1996.(Reyes, 2019)

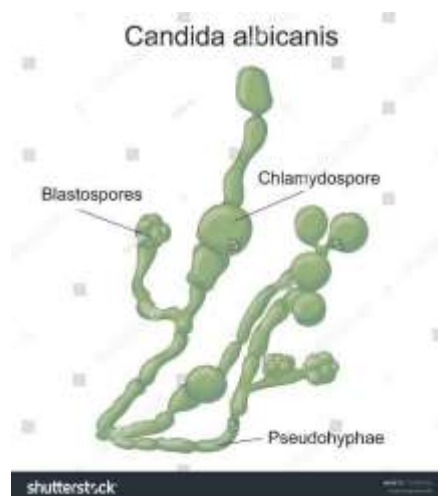


Figura 5: Estructura microscópica de *Candida albicans*

La finalización y disponibilidad de la secuencia del genoma de *C. albicans* en 2004

hizo posible iniciar actividades de investigación rigurosas y expandió nuestro conocimiento de este importante patógeno. En las últimas dos décadas, se han logrado avances sustanciales en la comprensión de la patogenicidad, la estructura y dinámica del genoma, el patrón de expresión génica en diferentes condiciones, la resistencia a los fármacos, la formación de biopelículas y las interacciones huésped-parásito. Sin lugar a dudas, ha surgido como miembro del grupo élite de organismos modelo, al menos para patógenos fúngicos. Aquí nos gustaría discutir brevemente algunas de las características importantes de *C. albicans*, que se están estudiando enérgicamente para comprender su biología completa y cómo se ha elevado al nivel de patógeno fúngico modelo. (Lazo et al., 2018)

2.9.2. ESCHERICHIA COLI

Es un habitante común del tracto gastrointestinal del hombre y otros animales, pero existen varios tipos patógenos de *E. coli*, que causan una variedad de enfermedades humanas. En la última década, las infecciones causadas por *E. coli*, han surgido como una nueva zoonosis importante que ha dado lugar a un grave problema de salud pública en América del Norte, Europa y, cada vez más, en otras áreas del mundo.

Aunque el número absoluto de infecciones es pequeño en comparación con otros patógenos entéricos como *Salmonella* o *Campylobacter*, es bien sabido que *E. coli* tiene el potencial de producir una enfermedad grave, potencialmente mortal. (Sangeetha & Ezhilarasan, 2016)

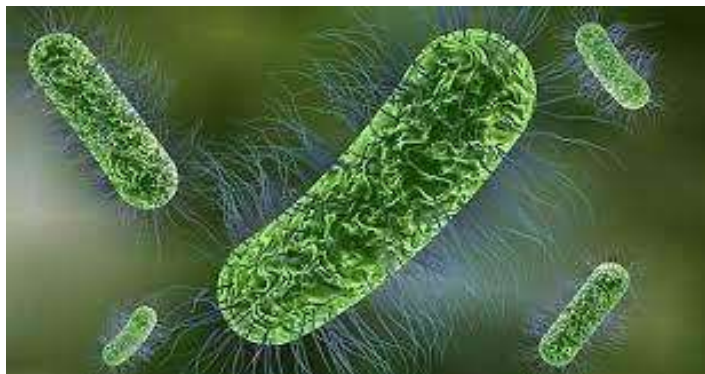


Figura 6: Estructura microscopica de la bacteria E coli.

Como sugiere el nombre, la principal característica de la infección por estos organismos es la diarrea sanguinolenta. Sin embargo, se les conoce comúnmente como *E. coli* verocitotoxigénica (VTEC) tras la observación de Konawalchuk en 1977 de que podrían producir una toxina que tiene un efecto citotóxico directo sobre las células Vero cultivadas.

En 1982 O'Brien y colaboradores demostraron que esta verotoxina (VT) era muy homóloga a la toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo I, y los organismos todavía se denominan comúnmente en la literatura como *E. coli*(STEC). (Parham et al., 2020)

Sin embargo, la importancia clínica y para la salud pública de estos organismos no se apreció hasta la aparición de un extenso brote comunitario de diarrea sanguinolenta en 1982 asociado con una cadena de restaurantes de comida rápida en los Estados Unidos. Casi al mismo tiempo, Karmali y sus colegas en Toronto, Canadá, demostraron que la infección por VTEC estaba asociada con el desarrollo del síndrome hemolítico urémico (SUH) en niños.

Ahora se reconoce que hay más de 100 serogrupos de *E. coli* que pueden producir verotoxinas, y varios de ellos se han asociado con infecciones y brotes esporádicos en humanos. Sin embargo, *E. coli* sigue siendo el más importante del grupo de organismos VTEC, particularmente en América del Norte y el Reino Unido.(Alfredo Arriola, 2020)

2.9.2.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y PATOGENIA

La infección por *E. coli* se presenta con un amplio espectro de manifestaciones clínicas que pueden incluir significativamente el transporte asintomático, y esto puede ser importante en relación con la diseminación secundaria posterior. La diarrea es la presentación clínica más común, con un período de incubación de 1 a 14 días, y con frecuencia, pero no invariablemente, es de naturaleza sanguinolenta, por lo general acompañada de dolor abdominal intenso y tipo cólico. (Sangeetha &

Ezhilarasan, 2016)

Aproximadamente la mitad de los pacientes presentan vómitos, pero la fiebre es poco común. La cantidad de sangre presente en las heces puede variar desde unas pocas rayas hasta una materia fecal que se compone casi en su totalidad de sangre. Esta colitis hemorrágica grave (HC) puede poner en peligro la vida, sobre todo en las edades extremas.

El SUH es la complicación más importante de la infección por *E. coli*. Este síndrome clínico comprende anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda y ocurre en aproximadamente el 7% de los casos entre 5 y 10 días después del inicio de los síntomas, a menudo cuando la enfermedad diarreica inicial se está resolviendo. La infección por VTEC es la causa más común de SUH en América del Norte y Europa, y el SUH es la causa médica más común de insuficiencia renal aguda en niños de estas áreas. (Ruano et al., 2016)

Aproximadamente el 5% de los pacientes con SUH mueren en la fase aguda de la enfermedad. Los niños en edad preescolar en particular y los ancianos tienen más probabilidades de desarrollar SUH, y una proporción de pacientes desarrolla secuelas renales a largo plazo. Las características clínicas del SUH pueden complicarse aún más por el desarrollo de afectación neurológica y de otros órganos, como se observa particularmente en adultos en quienes esto puede manifestarse como púrpura trombocitopénica trombótica (PTT). (Díaz-de León et al., 2020)

Aproximadamente la mitad de los infectados con VTEC requieren hospitalización. Aunque la mortalidad general, generalmente como resultado de HC y HUS, se ha calculado como 3%, esta cifra varía ampliamente y las tasas más altas se asocian con los extremos de edad, particularmente en los ancianos.

Los aislamientos extra-intestinales de VTEC son raros y la invasión de tejidos profundos no es una característica patogénica. Sin embargo, se cree que es importante la adherencia a la mucosa intestinal subyacente mediada por el gen

eaeA . Esta interacción produce una típica lesión adherida y borrrable . Se cree que otros factores de colonización y adhesinas juegan un papel en el proceso de adherencia.(Linde et al., 2016)

Se cree que las manifestaciones más graves de la enfermedad por *e coli*, en particular el SUH, son el resultado de la producción de TV. Hay dos toxinas distintas, VT1 y VT2, junto con un pequeño número de variantes de VT. VT1 y VT2 comparten aproximadamente un 60% de homología de secuencia. VT1 es estructural y bioquímicamente similar a la toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* , de la que se diferencia en un solo aminoácido. (Glicerio et al., 2015)

Las cepas de VTEC producen ambas o ninguna de las toxinas, que están codificadas por bacteriófagos. Las verotoxinas comprenden 5 subunidades B (de unión) de 8 kDa y una única subunidad A activa de 32 kDa. El pentámero de unión interactúa con un glicolípido de superficie específico, globotriaosil ceramida (Gb₃), y la toxina se internaliza mediante endocitosis mediada por receptores. Dentro del citoplasma, la subunidad A cataliza la inactivación enzimática del ARN 28S dentro de la subunidad ribosómica 60S, lo que da como resultado la inhibición de la síntesis de proteínas y la muerte celular .(Glicerio et al., 2015)

El daño a las células endoteliales renales por este proceso es probablemente el evento etiológico principal en el SUH. La hinchazón de las células endoteliales dañadas, la hipertrofia de las células mesangiales y el desprendimiento de la membrana basal subyacente estrechan la luz de los capilares glomerulares.

La activación secundaria de la coagulación, con la formación de trombos plaquetarios y la generación de fibrina, ocluyen aún más los capilares glomerulares estrechados y las arteriolas aferentes, y la lesión renal se debe a necrosis tubular y glomerular isquémica. Procesos análogos, aunque patológicamente distintos, ocurren en TTP, la otra microangiopatía trombótica que puede ocurrir después de la infección por VTEC O157. Tanto en el SUH como en la PTT, este proceso puede afectar ocasionalmente a otros órganos, incluidos el cerebro, el miocardio y el páncreas, con el consiguiente desarrollo de encefalopatía.(Lazo et al., 2018)

Los factores que determinan la gravedad del resultado de la infección por VTEC no se conocen bien. Se sabe que la expresión de Gb₃ puede ser regulada positivamente por citocinas proinflamatorias, y que la producción local de estos mediadores dentro del riñón puede ser importante. Asimismo, existen pruebas de que la expresión del antígeno del grupo P en las células de la sangre periférica, que imita la estructura del receptor de TV, puede proporcionar algún efecto protector. (Díaz-de León et al., 2020)

Los intentos de desentrañar las funciones etiológicas precisas y la interacción de los diversos componentes celulares y bioquímicos involucrados se han visto obstaculizados por la falta de buenos modelos animales. La descripción reciente de una infección canina de origen natural causada por VTEC, que tiene un parecido sorprendente con la enfermedad humana bien puede ser importante. El papel de factores de patogenicidad adicionales, como una enterohemolisina EHEC-Hly codificada por plásmidos de virulencia, aún no se ha dilucidado. (Harfouch & Ghosh, 2021)

2.9.3. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Las bacterias del género *Staphylococcus* son patógenos del hombre y otros mamíferos. Tradicionalmente, se dividían en dos grupos en función de su capacidad para coagular el plasma sanguíneo (la reacción de la coagulasa). Los estafilococos coagulasa positivos constituyen la especie más patógena de *S. aureus*. Ahora se sabe que los estafilococos coagulasa negativos (SNC) comprenden más de 30 especies más. El SNC son comensales comunes de la piel, aunque algunas especies pueden causar infecciones. Ahora es obvio que la división de estafilococos en coagulasa positiva y negativa es artificial y, de hecho, engañosa en algunos casos. (Parham et al., 2020)

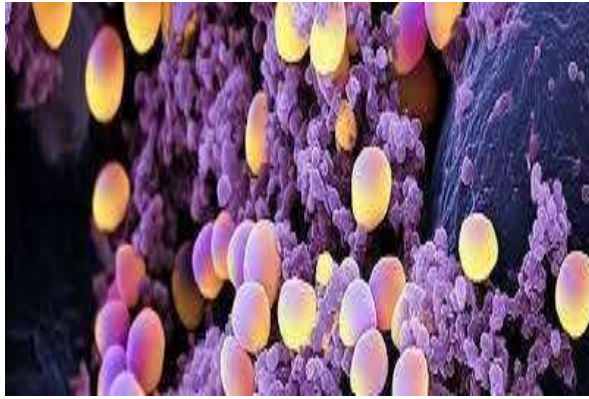


Figura 7: Imagen microscopica *S. aureus*

La coagulasa es un marcador de *S. aureus*, pero no hay evidencia directa de que sea un factor de virulencia. Además, algunos aislados naturales de *S. aureus* tienen defectos de coagulasa. Sin embargo, el término todavía se usa ampliamente entre los microbiólogos clínicos.

