Evaluación de la actividad antibacteriana de las fracciones hexánica, diclorometánica, clorofórmica y etanólica de las hojas de *Faramea occidentalis* (L.) A. Rich.

Mijail Mijares Bullaín Galardis[1], Yosvel Viera Tamayo[1], Yanelis Avilés Tamayo[2], Yans Guardia Puebla[3]

1 Centro de Estudios de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Granma, Km 17½ carretera a Manzanillo, Peralejo, Bayamo, Granma, Cuba, CP 85100.
2 Departamento de Biología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Granma.
3 Departamento de Ciencias Técnicas, Facultad de Ciencias Técnicas, Universidad de Granma.

Recibido:

Recibido en: 20/10/2015

| Aceptado:
Aceptado en: 04/12/2015

Contacto: Mijail Mijares Bullaín Galardis - mbullaing@udg.co.cu

Resumen

Faramea occidentalis (L.) es un arbusto de la familia *Rubiaceae* muy común en la geografía cubana y se emplea por la población como antiséptico. En las fuentes consultadas no existen reportes sobre estudios de la actividad antibacteriana de los extractos de esta planta. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antibacteriana in vitro de las fracciones obtenidas de las hojas de *Faramea occidentalis.*

La planta se colectó en la localidad de Cienaguilla, municipio Campechuela, provincia Granma, Cuba y fue identificada por especialistas del Jardín Botánico Cupaynicú. La tintura al 20 % se obtuvo mediante la extracción asistida por ultrasonido y se concentró utilizando un rotoevaporador. El concentrado etanólico se resuspendió en etanol y se realizó una extracción líquido-líquido con n-hexano, diclorometano y cloroformo

La actividad antibacteriana de los extractos se evaluó, mediante el método de difusión en agar por diseminación superficial en disco de Bauer-Kirby y la concentración inhibitoria mínima del crecimiento bacteriano mediante el método de microdilución en caldo.

Las fracciones de *Faramea occidentalis* mostraron actividad antibacteriana frente a *Salmonella sp* y *Salmonella typhimurium* a 1240 µg/disco; mientras que, los valores de la concentración inhibitoria mínima estuvieron entre los 512 y 256 µg/mL

Los extractos y fracciones de las hojas de *Faramea occidentalis* presentan una aplicación potencial como antibacteriano.

Palabras clave: *Faramea occidentalis*, actividad antiséptica, actividad antibacteriana, concentración inhibitoria mínima.

Evaluation of antibacterial activity of hexanic, dichloromethanic, chloroformic and ethanolic fractions starting from the leaves of *Faramea occidentalis* (L.) A. Rich.

Summary

Faramea occidentalis (L.) is a shrub of the *Rubiaceae* family very common in the Cuban geography and is used by the population as antiseptic. In the consulted sources, reports of the antibacterial activity for the extracts of this plant do not exist. The objective of this research was to evaluate in vitro the antibacterial activity of the fractions obtained starting from leaves of *Faramea occidentalis*.

The plant was collected in the Cienaguilla locality, Campechuela municipality, Granma province, Cuba and was identified by specialists of Cupaynicú Botanical Garden. The dye at 20 % was obtained through the ultrasonic assisted extraction, and was concentrated using a rotary evaporator. The ethanolic concentrate obtained was resuspended in ethanol and was carried out an extraction liquid-liquid with n-hexanes, dichloromethane and chloroform.

The antibacterial activity of the extracts was evaluated through the agar diffusion method by superficial dissemination in disk of Bauer-Kirby and the minimum inhibitory concentration of the bacterial growth by means the broth microdilution assay.

The *Faramea occidentalis* fractions showed antibacterial activity against Salmonella sp and Salmonella typhimurium at 1240 µg/disc; while, the values of the minimum inhibitory concentration were among 512 and 256 µg/mL.

The extracts and fractions of *Faramea occidentalis* leaves have a potential application as antibacterial.

Keywords: *Faramea occidentalis*, antiseptic activity, antibacterial activity, minimum inhibitory concentration.

Introducción

En la actualidad, las investigaciones dirigidas al desarrollo de medicamentos más seguros y efectivos en el tratamiento de enfermedades, encuentran en la medicina natural una importante fuente para las indagaciones en este campo, dando lugar a una tendencia a preferir los productos farmacéuticos naturales, en especial los herbolarios o fitofármacos, por encima de los obtenidos por vía sintética[1].