S. aureus expresa una variedad de proteínas y polisacáridos extracelulares, algunos de los cuales se correlacionan con la virulencia. La virulencia resulta del efecto combinado de muchos factores expresados durante la infección. Los anticuerpos neutralizarán las enzimas y las toxinas estafilocócicas, pero no hay vacunas disponibles. A menudo, tanto el tratamiento con antibióticos como el drenaje quirúrgico son necesarios para curar abscesos, forúnculos grandes e infecciones de heridas. (Sangeetha & Ezhilarasan, 2016)

Los estafilococos son causas comunes de infecciones asociadas con dispositivos médicos permanentes. Estos son difíciles de tratar solo con antibióticos y, a menudo, requieren la extracción del dispositivo. Algunas cepas que infectan a los pacientes hospitalizados son resistentes a la mayoría de los antibióticos utilizados para tratar las infecciones, siendo la vancomicina el único fármaco restante al que no se ha desarrollado resistencia. (Harfouch & Ghosh, 2021)

2.9.3.1. PATOGENIA

S. aureus expresa muchas proteínas extracelulares y asociadas a la superficie celular que son factores de virulencia potenciales. Para la mayoría de las enfermedades causadas por este organismo, la patogenia es multifactorial. Por

tanto, es difícil determinar con precisión el papel de un factor dado. Esto también refleja las deficiencias de muchos modelos animales para las enfermedades estafilocócicas. (Azuero et al., 2016)

Sin embargo, existen correlaciones entre cepas aisladas de enfermedades particulares y la expresión de factores particulares, lo que sugiere su importancia en la patogénesis. Con algunas toxinas, los síntomas de una enfermedad humana se pueden reproducir en animales con proteínas puras.

La aplicación de la biología molecular ha dado lugar a avances recientes en la comprensión de la patogenia de las enfermedades estafilocócicas. Se han clonado y secuenciado genes que codifican factores de virulencia potenciales y se han purificado las proteínas. Esto ha facilitado estudios a nivel molecular sobre sus modos de acción, tanto in vitro como en sistemas modelo. (Parham et al., 2020)

Además, los genes que codifican factores de virulencia putativos se han desactivado y la virulencia de los mutantes se ha comparado con la cepa de tipo salvaje en modelos animales. Cualquier disminución de la virulencia implica el factor faltante. Si se restaura la virulencia cuando el gen se devuelve al mutante, entonces se han cumplido los “Postulados de Koch Molecular”. Varios factores de virulencia de *S aureus* han sido confirmados por este enfoque.

Las plantas dependen de la inmunidad innata para protegerse de las amenazas de los patógenos. Tal inmunidad se basa en respuestas de defensa preformadas e inducidas. Las respuestas de defensa preformadas son inespecíficas e incluyen compuestos con propiedades antimicrobianas o barreras estructurales como la pared celular y el citoesqueleto que disuaden a patógenos y plagas.

Las defensas inducidas se activan mediante el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) presentes en la superficie del patógeno o por reconocimiento de proteínas (efectoras) translocadas por el patógeno a la célula huésped.

Las primeras respuestas de defensa inducidas incluyen la reorganización

citoesquelética fortificación de la pared celular generación de especies reactivas de oxígeno y síntesis de fitoalexinas mientras que los eventos posteriores durante las respuestas de defensa incluyen la transcripción de proteínas relacionadas con la patogénesis (PR) y el desarrollo de un tipo de muerte celular programada (PCD) conocida como respuesta hipersensible (HR) que limita la propagación del patógeno. (Sangeetha & Ezhilarasan, 2016)

Las plantas mutantes que expresan constitutivamente respuestas de defensa se atrofian y tienen una fertilidad reducida, mientras que las plantas mutantes con defectos en las vías de señalización de defensa son más altas. Por lo tanto, parece que, para establecer un balance energético favorable para la defensa, la regulación al alza de las vías relacionadas con la defensa se compensa con la regulación a la baja de los genes implicados en otras vías metabólicas.

De acuerdo con esta noción, se ha descubierto que los genes involucrados en la fotosíntesis y la biosíntesis de clorofila se regulan a la baja al ser desafiados por patógenos virulentos y avirulentos, así como por inductores derivados de patógenos (Harfouch & Ghosh, 2021)

2.10. TÉCNICAS DE AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LAS PLANTAS MEDICINALES

Una vez obtenido el extracto de la planta con cualquiera de los métodos anteriores, se presenta una mezcla compleja de productos naturales (metabolitos secundarios) que es necesario aislar y depurar para obtener el producto puramente natural. Los compuestos tienen diferentes polaridades y características físicas que deben tenerse en cuenta ya que pueden dificultar el proceso de identificación y caracterización (Sasidharan et al, 2017). Se utilizan dos tipos de técnicas para aislar y detectar metabolitos secundarios: 1) Técnicas cromatográficas como la cromatografía en capa fina (TLC), la cromatografía en columna (CC), la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) y la cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC) y 2) técnicas no cromatográficas como la espectroscopia

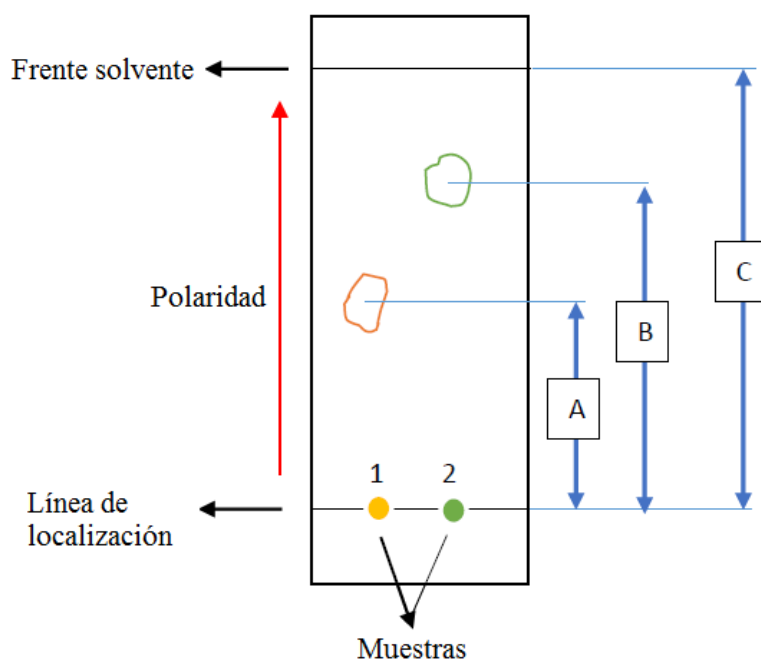
infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), (NMR) y (GC-MS) (Koparde, Doijad y Magdum, 2019).

2.10.1. TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

Son métodos que separan los diferentes compuestos químicos según su polaridad, forma, tamaño y carga (Koparde, Doijad y Magdum, 2019). Existen 2 fases esenciales en estas técnicas: a) fase estacionaria es aquella que tiene una sustancia o adsorbente con diferentes afinidades a los compuestos que tiene la muestra, puede ser una confiable, gel o líquida (si es líquida, es unido a un sólido). Como adherentes de la fase estacionaria se utilizan habitualmente gel de sílice, celulosa en polvo, aluminio, almidón, etc. Y también tenemos la b) fase móvil, que es un líquido o gas que se mueve en una dirección junto con la fase estacionaria (solventes). Su principal se centra en la aplicación de la muestra (extracto) sobre una superficie o un sólido donde la fase estacionaria permite la separación de productos naturales ayudada por la fase móvil (Tinoco, 2020).

2.10.2. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (CCF)

La técnica de CCF se aplica principalmente para compuestos de bajo peso molecular y utiliza un adsorbente adherido a una placa como fase estacionaria (Koparde, Doijad y Magdum, 2019). La literatura informa que alrededor del 90% de los análisis fitoquímicos se realizan con gel de sílice. En este método, la fase móvil (solvente) viaja hacia arriba a través de la fase estacionaria por acción capilar, logrando así que los anularitos se separen según su polaridad respecto al solvente elegido (Sherma y Fried, 1991). En el caso de que las moléculas sean incoloras, es necesario utilizar inflorescencia, radiactividad o cualquier sustancia química que les permita emitir un color que indique su posición en la placa. La reacción se puede observar visualmente o bajo luz ultravioleta. La TLC también nos permite calcular la posición del anularito usando la relación de la distancia recorrida por el compuesto y la fase móvil (Tinoco, 2020). Este valor es el factor de retención (R_f) y cómo calcularlo se muestra en la Figura 4.



Distancia recorrida por el compuesto
 $R_f = \frac{\text{factor de retención (Rf)}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$

Figura 8: Cálculo del factor de retención de TLC (R_f)

2.10.3. CROMATOGRAFÍA DE COLUMNA (CC)

La cromatografía en columna se aplica para separar compuestos con características más complejas como tener un mayor peso molecular y concentración, así como diferencias entre su estructura y carga neta. La columna se recubre por la fase estacionaria (cualquier tipo de adsorbente) y el extracto se deposita en la parte superior de la columna para ser absorbido en la fase estacionaria. Luego, se agrega la fase móvil y se deja pasar por la fase estacionaria, llevando consigo los analitos a diferentes velocidades y separando así los compuestos químicos de la muestra. La velocidad a la que transcurre la fase móvil depende de la polaridad y afinidad de los productos naturales hacia el disolvente (Mammer, 2019).

2.10.4. Cromatografía líquida de alta presión (CLAP)

La CLAP es una técnica que separa de manera eficiente moléculas en muestras biológicas, ambientales y farmacéuticas. La principal característica de la HPLC es que utiliza la presión para aumentar la velocidad a la que los compuestos de la muestra viajan a través de la columna (fase estacionaria) transportada por la fase móvil, aumentando el poder de separación de este método. La presión aplicada debe ser alta y estar entre 250-400 bar, por lo que es mejor aplicarla para muestras que contengan compuestos termolábiles (Grosser y Van Dam, 2017). En esta técnica se utiliza un detector (habitualmente de luz ultravioleta por su alta sensibilidad), que permite detectar aquellos componentes capaces de absorber luz ultravioleta en un amplio rango de longitudes de onda, incluso cuando se encuentran en cantidades mínimas en la muestra. También se necesita un registrador que permita representar gráficamente la composición química de la muestra a través de un cromatograma (Díaz-Santana, Vega-Moreno y Conde-Hardisson, 2017).

2.10.5. Cromatografía de capa fina de alto rendimiento (CCFAR)

La cromatografía de capa fina de alto rendimiento es una técnica mejorada basada en los mismos principios de CCF. Este método utiliza placas mucho más pequeñas y capas de recubrimiento más gruesas que en la CCF, lo que mejora el rendimiento de la separación de analitos. La ventaja de la HPTLC es la presencia de un densitómetro, que registra la composición química de la muestra según su absorbancia de luz UV, mostrando el análisis cuantitativo de los diferentes metabolitos encontrados en un cromatograma. Es un método cromatográfico rápido, eficaz y eficaz capaz de analizar una amplia variedad de muestras (Attimarad et al, 2019).

2.10.6 Cromatografía de gases (GC)

El GC utiliza una columna donde se encuentra la fase estacionaria y, a diferencia de otras técnicas de cromatografía, la fase móvil (gas inerte) solo ayuda a transportar los compuestos a través de la columna, pero no interactúa con ellos.

Debido a la afinidad de los compuestos químicos en la muestra con la fase estacionaria, las moléculas se separan y luego salen a diferentes velocidades (Sparkman, Penton y Kitson, 2017).

2.10.7. Técnicas no cromatográficas

2.10.7.1. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

FT-IR es una técnica que utiliza luz en el rango infrarrojo del espectro electromagnético para que los componentes de una muestra desconocida puedan capturarlos y medirlos en función de una longitud de onda. Los enlaces químicos de las moléculas son los principales grupos funcionales identificados por este método y son tan específicos que se les conoce como “huella dactilar” molecular (Velavan, 2019). Al ser una técnica informatizada, a diferencia de otras, es más sensible y rápida en su detección e identificación de compuestos. Su principal ventaja es registrar toda la información de la muestra en un espectro simultáneamente. Se pueden preparar muestras para FT-IR dependiendo de si es sólido o líquido. En el caso de muestras sólidas, deben triturarse hasta que las partículas sean uniformes y mezclarse con bromuro de potasio (KBr) para formar un gránulo homogéneo que se utilizará para el análisis. Por otro lado, si tienes una muestra líquida, se coloca una pequeña gota entre dos placas de cloruro de sodio (NaCl), formando una película que te permitirá realizar el análisis (Mtewa, 2018).

2.10.7.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)

La RMN fue informada por primera vez por Shuker en 1996 cuando logró describir e identificar moléculas de fármacos utilizando esta técnica, y su uso ha aumentado rápidamente desde entonces. Es un método utilizado para determinar los marcos estructurales en cuanto a la posición y tipo de diferentes isótopos de carbono ($C-13$ NMR) o los hidrógenos (H-NMR) presentes en las moléculas de la muestra a estudiar. Para el análisis de RMN, la cantidad de muestra requerida es pequeña y la ventaja es que se puede reutilizar para estudios posteriores (Koparde, Doijad y Magdum, 2019).

2.10.7.3. Espectrometría de masas (MS)

El MS captura los compuestos separados y los descompone en fragmentos ionizados, lo que permite detectar e identificar las moléculas teniendo en cuenta la relación masa / carga. Al usar ambas técnicas juntas, el rendimiento y la sensibilidad de detección aumentan e incluso son perfectos para aquellas muestras con compuestos volátiles, ya que es un requisito específico de GC (Sparkman, Penton y Kitson, 2017).

2.10.8. Proceso para analizar las propiedades fitoquímicas y la actividad biológica de los productos naturales.

Las plantas han tenido un papel fundamental como parte de la medicina moderna y el desarrollo de la industria farmacéutica, principalmente por la cuarta razón crítica. La primera es que las plantas se utilizan en la medicina tradicional como agentes terapéuticos directos. La segunda es que se utilizan como materia prima para la producción de otros componentes químicos semisintéticos. El tercero se basa en su compleja y diversa estructura química que se ha utilizado como base para la creación de nuevos compuestos sintéticos, y el cuarto es que sirven como guías para el descubrimiento de nuevos agentes medicinales de acuerdo con el conocimiento que existe sobre su taxonomía (Raaman, Phytochemical y Techniques, 2017).

La investigación que conduce al descubrimiento de fármacos se basa en el estudio de la fitoquímica. La fitoquímica o fitoanálisis es una disciplina científica que tiene como objetivo definir la composición química de los recursos vegetales y estudiar estos componentes para descubrir potenciales agentes terapéuticos (Koparde, Doijad y Magdum, 2019). El metabolismo secundario de las plantas produce compuestos biológicamente activos que se forman como mecanismo de defensa y adaptación al medio. Estos compuestos químicos también se conocen como metabolitos secundarios o fitoquímicos. Entre los fitoquímicos más comunes se

encuentran los fenoles, alcaloides, terpenos, flavonoides, saponinas, esteroides y otros (Martínez, 2018). Según la literatura, se ha demostrado que los compuestos fenólicos son los más abundantes entre las plantas (45%) y producen la mayor cantidad de actividades biológicas (Saxena et al, 2018). Se estima que se han descrito aproximadamente 50k metabolitos secundarios en plantas, y con aquellos para los que aún no se dispone de un cribado fitoquímico, podría llegar a más de 200k. Entre las propiedades asignadas a estos componentes activos se encuentran las antimicrobianas, anticancerígenas, antioxidantes, antifúngicas, antivirales y algunas otras (Velavan, 2019). El cuadro 4 describe las diversas propiedades biológicas atribuidas a los diferentes metabolitos secundarios con base en la información de estudios previos en la literatura.

Cuadro 2. Propiedades biológicas de algunos metabolitos secundarios aislados de plantas.

Metabolitos secundarios	Actividad biológica	Referencias
Alcaloides	Anticancerígenos, antibacterianos, antivirales, antioxidantes, antifúngicos.	Thawabteh et al, (2019)
Compuestos fenólicos	Antibacterianos, antifúngicos, antioxidantes, anticancerígenos, antivirales, antitumorales, antiinflamatorios.	Saxena, et al, (2018)
Terpenoides	Antibacteriano, antifúngico, antiinflamatorio, antihipertensivo.	Martin-Smith y Sneader, (2013)
Flavonoides	Antioxidante, antiinflamatorio, antiulceroso, antiviral, anticancerígeno	(Karak, 2019).
Taninos	Antibacteriano,	(Karak, 2019;

	antiviral, antifúngico, antioxidante (133), antivirales, antioxidantes	Krzyzowska et al, 2017)
Saponin as	Analgésicas, antifúngicas, antimicrobianas	(Desai, Desai y Kaur, 2009)
Cumarin as	Antiinflamatorio, anticanceroso, anticoagulante, antioxidante, antiviral, antibacteriano.	(Xu et al, 2017)

Para lograr un proceso exitoso en el desarrollo de nuevos fármacos, primero es necesario extraer, aislar, purificar y caracterizar los fitoquímicos y luego realizar pruebas in vitro para conocer su actividad biológica (Koparde, Doijad y Magdum, 2019). Una vez finalizados estos estudios y si se pueden verificar sus propiedades medicinales, entra en la fase de pruebas clínicas para desarrollar y lanzar el fármaco al mercado (Siddiqui, AlOthman y Rahman, 2017).

2.11. ACEITE ESENCIAL

Aceites esenciales según la definición de Parham et al (2020) son “Productos olorosos, que tienen la composición compleja, y se obtienen a partir de extracto vegetal crudo, ya sea extraído por vapor de agua, destilación en seco o un método mecánico adecuado sin calentamiento. Generalmente, se utiliza un método físico para la separación del aceite esencial de la fase acuosa que no presenta cambios significativos en su composición química”.

Múltiples segmentos de las plantas de los aceites como cáscaras, cortezas, hojas, flores, brotes, semillas y otros se utilizan para producir estos líquidos oleosos aromáticos, y se aplican varias técnicas de extracción para el proceso de extracción.

Los aceites esenciales son lipofílicos y solubles en solventes orgánicos, debido a

su naturaleza hidrofóbica y menor densidad que el agua. Los rendimientos de la extracción dependen del tipo de especies y segmentos de plantas utilizados, pero un rendimiento muy bajo como el 1%, puede convertirlos en componentes raros de gran valor. Entre la plétora de especies de plantas aromáticas, solo el 10% de las 17.000 especies de plantas se consideran aromáticas. (Liang et al., 2020)

Las diferencias entre las propiedades químicas de los aceites esenciales no solo se basan en su número y tipo de moléculas, sino también en sus estructuras estereoquímicas, que pueden variar mediante el método de proceso de extracción seleccionado. La calidad, cantidad y composición de los aceites esenciales extraídos se pueden alterar según el órgano de la planta, la edad, la composición del suelo, el cambio climático y las etapas del ciclo de vida de la planta.

Además, los aceites esenciales se conocen comúnmente como metabolitos secundarios de plantas que contienen mezclas complejas de compuestos orgánicos volátiles como terpenos y sesquiterpenos (grupo hidrocarbonado) y alcoholes, éteres, ésteres, cetonas, aldehídos, fenoles, lactonas y éteres fenólicos (oxigenados).(Liang et al., 2020)

Generalmente, todo tipo de aceites esenciales tiene dos o tres componentes principales con las concentraciones más altas (20% -70%) en comparación con los otros componentes presentes en cantidades mínimas. Por ejemplo, en *Oraginum* especies, el aceite esencial contiene 30% de carvacol y 27% de timol como componentes principales.

Estos componentes determinan las propiedades biológicas de estos aceites aromáticos, mientras que cada uno de ellos se incluye en diferentes grupos de distinto origen biosintético. Los terpenoides, fenilpropanoides y derivados de hidrocarburos alifáticos de cadena corta son los principales grupos específicos de algunos constituyentes de los aceites esenciales.

2.11.1. COMPOSICIONES QUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL

Hay más de 200 componentes presentes en los aceites esenciales puros que

normalmente son mezclas de terpenos y derivados fenilpropanoides, en los que las diferencias químicas y estructurales entre los compuestos son mínimas. Los componentes de los aceites esenciales pueden clasificarse ampliamente como fracciones volátiles y no volátiles.

La composición química general de la fracción volátil del aceite aromático incluye componentes mono y sesquiterpénicos y varios derivados oxigenados junto con alcoholes, aldehídos alifáticos y ésteres. Por otro lado, del 1 al 10% en peso del aceite esencial aislado comprende carotenoides, ácidos grasos, flavonoides y ceras que se clasifican como residuos no volátiles. (Sangeetha & Ezhilarasan, 2016)

Generalmente, el método de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS) se utiliza para determinar los componentes presentes en los aceites esenciales. Este método es simple, permite respuestas rápidas, es eficiente y es una técnica analítica ampliamente utilizada para la determinación de los componentes de los aceites esenciales. Un informe GC-MS es la huella digital de cualquier lote particular de aceite esencial. Las propiedades únicas de los aceites se pueden deducir de su composición química y GC-MS es capaz de indicar la pureza de los aceites esenciales en la mayoría de los casos. (Mir M & SS, 2016)

2.11.2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

Se pueden extraer varias partes de diversas plantas aromáticas y formar aceites esenciales que posteriormente tienen muchas aplicaciones en los campos de la cosmética, la farmacéutica y la seguridad alimentaria. El método de fabricación y la técnica utilizados para extraer los aceites esenciales dependen de las características y componentes requeridos en el extracto botánico.

El principal factor para asegurar la calidad de los aceites esenciales es el método de extracción utilizado, ya que procedimientos de extracción inadecuados pueden provocar la destrucción y variar la acción de los fitoquímicos presentes en los aceites aromáticos. Los efectos resultantes pueden ser, por ejemplo, la pérdida de componentes farmacológicos, efecto de manchas, sabor / olor y cambio físico de

los aceites esenciales. (Harfouch & Ghosh, 2021)

Estas técnicas de extracción se pueden clasificar en dos categorías: métodos clásicos y métodos innovadores. La aplicación de técnicas innovadoras, como los procesos ultrasónicos y mejorados por microondas, ha mejorado la eficiencia del proceso de extracción en términos de tiempo requerido para el aislamiento del aceite esencial y la disipación de energía, así como la mejora en el rendimiento de la producción y la alta calidad de los aceites esenciales. (Navarrete et al., 2016)

2.11.2.1. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN CONVENCIONALES

Las técnicas convencionales aplicadas para extraer aceites vegetales esenciales se basan en la destilación del agua mediante el proceso de calentamiento.