Las investigaciones sobre plantas medicinales han permitido demostrar su nivel de efectividad en el tratamiento de enfermedades o entidades nosológicas con diversos factores etiológicos, dentro de los que se encuentran agentes biológicos patógenos causantes de procesos infecciosos[2]. Sin embargo resulta importante tener en cuenta el conocimiento empírico acumulado por la población en cuanto al manejo y uso de estas especies de plantas, y que han favorecido la conservación de estos importantes recursos filogenéticos[3].

A pesar de la amplia disponibilidad de antibióticos de usos clínicos y análogos semisintéticos se ha producido un incremento gradual de la resistencia de los microorganismos a los antibióticos y a la aparición de nuevas infecciones. Esto demuestra la necesidad de ampliar el arsenal terapéutico mediante la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos que pueden ser obtenidos a partir de fuentes naturales[4].

La flora silvestre cubana ha sido poco estudiada, tanto desde el punto de vista químico como biológico[5-6], lo que ha limitado la explotación y el aprovechamiento racional de este recurso natural ampliamente distribuido en todo el archipiélago, sobre todo, en zonas donde las especies endémicas alcanzan un porcentaje elevado[7].

Un ejemplo de ello lo constituye el género *Faramea* el cual se encuentra representado por más de 200 especies distribuidas desde México hasta el sur del Brasil[8].

Faramea occidentalis es una de las especies perteneciente a este género, es un arbusto indígena muy común en toda la Cuba, abunda en los bosques húmedos, particularmente en los terrenos altos. Se encuentra también en Jamaica, Santo Domingo, Haití, Trinidad y en la América tropical continental. Se conoce comúnmente como café cimarrón, cafetillo, galán de noche, jujano, cafeillo, palo de toro, hueso, huesito y cafecillo. En la región oriental de Cuba se emplea como antiséptico, astringente y galactógeno[9-10].

En estudios etnobotánicos realizados no se han encontrado reportes sobre el empleo de *Faramea occidentalis* como antiséptico, por lo que se infiere que los extractos de las hojas de esta planta han sido poco empleados como terapia antibacteriana, lo que sugiere que las bacterias no han desarrollado mecanismos de defensa en su contra, entonces, es posible que estos puedan inhibir el crecimiento de diferentes cepas bacterianas.

Materiales y métodos

Selección e identificación del material vegetal

El material vegetal se colectó en la localidad de Cienaguilla, municipio Campechuela, provincia Granma, Cuba a las 7:30 am a una temperatura de 23,3 ºC con una humedad relativa del 92 %. Órganos y fotografías de la planta se trasladaron al Jardín Botánico Cupaynicú, municipio Guisa, Provincia Granma, Cuba, donde el asesor e investigador de dicha institución Dr. C. Luis Catasús Guerra realizó la identificación y herborización de la planta donde quedó registrada con el número 2340 del herbario Catasús[11].

Las hojas se clasificaron y se eliminaron las que no reunían las condiciones para realizar el estudio, según la NRSP 309 del MINSAP[12], luego se desinfectaron mediante el lavado con

agua potable y la inmersión durante 10 min en una disolución de hipoclorito de sodio al 2 %[13]. El material vegetal se secó en bandejas de cartón a la sombra a temperatura ambiente, removiéndose tres veces al día durante una semana, su secado se completó en una estufa (MLW modelo WSU 400, Alemania) con circulación de aire, a 40 ºC durante 3 horas. Se pulverizó en un tamiz circular (TGL 0-4188 WEB, Alemania) hasta obtener un tamaño de partícula de un diámetro menor que 2 mm.

Obtención de la tintura al 20 % de las hojas de Faramea occidentalis

La tintura al 20 % se obtuvo de los polvos (tamaño de partícula inferior a 2 mm de diámetro) de hojas, utilizando como menstruo una solución hidroetanólica al 70 % (v/v). Se emplearon 100 g de la droga cruda para obtener 500 mL de tintura al 20 %. El método de extracción aplicado fue la extracción asistida por ultrasonido (Ultrasonic Cleaner SB-3200 DTD, China) a una temperatura de 40 °C, frecuencia de 40 KHz durante dos horas[14-15].

El extracto obtenido se filtró a presión reducida y se almacenó en frascos de color ámbar dejándolo en reposo durante 3 días a una temperatura que osciló entre 4 y 8 °C. Transcurrido el tiempo de reposo se observó la formación de un precipitado, por lo que se efectuó una segunda filtración.