2.11.2.2. HIDRODESTILACIÓN

La hidrodestilación es el método de extracción de aceites más antiguo y sencillo que fue descubierto por Avicena y el primero en desarrollar la extracción a través del alambique. La rosa fue el primer extracto de planta utilizado y purificado por este método. Los procedimientos comienzan con la inmersión de los materiales vegetales directamente en agua dentro del alambique (recipiente) y se hierve toda la mezcla. Los dispositivos incluyen una fuente de calor, un recipiente (alambique), un condensador para convertir el vapor del recipiente en líquido y un decantador para recoger el condensado y separar los aceites esenciales con agua. (Sangeetha & Ezhilarasan, 2016)

Esta técnica de extracción se considera un método único para extraer materiales vegetales como madera o flores y se utiliza con frecuencia para extracciones que involucran material vegetal natural hidrofóbico con un alto punto de ebullición. Como los aceites están rodeados de agua, este método es capaz de proteger los aceites esenciales para que se extraigan en cierto grado sin sobrecalentarse. La principal ventaja de esta técnica de extracción es su capacidad para aislar materiales vegetales por debajo de los 100 ° C

2.11.2.3. DESTILACIÓN AL VAPOR

En la extracción de aceites vegetales esenciales, el método de destilación al vapor es la técnica más amplia aplicada. El porcentaje de aceites esenciales que se extraen mediante esta técnica es del 93% y el 7% restante se puede extraer mediante otros métodos. Básicamente, el proceso comenzó calentando el material vegetal utilizando vapor que se suministra desde el generador de vapor. El calor es el factor principal que determina la eficacia con la que las estructuras del material vegetal se descomponen y revientan y liberan los componentes aromáticos o aceites esenciales. (Azuero et al., 2016)

Ruano et al., 2016, desarrolló una innovadora técnica de extracción por destilación al vapor para aumentar los rendimientos de aceites esenciales aislados y reducir la cantidad de aguas residuales producidas durante el proceso de extracción. El sistema utiliza un lecho empacado de muestras de plantas, colocado encima de la fuente de vapor. Solo se permite que el vapor pase a través de las plantas y el agua hirviendo no se mezcla con los materiales botánicos. Por lo tanto, el proceso requiere menos vapor y se puede reducir la cantidad de agua en el destilado

2.11.2.4. HIDRODIFUSIÓN

El método de extracción por hidrodifusión es un proceso de extracción en el que se suministra vapor a un recipiente que contiene materiales vegetales. Esta técnica solo se aplica en muestras de plantas secas que pueden dañarse a la temperatura de ebullición. En el proceso de destilación de vapor, el vapor se aplica desde la parte inferior del generador de vapor, mientras que en el método de hidrodifusión, el vapor se suministra desde la parte superior del generador. Este proceso se llevó a cabo a baja presión o al vacío y la temperatura del vapor se puede reducir por debajo de 100 ° C. Este método de difusión de vapor se mejoró aún más al agregar tecnología de microondas. (Navarrete et al., 2016)

2.11.2.5. EXTRACCIÓN SOLVENTE

Con esta técnica se han implementado disolventes comunes como acetona, éter de

petróleo, hexano, metanol o etanol para extraer materiales florales frágiles o delicados que no se pueden extraer con calor o vapor.

Generalmente, las muestras de plantas se mezclan con disolventes que se extraerán calentando suavemente la mezcla, y al proceso le sigue la filtración y evaporación de los disolventes. El filtrado contiene una resina (resinoide) o la mezcla de cera, fragancia y aceite esencial. El alcohol se combina con la mezcla de filtrado para disolver el aceite esencial en ella y luego se destila a baja temperatura. Durante el proceso de destilación, el alcohol absorbe la fragancia y se evapora, mientras que el aceite aromático absoluto permanece en el residuo de la olla. (Qiao & Sun, 2014)

2.11.3. PRINCIPALES METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS PLANTAS.

El metabolismo se define como un conjunto total de reacciones químicas (anabólicas, catabólicas o de biotransformación) que ocurren continuamente en cada célula, es decir, transformación de compuestos orgánicos catalizada por enzimas que dirigen estas reacciones para producir energía en las células vivas para su mantenimiento diario (Petrol, 2019). El metabolismo primario realiza funciones vitales en la célula mediante la síntesis de sustancias como lípidos, proteínas, azúcares y otras. Mientras tanto, el metabolismo secundario está destinado a elementos no esenciales para el organismo productor, cuya producción y acumulación están restringidas a un número limitado de organismos (Ramo, 2020). Actualmente se sabe que el medio ambiente, junto con la influencia antropogénica, ha venido provocando varias interferencias en el ecosistema, y especialmente en la producción de compuestos, productos químicos de ciertos vegetales, hongos, etc.

De esta forma, los vegetales acaban produciendo una mayor cantidad de metabolitos secundarios que tienen varias funciones que van desde la defensa frente a herbívoros y microorganismos, protección frente a los rayos ultravioleta (UV), atracción de polinizadores o dispersores de semillas. Los metabolitos

secundarios comprenden una clase rica y diversa de compuestos que están destinados a impartir propiedades o actividades funcionales a una planta determinada. Sin embargo, la calidad de la materia vegetal no garantiza por sí sola la eficacia y seguridad del producto final, ya que el análisis fitoquímico se rige por pruebas cualitativas para detectar clases de metabolitos, por lo que el análisis fisicoquímico asociado al farmacológico, garantiza en parte la eficacia mediante ensayos preclínicos y clínicos de los efectos preconizados (Hussein y El-Anssary, 2019). En este contexto, el análisis químico de metabolitos secundarios y material botánico, ya sean hojas, frutos, ramas y flores, brindan información esencial para la formulación de productos naturales con alta calidad farmacognóstica, por ejemplo.

2.11.4. MECANISMO DE ACCIÓN ANTIMICROBIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los sitios o estructuras de la célula bacteriana que se consideran sitios de acción para los componentes de los productos naturales se ilustran en la Figura 3. Generalmente, los mecanismos de acción de los compuestos naturales son la desintegración de la membrana citoplasmática, la desestabilización de la fuerza impulsora de protones (FIP), flujo de electrones, transporte activo y coagulación del contenido celular. No todos los mecanismos de acción actúan sobre objetivos específicos y algunos sitios pueden verse afectados como resultado de otros mecanismos (Burt, 2004, 2007).

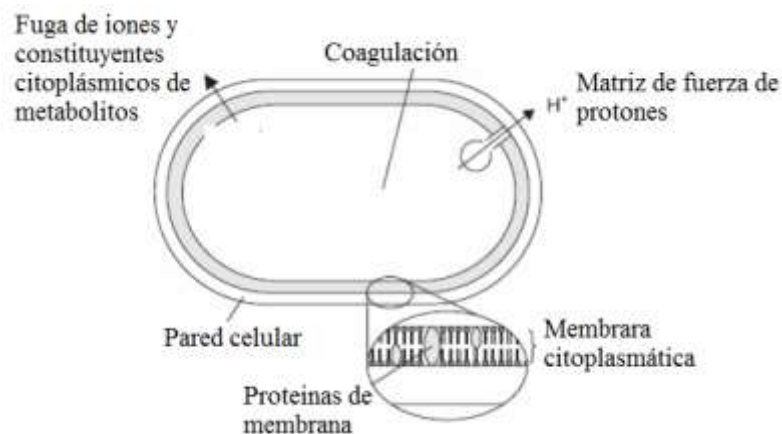


Figura 9: Sitios y mecanismos de acción que pueden ser sitios para la acción de compuestos naturales en la célula bacteriana (Adaptado de Burt, 2004, 2007)

Una característica importante, responsable de la acción antimicrobiana de los aceites esenciales. Los elementos esenciales son los componentes hidrófobos que permiten la partición de los lípidos de la membrana celular bacteriana, desintegrando las estructuras y haciéndolas más permeables. Los componentes de los aceites esenciales también actúan sobre las proteínas de la membrana citoplasmática. Los hidrocarburos cíclicos podrían actuar sobre las enzimas ATPasa que se sabe que están ubicadas en la membrana citoplasmática y rodeadas por moléculas de lípidos. Y los hidrocarburos lipídicos podrían distorsionar la interacción lípido-proteína, es posible la interacción directa de compuestos lipofílicos con partes hidrofóbicas de la proteína (Mickymaray, 2019). Algunos aceites esenciales estimularon el crecimiento de pseudomicelia, una indicación de que pueden actuar sobre enzimas involucradas en la síntesis de componentes estructurales de bacterias (Gonelimali et al, 2018). A continuación, se describen algunos compuestos y su mecanismo de acción sobre los microorganismos.

Carvacrol y timol: el timol tiene una estructura similar al carvacrol, que difiere en términos de la ubicación del grupo hidroxilo en el anillo fenólico. Las dos sustancias parecen hacer que la membrana sea permeable. Ambas estructuras desintegran la membrana externa de las bacterias Gram negativas liberando lipopolisacáridos (LPS) y aumentando la permeabilidad de la membrana citoplasmática al ATP. La presencia de cloruro de magnesio no influye en esta acción, lo que sugiere un mecanismo de quelación de cationes diferente en la membrana externa (Carhuallanqui, 2020).

Eugenol: También se han encontrado concentraciones de eugenol que inhiben la producción de amilasa y proteasa de *B. cereus*, degradación de la pared celular y lisis celular (Revelo, 2017).

P-cimeno: un precursor del carvacrol, es hidrófobo y provoca una mayor hinchazón de la membrana citoplasmática que el carvacrol (Carhuallanqui Pérez, A., 2020).

Carvona: cuando se prueba en concentraciones superiores a su concentración inhibitoria mínima (MIC), la carvona disipa el gradiente de pH y el potencial de membrana celular. El crecimiento de *E. coli*, *Streptococcus thermophilus* y *L. lactis*

disminuyó según las concentraciones de carvona, lo que sugiere que actúa alterando el estado metabólico general de la célula (Yautibug y Zambrano, 2019).

Cinamaldehído: Se sabe que el cinamaldehído tiene una acción inhibitoria sobre E. coli y Salmonella Typhimurium en concentraciones similares a las de carvacrol y timol, pero no desintegra la membrana externa ni debilita el ATP intracelular. El grupo carbonilo tiene afinidad por las proteínas que previenen la acción de las descarboxilasas de aminoácidos en E.aerogenes (Martínez, 2018). La Tabla 2 presenta los principales mecanismos de acción de los antimicrobianos vegetales según las clases ya estudiadas.

Tabla 1- Principales clases de compuestos con actividad antimicrobiana obtenidos de plantas

Clase	Subclase	Ejemplo	Mecanismos de acción
Fenólicos	Fenoles simples	Catechol	Previene la entrada del sustrato
		Epicatequina	Desintegración de la membrana
	Ácidos fenólicos	Ácido cinámico	?
	Quinonas	Hipericina	Unión adhesiva, inactiva enzimas, complejación de la pared celular
	Flavonoides	Crisina	Unión adhesiva.
			Complejo de pared celular.
	Flavonas	Abisinona	Inactiva enzimas e inhibe la transcriptasa inversa del VIH
	Taninos	Ellagitanina	Privación de sustrato, alteración

			de la membrana, Unión adhesiva, inactiva enzimas, unión a proteínas, complejos de iones metálicos.
	Cumarinas	Warfarina	Interacción con el ADN eucariota (Actividad Antivírico)
Terpenoides, aceites esenciales		Capsaicina	Desintegración de la membrana
Alcaloides		Berberina	Interactúa con la pared celular y / o el ADN
		Piperina	
Lectinas y polipéptidos		Aglutinina manosa específica	Forma enlaces disulfuro e interfiere con la replicación viral.
Poliacetilenos			?

Fuente: Adaptado de Ayaz et al, (2019)

2.10.5. ENSAYOS PRECLÍNICOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA IN VITRO

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana se utilizan para probar la actividad biológica de extractos o compuestos puros como los aceites esenciales, frente a diferentes microorganismos como bacterias y hongos (Balouiri, Sadiki y Ibsouda, 2017). La diversidad química de los productos naturales brinda la oportunidad de verificar la actividad antimicrobiana en este tipo de pruebas, permitiendo el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos, además de ayudar a predecir resultados terapéuticos (Méndez y Arreola, 2019). Hay dos tipos de métodos, difusión y dilución. La técnica de difusión implica la propagación del agente terapéutico sobre la placa de agar inoculada con un microorganismo específico.

En comparación, la técnica de dilución facilitó el cálculo de los valores de concentración mínima inhibitoria (MIC) de cualquier tipo de agente antimicrobiano probado en un medio de agar o caldo. MIC (expresada en $\mu\text{g} / \text{mL}$) se refiere a la concentración más baja de un extracto o compuesto activo que se requiere para inhibir el crecimiento del microorganismo. Tanto los métodos de difusión como los de dilución son técnicas donde factores como el método de extracción utilizado, el medio de cultivo o los microorganismos ensayados, pueden afectar los resultados obtenidos (Tenover, 2019).

Un microorganismo se considera susceptible a una sustancia antimicrobiana cuando se inhibe su crecimiento con una concentración mínima de un cuarto a un octavo de la dosis estándar que se encuentra en el suero cuando se administra a un ser humano (Christenson, Korgenski y Relich, 2018). Según varios estudios, el método de difusión más destacado es la difusión en disco y la difusión en pozos de agar, mientras que la dilución en caldo y agar se destaca en los métodos de dilución. Estas técnicas se describen en esta sección ya que son las pruebas in vitro más conocidas y esenciales para evaluar la actividad antimicrobiana de componentes o extractos puros (Balouiri, Sadiki y Ibnsouda, 2017).

2.10.5.1 MÉTODOS DE DIFUSIÓN

2.10.5.1.2. MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO

También conocido como "el método Kirby-Bauer", es un método eficaz para conocer el efecto antimicrobiano de un compuesto previamente aislado. Primero, en una placa de Petri con agar Muller-Hinton (MHA), se debe inocular el microorganismo a ensayar; por lo general, se utilizan nuevos subcultivos (Christenson, Korgenski y Relich, 2018). A continuación, se colocan en el agar inoculado pequeños discos de papel de filtro (de unos 6 mm de diámetro) con una concentración específica del agente antimicrobiano ensayado (extracto, productos naturales, fármacos) y se incuban durante la noche durante 16-24 h a 35°C. 37 oC (Relle et al, 2019). Si el agente es un compuesto activo, se formará una zona de

inhibición alrededor del disco, y su tamaño dependerá de la potencia antimicrobiana y la velocidad de difusión de la muestra a través del medio de agar (Figura No. 9) (Horváth et al, 2016). Esta técnica ha sido mejorada y estandarizada por diferentes institutos de todo el mundo, como el Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) en los Estados Unidos y el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) en Europa (Figura 9) (Tenover, 2019).

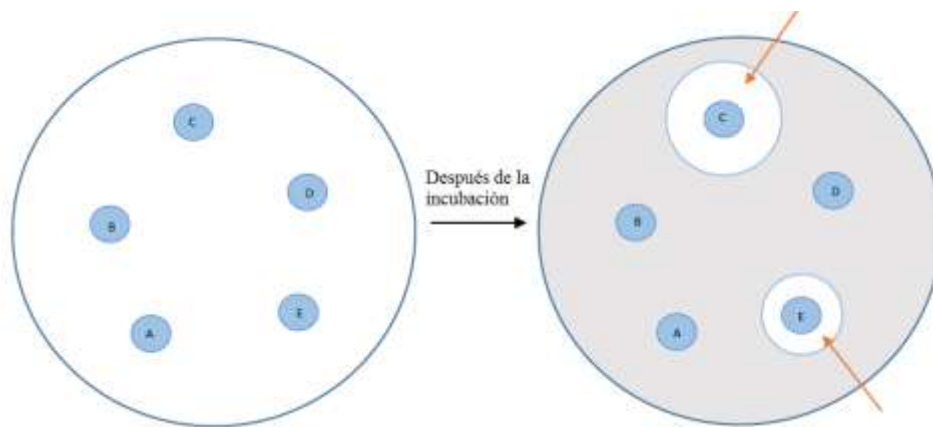


Figura 10. Diagrama que ilustra el método de difusión en disco de Kirby-Bauer utilizando 5 antibióticos diferentes (A, B, C, D, E). Las flechas indican la zona de inhibición.

2.10.5.1.3. AGAR CON MÉTODO DE DIFUSIÓN DE POZOS

Esta técnica es muy similar al método de difusión en disco. El microorganismo de interés se inocula en un medio de cultivo de agar y se realizan pequeños orificios (diámetro 6-8 mm) con una punta estéril o cualquier otro instrumento. En estos pocillos se coloca un volumen de 20 a 100 μ L del agente antimicrobiano que se va a analizar y se incuba la placa durante la noche. La presencia de halos significa que la muestra se difundió desde el orificio hacia el medio de agar, formando zonas de inhibición donde el microorganismo no creció, lo que brinda información sobre la concentración mínima inhibitoria (CMI) (Balouiri, Sadiki y Ibnsouda, 2017)

2.10.5.2. MÉTODOS DE DILUCIÓN

2.10.5.2.1. MÉTODO DE DILUCIÓN EN CALDO

Es el método más básico para evaluar la actividad biológica de un posible componente terapéutico y ha sido recomendado por el CSLI como método estándar para las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (Wiegand, Hilpert y Hancock, 2018). Este procedimiento implica el crecimiento del organismo en un medio líquido (generalmente Muller-Hinton) que contiene concentraciones del agente antimicrobiano que son generalmente diluciones dobles (1, 2, 4, 6, 16 mg / ml), en las que se introduce una cantidad conocida del microorganismo inoculado. Dependiendo de si se inocula en tubos de ensayo con un volumen de 2 ml, se denomina microdilución, y si se inocula en el volumen de placas de 96 pocillos, se denomina microdilución (Balouiri, Sadiki y Ibsouda, 2017). A continuación, los tubos o placas se incuban durante la noche en condiciones apropiadas según el microorganismo y los resultados se pueden analizar a simple vista. Si muestra una turbidez, significa que hubo crecimiento microbiano, y si no, hubo una inhibición del crecimiento por la acción del agente antimicrobiano. De esta forma, se puede conocer el valor de la CIM teniendo en cuenta la concentración mínima a la que no se observó crecimiento del microorganismo. Según el CSLI, el método de dilución en caldo está estandarizado para analizar bacterias, hongos y levaduras frente a diferentes muestras con fines terapéuticos (Relle et al, 2019)

2.10.5.2.2. MÉTODO DE DILUCIÓN EN AGAR

El método de dilución en agar consiste en preparar placas de agar (Muller-Hinton) con diferentes concentraciones del agente antimicrobiano a estudiar, generalmente en diluciones dobles, como en el método de dilución en caldo. Luego, se inocula un número definido del microorganismo (1-5 ml) en la placa de agar y se incuba durante la noche en condiciones que dependen del organismo que se eligió. Las colonias que no son capaces de crecer a las diferentes concentraciones del agente antimicrobiano mostrarán una zona de inhibición que se puede calcular para determinar la CMI (Wiegand, Hilpert y Hancock, 2018). Esta técnica es beneficiosa

para probar compuestos activos con posible actividad antibacteriana y antifúngica (Balouiri, Sadiki y Ibensouda, 2017). Cuando se ha aislado el compuesto, se llevan a cabo pruebas preclínicas in vitro para probar la eficacia del producto natural como antimicrobiano.

Una vez que se obtienen resultados positivos en estas pruebas, se realizan pruebas in vivo y luego las autoridades reguladoras como la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) autorizan el estudio del compuesto en ensayos clínicos (Siddiqui, AlOthman y Rahman, 2017). La investigación clínica se refiere a los estudios que se realizan para ver cómo el fármaco interactúa con el cuerpo humano y si funciona como debería (Akhondzadeh, 2016). Se estima que el tiempo promedio que se tarda en desarrollar un fármaco es de un mínimo de 10 años y el costo de inversión supera los 800 millones de dólares (Balunas y Kinghorn, 2005)). La idea principal del desarrollo de nuevos fármacos es que los compuestos activos descubiertos puedan llegar al mercado como agentes terapéuticos para el tratamiento de diversas enfermedades. Sin embargo, de todos los medicamentos que ingresan a los ensayos clínicos, solo el 10% se aprueba y se comercializa (Akhondzadeh, 2016).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1 Lugar de trabajo

Los experimentos se realizaron en los Laboratorios de Microbiología, Parasitología y Bioquímica de la Facultad de Salud y Bienestar de la Universidad Católica de Cuenca y en los Laboratorios de Química y Biología de la Unidad Educativa San José de Calasanz de la ciudad de Cañar. La composición química de los aceites esenciales se determinó en la Universidad Técnica Particular de Loja.

3.1.2 Obtención de material vegetal

La especie silvestre *Taraxacum officinale*, fue recolectada en los campos y bosques de la parroquia Chorocópte y de la laguna de Patococha perteneciente al cantón Cañar ($2^{\circ}29'1.32''$ S, $78^{\circ}58'42.24''$ W), desde una altitud de 2987 a 3540 msnm, con pluviosidad media de 785 a 950 mm por año, humedad relativa de 78,2% y una temperatura media de 10°C . También, en las comunidades de Absul y Romerillo del cantón El Tambo ($2^{\circ}30'29.16''$ S, $78^{\circ}55'29.64''$ W), desde una altitud de 2830 a 3430 msnm, pluviosidad media de 850 a 1000 mm por año y humedad relativa de 87,8%, y temperatura media de 11°C (MAGAP, 2021).

Se seleccionaron dos localidades distintas con el fin de evaluar si el rendimiento, la composición química y la actividad antimicrobiana varían dependiendo de la posición geográfica. Se escogieron zonas donde se tengan acceso al material vegetal requerido para esta investigación.

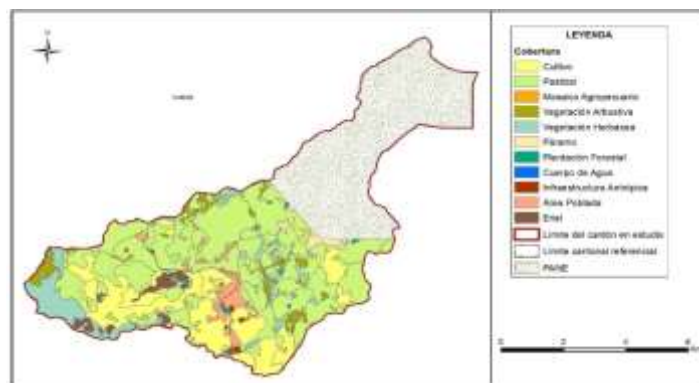
Grafico N 1 Parroquia Chorocópte y laguna de Patococha

Chorocópte





Grafico N° 2 Cantón El Tambo, comunidad de Abzul



3.1.3. Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental.