Obtención del extracto seco de las hojas de Faramea occidentalis

El extracto seco de las hojas de *Faramea occidentalis* se obtuvo a partir de 500 mL de la tintura al 20 %, por rotoevaporación a 40 °C y una velocidad de rotación de 60 rpm. Para ello se utilizó un rotoevaporador (IKA, RV05 Basic, Alemania) conectado a un baño con termostato (IKA, HB4, Werke, Alemania), recirculador de agua para condensación (MLW, Alemania) y una bomba de vacío (VEM KMR 53 K4 FTH, Alemania).

Obtención de las fracciones a partir del extracto seco de las hojas de Faramea occidentalis

Se resuspendieron 2 g del extracto seco en 45 mL de etanol al 70 %. Se realizó una extracción líquido-líquido en un embudo separador (POBEL de 250 mL, España) con 15 mL de n-hexano, se agitó durante tres minutos y se dejó en reposo hasta la separación de las fases. La fase hexánica se colectó y se repitió el procedimiento dos veces más. Al residuo se le realizó una segunda extracción con el empleo del diclorometano y una tercera con cloroformo, aplicándose en todos los casos el mismo procedimiento. Luego de la extracción con cloroformo se colectó el residuo correspondiente a la fracción etanólica, para obtener un total de cuatro fracciones con diferentes grados de polaridad a una temperatura que osciló entre los 25 y 30 °C. Todas las fracciones fueron concentradas hasta sequedad, mediante el procedimiento descrito para la obtención del extracto seco a partir de la tintura.

Evaluación de la actividad antibacteriana de las fracciones de las hojas de Faramea occidentalis

Se utilizó el método de difusión en agar por diseminación superficial en disco de Bauer-Kirby[16] adoptado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, antes NCCLS)[17], con algunas modificaciones.

Los inóculos se prepararon a partir de colonias crecidas durante 24 h y se ajustaron con el patrón 0,5 de McFarland. Se realizó la siembra sobre el agar Mueller-Hinton (BioCen, Cuba) con hisopos estériles. De cada uno de los extractos se elaboró una disolución stock a 248 mg/mL, utilizando dimetilsulfóxido (DMSO) como disolvente. Se adicionaron 5 µL de esta disolución a discos de papel de filtro (Whatman, Inglaterra) de 6 mm de diámetro previamente esterilizados, quedando aproximadamente 1240 µg/disco. Finalmente, las placas de Petri se incubaron a 37 ± 0,1 ºC durante 24 horas en una incubadora (Boxun BG-80, China). Las zonasde inhibición del crecimiento del microorganismo alrededor de los discos se midieron en milímetros.

Cada tratamiento tuvo tres repeticiones. Se utilizaron como controles negativos, discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro cargados con 5 ?L de DMSO; y como controles positivos, discos de los antibióticos comerciales Gentamicina, Ciprofloxacina y Amoxicilina de 30, 5 y 30 µg/disco, respectivamente (Sensi–DiscTM, Francia). Los resultados se declararon como el promedio del diámetro de los halos de inhibición para cada tratamiento.

Cepas Bacterianas evaluadas

Se utilizó una batería constituida por tres cepas de referencia internacional, depositadas en el *American Type Culture Collection* (ATCC) y una cepa salvaje aislada en el Centro de Higiene y Epidemiología del municipio Manzanillo, provincia Granma.

- *Salmonella sp.*(salvaje)
- *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028)
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 37853)
- *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* (ATCC 6633)

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM)

Para la determinación de la concentración inhibitoria mínima se empleó el método de microdilución en caldo[18].

Se elaboraron tres soluciones stock a partir de 82 mg de cada una de las fracciones que se disolvieron cada uno en 2 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) para una concentración final de 41 mg/mL. Se obtuvieron tres soluciones de trabajo mediante una dilución 1/5 para una concentración final de 8,2 mg/mL.

Se añadieron 100 µL de caldo Mueller-Hinton (BioCen, Cuba) en los pocillos de una placa de cultivo de 96 pocillos (Corning). Luego se mezclaron en la primera hilera de pocillos 100 µL de la solución de trabajo y se realizaron diluciones seriadas dobles hasta la hilera 10. Se adicionaron 100 µL del inóculo en todos los pocillos excepto en la última hilera, que constituyó el control de esterilidad. Finalmente, se obtuvo un rango de concentración entre 2050 - 4

(µg/mL) para las fracciones, así como un control de crecimiento y un control de esterilidad sin la fracción.

Las placas de cultivos se incubaron a 37 ± 0,1°C por un período de 24 horas en una incubadora (Boxun BG-80, China). La concentración inhibitoria mínima se determinó como la concentración mínima del extracto que inhibió completamente el crecimiento bacteriano a simple vista. El ensayo se realizó por triplicado para cada una de las bacterias.