3.2. Obtención del aceite esencial

Las hojas y tallos frescos de *T. officinale* se recolectaron en todos los campos del Instituto Calasanz considerados como hierba mala y fue trasladado al Departamento de Microbiología de la Universidad Católica de Cuenca. Los materiales se esterilizaron en la superficie lavándolos con agua del grifo, desinfectados con lejía al 1% [hipoclorito de sodio (NaClO)] durante 3-5 min, enjuagado con agua destilada esterilizada (dH₂O) durante 2 min y luego secar con papel tisú de laboratorio.

Todas las partes de la planta se secaron al aire a la sombra durante dos semanas a temperatura ambiente entre 20 y 25 ° C y luego en un horno. a 40 ° C durante 15 minutos todos los días durante una semana hasta que se alcanzó la estabilidad del

peso. Las hojas secas y las raíces se pulverizaron utilizando un triturador mecánico.

3.2.1. Obtención de aceites esenciales e hidrosoles de *Taraxacum officinale* por medio de la técnica de hidrodestilación.

Para la extracción de aceites esenciales de romero por hidrodestilación en condiciones óptimas de funcionamiento, se añadió una cantidad de 100 g de romero a 800 ml de agua destilada en un matraz de 2 litros. El equipo se colocó en un calentador de globo conectado a un refrigerador para garantizar la condensación de los aceites esenciales durante 3 horas. Al final de la destilación, se observaron dos fases, una fase acuosa (agua aromática) y una fase orgánica (aceite esencial), menos densa que el agua. El aceite esencial se recogió, se secó bajo sulfato de sodio anhidro y se almacenó en viales sellados en la oscuridad, a 4 ° C, hasta su uso. Los experimentos se realizaron dos veces para cada condición.

3.3. Identificación de la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales e hidrosoles de *Taraxacum officinale*.

3.3.1. Actividad antibacterial Organismos de prueba:

Las cepas bacterianas utilizadas para la evaluación de la actividad antibacteriana fueron las especies *Staphylococci aureus*, *Eschericia coli*.y *Candida albicans*. Se obtuvieron cultivos bacterianos puros del Departamento de Microbiología de la Universidad Católica de Guayaquil. El cultivo de organismos se mantuvo en agar stock de cultivo. Se inoculó un asa de cultivo en caldo nutritivo del cultivo madre.

Preparación del disco: El extracto se diluyó usando di-metilsulfóxido (DMSO). Se añadieron aproximadamente 0,002 g del extracto a 1 ml de DMSO y esto sirvió como solución madre. De la solución madre se tomaron 0.5 mL y se colocaron en otro recipiente y se etiquetaron con 20 µg, se agregaron 0.5 mL de DMSO a la solución stock restante para hacer 1, se tomaron 0.5 mL de la solución madre y se colocaron en otra botella y se etiquetaron con 10 µg, Se agregaron nuevamente 0.5 mL de DMSO a la solución madre restante, se tomaron 0.5 mL y se colocaron en

otro recipiente y se etiquetaron con 31 5 µg.

Estandarización del inóculo: Se dispensaron pocas colonias de crecimiento microbiano de los aislados confirmados que se iban a analizar en solución salina normal estéril para coincidir con los estándares de McFarland para las pruebas de sensibilidad descritas por CLSI32.

3.3.2. Cribado in vitro de las actividades antimicrobianas de los extractos de hojas de plantas:

Se utilizó el método de ensayo de difusión en pozos de agar descrito para evaluar las actividades antibacterianas de los extractos crudos de *Taraxacum officinale* contra los microorganismos de prueba. Se vertieron aproximadamente 20 ml de agar nutritivo para bacterias en placas de Petri estériles (90 mm) y se dejaron fraguar. Se frotaron asépticamente concentraciones estandarizadas (McFarland 0,5) de cultivos durante la noche de aislados de prueba en las placas de agar y se hicieron orificios (6 mm) en las placas de agar utilizando un barrenador de corcho metálico estéril. La concentración de las diversas diluciones del extracto de la planta y el control se colocaron en cada agujero en condiciones asépticas, se mantuvieron a temperatura ambiente durante 1 hora para permitir que los agentes se difundieran en el medio de agar y se incubaron en consecuencia. A continuación, las placas de MHA se incubaron a 37 ° C durante 24 h. Se midieron y registraron los diámetros de la zona de inhibición (IZD).

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las extracciones y determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron sobre la base del peso seco (DW). Los datos se expresaron como media ± desviación estándar. Todos los análisis se realizaron con el software "Statistica v5.1". Los datos químicos fueron analizados por XLStat. Pro® versión 2014.5.03 software estadístico, los gráficos de mapas de calor fueron realizados por MeV. MultiExperiment Viewer Versión: v4.9 4 de abril de 2013.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla N°1

Resultados del analisis fitoquimico *Taraxacum Officinale* (Diente de León)

ANÁLISIS	REACTIVO	EXTRACTO
Flavonoides	<u>Shinoda</u> (vapores)	+++
	NH3	-
Fenólicos	Fecl3	+++
Taninos	Gelatina	+++
Quinolonas	<u>Koh</u> %	-
Alcaloides	<u>Draguendorf</u>	+++
	Mayer	+++
Lactonas	<u>Balget</u>	+++
Azucares reductores	<u>Eheling</u>	++
Glicósidos	<u>Eheling</u>	++
Esteroides	<u>Lieberman – bouchart</u>	+++
Saponinas	Espuma	-

Fuente: Elaboración por autor, 2021

Análisis e Interpretación

El análisis químico de las plantas es un proceso importante, ya que nos ayuda a identificar las características de los principales grupos químicos presentes en las plantas, y así tener un conocimiento general de la función y constitución química de los organismos que las causan, aprovechándolos en la ciencia y medicamento. y fines económicos propósito. .

Los ensayos fitoquímicos se presentan en la Tabla 1, identificando metabolitos secundarios como alcaloides, lactonas, flavonoides, taninos y esteroides en abundancia, mientras que los fenoles, azúcares reductores y glucósidos, se encuentran en menor cantidad y finalmente se evidencia ausencia de quinolonas y saponinas.

Análisis y discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos, si comparamos con el estudio de Alfredo Arriola, 2020, los resultados de las pruebas fitoquímicas al aceite esencial de diente de león, liberan en forma de metabolitos secundarios fenoles y taninos en la parte exuberante, produciendo antioxidantes, antibacterianos y genotoxicidad para plantas

Por otro lado, el aceite esencial de diente de león fue analizado en 2016 según Azuero et al., y los resultados mostraron que la presencia de flavonoides, quinonas y triterpenoides en grandes cantidades producía una actividad antibacteriana bastante buena contra la “vancomicina”. *Enterococcus* resistentes, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* beta-lisina y *Candida albicans*.

La actividad antibacteriana del aceite esencial de diente de león se debe a la presencia de flavonoides, que se sintetizan en las plantas con fines bacteriológicos; su actividad antibacteriana se atribuye a la formación de complejos con proteínas extracelulares solubles así como con las paredes celulares bacterianas, haciéndolas más lipofílicas y puede causar la ruptura de las membranas celulares.

Tabla N°2

Composición química del aceite esencial de *Taraxacum officinale* (Diente de león) por cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas

RT	Area%	Name	Formula	mass
30.48	1.38	urs-20-en-3-ol(3 β ,18 α ,19 α)-	C30H50O	426
30.89	2.15	6S-2,3,8,8-Tetramethyltricyclo [5,2,2,0] (1,6)] undec-2-ene	C15H24	204
31.21	0.15	2-Bromotetradecane	C14H29Br	276
33.34	1.51	Genistin	C21H20O10	432
34.21	0.46	campesterol	C28H48O	400
34.51	0.69	stigmasterol	C29H48O	412
35.09	0.97	β -Sitosterol	C29H50O	414
35.26	0.85	Euparone	C12H10O4	218
35.51	0.28	Oxazalam	C18H17ClN2O2	328
35.78	1.48	α -Amyrin	C30H50O	426
36.04	0.99	α -Amyrin	C30H50O	426
36.72	14.14	2H-1-Benzopyran-2-one,6-acetyl-7-(acetyloxy)-4-methyl-	C14H12O5	260
37.01	0.87	t-Eudesmol	C15H26O	222
37.34	34.84	Germanicol	C30H50O	426
38.40	1.51	Fenthion sulfoxide	C10H15O4PS2	294
38.66	11.49	urs-20-en-3-ol(3 β ,18 α ,19 α)-	C30H50O	426
38.85	16.21	Olean-18-en-28-olc acid,3-oxo-, methylester	C31H48O3	468

FUENTE: Datos obtenidos en el laboratorio de cromatografía de gases Universidad Técnica Particular de Loja , 2021

Análisis e interpretación

En la tabla 2 se puede observar que se identificaron 17 compuestos, que representaron el 89,97% de la masa total. Los principales componentes químicos del aceite esencial del diente de león fueron el germanicol (34,84%); Éster metílico del ácido olean-18-en-28-olc, 3-oxo- (16,21%); 2H-1-benzopirán-2-ona, 6-acetil-7-(acetiloxi) -4-metil- (14,14%); urs20-en-3-ol (3 β , 18 α , 19 α) (11,49%); 6S-2,3,8,8-tetrametiltricyclo [5,2,2,0] (1,6)] undec-2-en e (2,15%); Genistina (1,51%); α -amirina (1,48%); urs-20-en -3-ol (3 β , 18 α , 19 α) (1,38%), etc. Los resultados de la investigación fueron consistentes con el informe de la literatura. (Harfouch & Ghosh, 2021)

Análisis y discusión

Según Glicerio et al., 2015, en su estudio sobre la actividad antibacteriana de varias plantas endémicas del Ecuador, el aceite esencial de diente de león (diente de león) elucida 19 compuestos cuyos constituyentes principales fueron 30,06% fenogreco y 29,65% fenogreco de estigmasterol, lo que permitió obtener resultados atribuido a la actividad antibacteriana en el estudio.

Esta comparación nos permitió demostrar que las especies estudiadas tienen metabolitos similares y, por lo tanto, los aceites en cuestión tienen actividad antibacteriana y antifúngica. También se debe tener en cuenta que los aceites esenciales suelen tener composiciones químicas extremadamente complejas, a menudo más allá de las posibilidades analíticas de la cromatografía simple, por lo que cada especie puede variar y ciertos factores, ya sea la recolección, la región o el procedimiento, son los más importantes. esto puede afectar.

Tabla N° 3

Diámetros de halos de inhibición del Aceite es *Taraxacum officinale* (Diente de león) sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli*

N° de disco	Concentración	Diámetros de halos de inhibición (mm)			
		1° Grupo	2° Grupo	3° Grupo	Promedio
1	Ciprofloxacino 4 µg	29.12 mm	29.87 mm	30 mm	29.30 mm
2	100%	10.56 mm	10.63 mm	10.89 mm	10.60 mm

Fuente: Elaboración Propia, 2021

Análisis e Interpretación

En la tabla 3 se muestra el halo de inhibición del aceite esencial de diente de león frente a la cepa ATCC 25922 de E. coli obtenido a partir de los ensayos realizados por triplicado.

Se puede apreciar que el patrón de antibiótico ciprofloxacino 4ug obtuvo un halo de inhibición de 29,30 mm que fue el de mayor tamaño, seguido del aceite esencial 100% con un total de 10 mm.

Análisis y discusión

En una investigación presentada por Harfouch & Ghosh, 2021, se descubrió que S. aureus, S. epidermidis y E. coli son susceptibles a los agentes antimicrobianos. La actividad del aceite esencial de diente de león lo hace prometedor para el control de componentes bacterianos, ya que el carvacrol es el principal componente de esta especie.

Tabla N° 4

Susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de TARAXACUM OFFICINALE (DIENTE DE LEÓN) y el patrón ciprofloxacino frente a la cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli*

Fármacos	Diámetros de halos de inhibición (mm)		
	RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Ciprofloxacino 4 µg (manual INS)	≤15	16-20	21≥
Ciprofloxacino 4 µg	-	-	29.3 mm
Aceite al 100%	-	17mm	-

Fuente: Elaboración Propia, 2021

Análisis e Interpretación

La Tabla 4 muestra los resultados del aura inhibidora obtenidos con el fármaco estándar, en este caso ciprofloxacino y aceite de diente de león 100%, sobre la cepa ATCC de *Escherichia coli*, resultando en un diámetro de 29,3 mm y 17 mm, de acuerdo con los resultados. , Cepa ATCC de *Escherichia coli*, por lo tanto, se refiere a microorganismos con susceptibilidad moderada a los aceites esenciales y muy sensibles a los antibióticos antes mencionados.

Todos los datos preparados a partir de modelos estándar de corona inhibitoria de *E. coli* se compararon a partir de la “Guía de procedimiento para las pruebas de sensibilidad a los antibióticos mediante el método del panel de difusión, 2012”.

Tabla N°5

Descripción de la actividad antibacteriana del aceite esencial de diente de león (Tandelion) contra ATCC 25922 Escherichia coli.

Concentración	N	Media	Desy. Estanda r	Desy. - Error	95% del intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo
					Límite inferio r	Límite superio r		
Ciprofloxacino 4 µG	3	29.3033	0.5576 4	0.2744 5	27.1665	29.440 2	27.82	28.7 3
100%	3	10.510 0	0.4867 7	0.2321	8.5418	10.478 2	9.28	9.96

Fuente: Valores obtenidos del programa estadístico SPSS 21

Análisis e Interpretación

La Tabla 6 es un resultado descriptivo de "Aceite esencial de diente de león para la inhibición de halo de la cepa ATCC 25922 de Escherichia coli.

Se puede demostrar que la desviación estándar de todos los grupos tiene valores muy bajos, este parámetro es una medida de dispersión, muestra que los datos recolectados están muy cerca de su media, lo que significa que cuando se realizan tres pruebas se obtienen los resultados. . similares dentro del grupo.

Tabla N°6

Diámetro del halo inhibitor del aceite esencial de diente de león (diente de león) contra las cepas ATCC 25923 de Staphylococcus aureus.

N° de disco	Concentración	Diámetros de halos de inhibición (mm)			
		1° Grupo	2° Grupo	3° Grupo	Promedio
1	4 µg (Ciprofloxacino)	32.69 mm	34.39 mm	33.36 mm	35.48 mm
2	100%	29.52 mm	30.61 mm	30.10 mm	32.00 mm

Fuente: Elaboración Propia, 2021

Análisis e Interpretación

La Tabla 6 muestra el halo inhibitor del aceite esencial de diente de león contra las cepas de S. aureus. Obtenido de ensayos realizados por triplicado.

Como se puede observar en esta tabla, el estándar de ciprofloxacina 4ug tiene un halo de inhibición de 35,48 mm, el valor más alto medido, seguido del aceite 100% con un halo de inhibición de 32,00 mm, se puede observar que todas las concentraciones de aceite base son Muestra actividad antibacteriana significativa contra la cepa Staphylococcus aureus ATCC 25923.

Análisis e Interpretación

Según Linde et al., 2016, ha demostrado que las hojas del Taraxacum officinale recolectadas tienen una alta actividad contra la cepa ATCC "Helicobacter Pyri, Shigella Dysentae, Salmonella Typhi y Staphylococcus aureus, designó que este efecto se debe a la abundante presencia de fenol.

En este caso, es posible ver una buena actividad antibacteriana contra Staphylococcus aureus a diferencia del patrón de ciprofloxacina 4G, que puede deberse a un gran impulso, menta, plata, ja, timol y fenol actual en el componente.

Tabla N°7

Susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y el patrón ciprofloxacino frente a la cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*.

	Diámetros de halos de inhibición (mm)		
	RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Ciprofloxacino 4 µg (manual INS)	≤15	16-20	21≥
Ciprofloxacino 4 µg	-	-	35.48 mm
Aceite al 100%	-	-	32.00 mm

Fuente: Elaboración Propia, 2021

Análisis e Interpretación

En la tabla 7 se muestran los resultados de inhibición de las cepas de *S. aureus* ATCC obtenidas del fármaco estándar y del aceite en estudio por los halos de inhibición, resultando diámetros de 35,48 mm y 32,00 mm, respectivamente, para las cepas de ATCC *S. aureus* según estos resultados. Sensibilidad a los patrones de 4 µg de ciprofloxacina y aceites esenciales, todos comparados con los datos preparados a partir del patrón de halo inhibidor estándar de *S. aureus*. Difusión, 2012"

Tabla N° 8

Descriptivos para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de *Taraxacum officinale* sobre la cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*.

	N	Media	Desy. Desviación	Desy. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Ciprofloxacino 4 µG	3	34.4800	0.86633	0.50440	32.3528	36.6072	33.69	35.39
100%	3	31.0767	0.55537	0.42487	29.7219	32.4315	30.52	31.61

Fuente Valores brindados por el programa estadístico SPSS 21

Análisis e Interpretación

En la tabla 8 se muestran los resultados descriptivos de la “inhibición del halo del aceite esencial de diente de león frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 obtenidos mediante ensayos realizados por triplicado.

Se puede observar que la desviación estándar de todos los grupos tiene valores muy bajos, este parámetro es una medida de dispersión, muestra que los datos recolectados están muy cerca de su media, lo que significa que cuando se realizan tres pruebas se obtiene el resultado. Similitud dentro del grupo.

Tabla N° 9

Diámetros de halos de inhibición del Aceite esencial de *Taraxacum officinale* sobre la cepa ATCC 90028 de *Cándida albicans*

N° de disco	Concentración	Diámetros de halos de inhibición (mm)			
		1° Grupo	2° Grupo	3° Grupo	Promedio
1	25 µG (Fluconazol)	31.16 mm	30.15 mm	29.83 mm	30.38 mm
2	100%	19.01 mm	19.28 mm	17.47 mm	18.58 mm

Fuente: Elaboración Propia, 2021

Análisis e Interpretación

En la tabla 9 se muestra el “Halo inhibidor del aceite esencial de Diente de León (Dandelion) frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 90028” obtenido a partir de ensayos realizados por triplicado.

Como se puede observar en esta tabla, el estándar de fluconazol 25 µg logró un halo de inhibición de 29,05 mm, que fue el mayor, seguido de 18,58 mm de aceite esencial 100%.

Análisis y discusión

En un estudio de 2017 realizado por Rodríguez et al, pudieron demostrar actividad antifúngica in vitro y dilucidar varios metabolitos del aceite esencial de hoja de diente de león, lo que resultó en un halo de inhibición de 30 mM para 100 % de aceite y 50 % de aceite para 35 mM % de aceite. Para *Candida albicans*. Además, la actividad anterior se atribuye a la presencia de los siguientes monoterpenos: Polygon, Peppermint, Limonene y Myrcene.

Tabla N° 10

Susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y fluconazol frente a la cepa ATCC 90028 DE *Cándida albicans*

	Diámetros de halos de inhibición (mm)		
	RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Fluconazol 25 µg (manual INS)	≤14	15-18	19≥
Fluconazol 25 µg	-	-	30.38 mm
Aceite al 100%	-	18.59 mm	-

Fuente: Elaboración Propia, 2021

Análisis e Interpretación

En la tabla 10 se muestran los resultados de inhibición de las cepas de *C. albicans* ATCC con halo de inhibición obtenido del fármaco de referencia y los aceites esenciales en estudio, resultando en diámetros de 30,38 mm y 18,59 mm, respectivamente, según estos resultados, la ATCC cepas de *C. albicans* fueron susceptibles al fármaco. A diferencia del aceite esencial de diente de león, que es moderadamente sensible, todas se compararon con datos preparados a partir del patrón de halo de inhibición estándar para *Candida albicans* en el Manual de procedimientos antimicrobianos, prueba de sensibilidad por difusión en disco, 2012.

Tabla N° 11

Descriptivos para la actividad anti fúngica del Aceite esencial de *Taraxacum officinale* sobre la cepa ATCC 90028 de *Cándida albicans*

	N	Media	Desy. Estandar	Desy. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Fluconazol 25 µG	3	30.0467	0.19771	0.12837	27.5804	28.5130	29.83	28.16
100%	3	18.5867	0.98644	0.57375	14.1611	21.0123	17.47	17.28

Fuente Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

Análisis e Interpretación

La Tabla N° 11 muestra los resultados descriptivos de la inhibición del halo del aceite esencial de diente de león frente a las cepas de *Candida albicans* ATCC 90028 obtenidos a partir de ensayos realizados por triplicado.

Se puede observar que la desviación estándar de todos los grupos tiene valores muy bajos, este parámetro es una medida de dispersión, muestra que los datos recolectados están muy cerca de su media, lo que significa que cuando se realizan tres pruebas se obtiene el resultado. similares dentro del grupo.

CAPÍTULO V

5.1 CONCLUSIONES

- Las pruebas fitoquímicas aplicados al aceite esencial de *Taraxacum officinale*, se logró identificar metabolitos secundarios como alcaloides, lactonas, flavonoides, taninos y esteroides en abundancia, por otro lado, los fenoles, azúcares reductores y glucósidos, se encontraban en menor cantidad y finalmente se evidencia ausencia de quinolonas y saponinas.

- El análisis CG-SM mostró la presencia de 17 compuestos, que representaron el 89,97% de la masa total. Los principales componentes químicos del aceite esencial del diente de león fueron el germanicol (34,84%); Éster metílico del ácido olean-18-en-28-olc, 3-oxo- (16,21%); 2H-1-benzopiran-2-ona, 6-acetil-7-(acetiloxi) -4-metil- (14,14%); urs20-en-3-ol (3 β , 18 α , 19 α) (11,49%); 6S-2,3,8,8-tetrametiltricyclo [5,2,2,0] (1,6)] undec-2-en e (2,15%); Genistina (1,51%); α -amirina (1,48%); urs-20-en -3-ol (3 β , 18 α , 19 α) (1,38%). Estas últimas Estructuras químicas hacen que lo cataloguen a este aceite esencial como posible agente antimicrobiano.

- La evaluación de la actividad antimicrobiana desarrollada por el método de difusión en medio sólido, la MIC y la CMM mostraron que las cepas bacterianas como *Staphylococcus aureus* y las levaduras como *Cándida Albicans* eran sensibles a la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *taraxacum officinale*, y actividad intermedia con bacterias gram negativas como la *Escherichia coli*.

5.2. RECOMENDACIONES

El uso de diversos compuestos vegetales naturales como agentes antimicrobianos es un enfoque interesante para descubrir productos bioactivos utilizados para aliviar enfermedades, en particular, el resfriado, el dolor de garganta y la gripe. Sin embargo, debido al hecho de que las plantas son muy ricas en una variedad de metabolitos secundarios, como flavonoides, alcaloides, taninos y terpenoides,

Sin embargo, los resultados demuestran que el extracto de raíz de etanol de *T. officinale* se podría invertir para aprovechar sus compuestos antimicrobianos, especialmente como cofactor para el tratamiento de infecciones bacterianas resistentes a los antibióticos. Esto ayudaría a reemplazar los medicamentos a los que las bacterias han desarrollado resistencia al fomentar las medicinas tradicionales.

Las perspectivas futuras de este estudio deberían respaldar la prueba de otras cepas bacterianas resistentes a múltiples fármacos, como los enterococos resistentes a la vancomicina y las bacterias gramnegativas productoras de β -lactamasa de espectro extendido (BLEE).

Además, posiblemente también se pueda extender a las pruebas antivirales, especialmente contra virus como el virus sars2-cov-2 que causa COVID-19. Además, el estudio también se puede realizar para la prueba de citotoxicidad contra las líneas de células animales (in vitro) y en vivo en animales modelo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfredo Arriola, A. A. (2020). Instituto de Medicina Tropical, Departamento de Pediatría. Asunción - Paraguay 2. Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas. Asunción - Paraguay 5. *Rev. Inst. Med. Trop*, 15(2), 5–12.
- Azuero, A., Jaramillo, C., San Martin, D., & D'Armas, H. (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador / Analysis of antimicrobial effect of twelve medicinal plants of ancient use in Ecuador. *Ciencia Unemi*, 9(20), 11. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp11-18p>
- Ceron, T. G., Flores Pimentel, M., & Gomez Galarza, V. (2019). Uso de las plantas medicinales del Distrito de Quero, Jauja, Junin Region, Peru. *Ecologia Aplicada*, 18(1), 11–20. <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v18n1/a02v18n1.pdf>
- Díaz-de León, C. I., González-Álvarez, M., Guzmán-Lucio, M. A., Núñez-Guzmán, G. R., & Moreno-Limón, S. (2020). El orégano de los géneros *Lippia* (verbenaceae) y *Poliomintha* (lamiaceae) en el estado de Nuevo León, México. *Polibotánica*, 0(50), 209–243. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.50.1>
- Glicerio, L. M., Osorio, M. del R., & Martínez Useche, S. R. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. Comparison of two methods for extraction of essential oil from *Citrus sinensis* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4), 742–750. <http://scielo.sld.cu>
- Harfouch, R. M., & Ghosh, S. (2021). *CPQ Medicine (2021) 11 : 5 Antibacterial Activities of Widely Spread Taraxacum Officinale Dandelion in Al-Qadmos , Syria as Potential Therapeutic Strategy for Antibiotic Resistant Bacteria. March.*
- Javier Pineda Murillo, Cortés Figueroa Arturo Ángel, Uribarren Berrueta Teresita del Niño Jesús, C. O. L. R. (2018). Candidosis vaginal. *Rev. Méd. Risaralda 2018;SciELO Colombia*, 23 (1)(1), 38–44. <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:EekcX1JKfiEJ:www.scielo.org.co/pdf/rmri/v23n1/v23n1a09.pdf+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=ec&client=firefox-b-d>
- Lazo, V., Hernández, G., & Méndez, R. (2018). Systemic candidiasis in critical patients : risk predictors. *Horiz Med*, 18(1), 75–85. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2018000100011
- Liang, Y., Duan, H., Zhang, P., Han, H., Gao, F., Li, Y., & Xu, Z. (2020). Extraction and isolation of the active ingredients of dandelion and its antifungal activity against *Candida albicans*. *Molecular Medicine Reports*, 21(1), 229–239. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10797>
- Linde, G. A., Colauto, N. B., Albertó, E., & Gazim, Z. C. (2016). Quimiotipos, extração, composição e uso do óleo essencial de *Lippia alba*. *Revista Brasileira*

- de *Plantas Medicinails*, 18(1), 191–200. https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_037
- Mir M, A., & SS, S. (2016). Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Taraxacum officinale*. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 8(3), 210–215. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000287>
- Navarrete, C., Gil, J., Durango, D., & Garcia, C. (2016). Extracción y caracterización del aceite esencial de manarina obtenido de residuos agroindustriales. *DYNA (Colombia)*, 77(162), 85–92.
- Nolazco Cama, D., Villanueva-Quejia, E., Hatta Sakoda, B., & Tellez Monzon, L. (2020). Extracción y caracterización química del aceite esencial de Eucalipto obtenido por microondas y ultrasonido. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 22(3), 274–284. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.661>
- Otero Rey, E., Peñamaría Mallón, M., Rodríguez Piñón, M., Martín Biedma, B., & Blanco Carrión, A. (2015). Candidiasis oral en el paciente mayor. *Avances En Odontoestomatología*, 31(3), 135–148. <https://doi.org/10.4321/s0213-12852015000300004>
- Parham, S., Kharazi, A. Z., Bakhsheshi-Rad, H. R., Nur, H., Ismail, A. F., Sharif, S., Ramakrishna, S., & Berto, F. (2020). Antioxidant, antimicrobial and antiviral properties of herbal materials. *Antioxidants*, 9(12), 1–36. <https://doi.org/10.3390/antiox9121309>
- Phil Scholar, M., Iqbal, Z., Professor, A., Afzal, M., Afzal, A., Ur Rahman, I., Shad, S., Ahmed, B., Scholar, Mp., Anjum, N., Qureshi, K., Bibi, A., & shad, S. (2014). In vitro antibacterial study of *Taraxacum officinale* leaves extracts against different bacterial pathogenic strains. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(2), 15–17.
- Qiao, H., & Sun, T. J. J. (2014). Antibacterial activity of ethanol extract and fractions obtained from *Taraxacum mongolicum* flower. *Research Journal of Pharmacognosy*, 1(July), 35–39. http://www.rjpharmacognosy.ir/article_6336_1.html
- Reyes, D. (2019). Candidiasis de la mucosa bucal. Presentación de un caso Moniliasisorbuccal candidiasis of themucousbuccal. A case report Delys Reyes Fundora,. *Invest. Medicoquir*, 11(3).
- Rodríguez, C. N., Zarate, A. G., & Sánchez, L. C. (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *Nova*, 15(27), 119–129. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v15n27/1794-2470-nova-15-27-00119.pdf>
- Ruano, P., Delgado, L. L., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., Rigau, J., Diaz, D., & Masuelli, M. (2016). We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %. *Intech, tourism*, 13. <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>

Sangeetha, S., & Ezhilarasan, D. (2016). In vitro antimicrobial activity of dandelion against orodental pathogens. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(10), 1598–1600.

Waizel Bucay, J., & Waizel Haiat, S. (2019). Plants with bitter principles and its medicinal use. A sweet future? *Anales de Otorrinolaringología Mexicana*, 64(4), 202–228. <https://www.medigraphic.com/pdfs/anaotomex/aom-2019/aom194f.pdf>

ANEXOS



Hidrodestilación adaptado a Clevenger con mechero de bunsen, para obtener el aceite esencial de la *Taraxacum officinale*



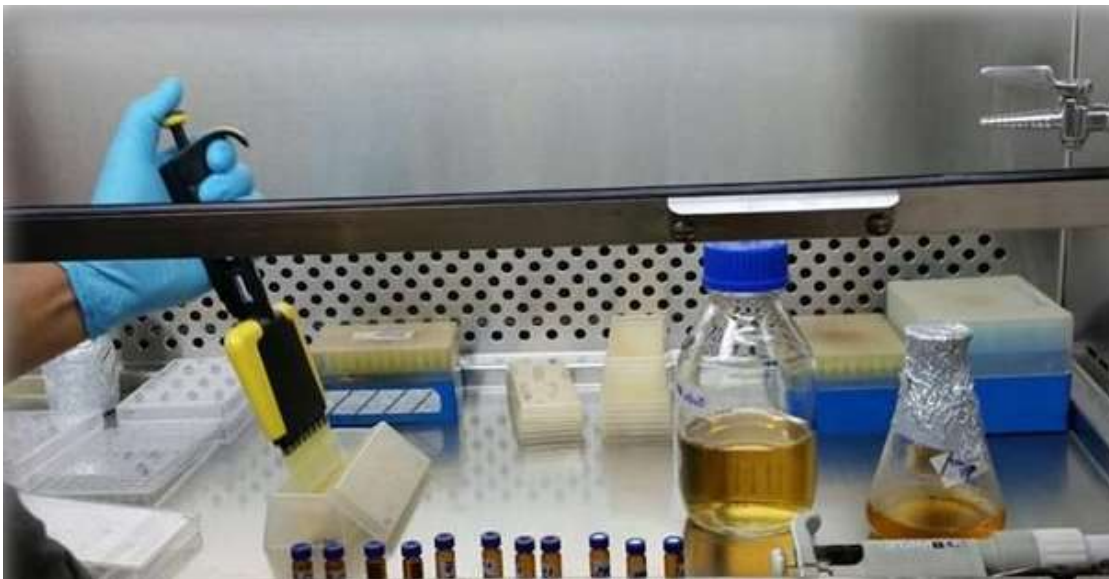
Proceso de hidrotresilación destilación por arrastre de vapor de aceite esencial de la *Taraxacum officinale*



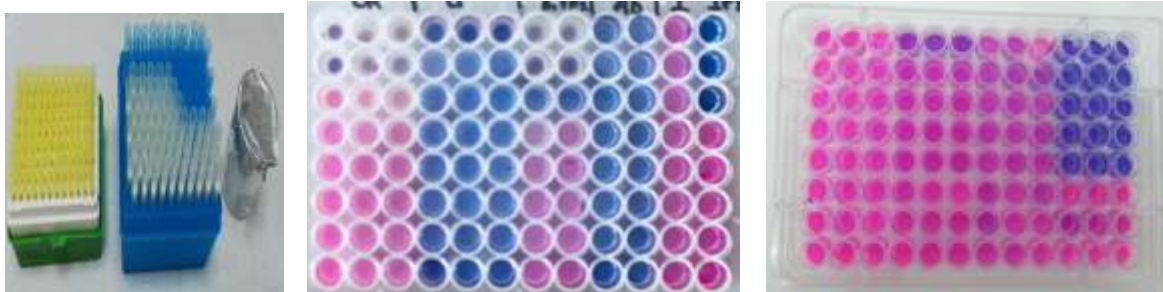
Envases utilizados para recolectar el destilado aceite esencial-agua y el aceite esencial puro, antes y después de purificarlo y deshidratarlo con Sulfato de Sodio.



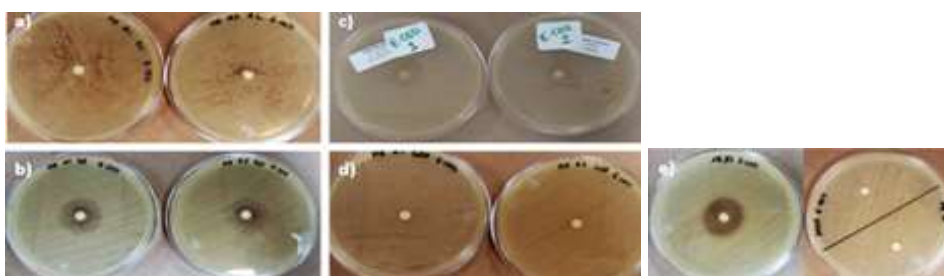
Figura 18 Equipos usados para determinar la densidad y el peso del aceite esencial extraído



Cabina de aislamiento para analisis microbiológico



Kit de materiales y equipos, y resultados de las pruebas para determinar el IMC del aceite esencia de la *Taraxacum officinale*



Cultivos con halos de inhibición que indican la sensibilidad de los microorganismos analizados ante del aceite esencial de *Taraxacum officinale*