Resultados

Los resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana de las fracciones de las hojas de *Faramea occidentalis* frente a las cuatro cepas bacterianas (Tabla 1) se obtuvieron a 1240 µg/disco.

Halos de inhibición (mm) frente a cepas bacterianas				
Sustancias a evaluar	*Salmonella sp.* (salvaje) Gram-negativa	*Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) Gram-negativa	*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 37853) Gram-negativa	*Bacillus subtilis subsp. spizizenii* (ATCC 6633 Gram-positiva
Fracción hexánica	-	-	-	
Fracción diclorometánica	7,3 ± 0,6	8,0 ± 1,0	-	-
Fracción clorofórmica	7,0 ± 1,0	-	-	-
Fracción etanólica	-	-	-	-
Gentamicina	18,7 ± 0,6	19,7 ± 0,6	18,7 ± 0,6	-
Ciprofloxacina	16,0 ± 1,0	17,3 ± 0,6	17,3 ± 0,6	16,3 ± 0,6
Amoxicilina	17,0 ± 1,0	18,7 ± 0,6	ND	18,3 ± 0,0
DMSO	-	-	-	-

Tabla 1**:** *Resultados de la evaluación de la actividad bacteriana de los extractos de las hojas de Faramea occidentalis.* ***ND****: No determinado;* ***(-)****: Resultado negativo en la inhibición del crecimiento bacteriano;* ***DMSO****: dimetilsulfóxido.*

El extracto seco provocó inhibición del crecimiento bacteriano en un diámetro de 8 mm para *Salmonella sp* y *Salmonella typhimurium*, se observó también un halo de inhibición de 9 mm para *Bacillus subtilis subsp. spizizenii*, mientras que los resultados fueron negativos en la inhibición del crecimiento bacteriano para *Pseudomonas aeruginosa* [19].

La fracción hexánica no mostró actividad antibacteriana, mientras que la fracción diclorometánica, inhibió el crecimiento de *Salmonella sp, Salmonella typhimurium* en un diámetro de 7 y 8 mm respectivamente, pero mostró resultados negativos ante *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis subsp. spizizenii*. La fracción clorofórmica sólo manifestó actividad

antibacteriana frente a *Salmonella sp* al observarse un halo de inhibición del crecimiento de 7 mm y la fracción etanólica no presentó actividad ante las cepas evaluadas.

Las cepas empleadas manifestaron sensibilidad ante los antibióticos comerciales empleados como control positivo, excepto *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* que mostró resistencia a la Gentamicina.

El control negativo (DMSO) no provocó inhibición del crecimiento bacteriano en las cepas evaluadas, por lo que se infiere que el resultado obtenido no estuvo determinado por el solvente empleado en la elaboración de las cinco soluciones de trabajo a partir de los extractos obtenidos de hojas de *Faramea occidentalis*.

Los resultados obtenidos muestran que los extractos obtenidos a partir de la tintura al 20 % de las hojas de *Faramea occidentalis* presentan propiedades antibacterianas frente a Gram-positivas y Gram-negativas.

Los resultados obtenidos en la determinación de la concentración inhibitoria mínima (Tabla 2) para las cepas que resultaron sensibles a las fracciones evaluadas corroboraron lo observado en la evaluación preliminar de la actividad antibacteriana.

Concentración inhibitoria mínima (µg/mL) frente a cepas bacterianas				
Sustancias a evaluar	*Salmonella sp.* (salvaje) Gram-negativa	*Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) Gram-negativa	*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 37853) Gram-negativa	*Bacillus subtilis subsp. spizizenii* (ATCC 6633 Gram-positiva
Fracción diclorometánica	512	256	-	
Fracción clorofórmica	256	-	-	-

Tabla 2: *Resultados de la determinación de la concentración inhibitoria mínima de las fracciones las hojas de Faramea occidentalis.* ***(-)****: Resultado negativo en la inhibición del crecimiento bacteriano.*

Trabajos previos demostraron que el extracto seco inhibió el crecimiento de *Salmonella sp, Salmonella typhimurium* y *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* a una concentración de 2050 µg/mL.[19]. La fracción diclorometánica mostró una concentración inhibitoria mínima de 512 µg/mL para *Salmonella sp* y 256 µg/mL para *Salmonella typhimurium*, mientras que la fracción clorofórmica inhibió el crecimiento de *Salmonella sp* a 256 µg/mL

Discusión

En las fuentes consultadas no existen reportes de referencia sobre la actividad antibacteriana de los extractos y fracciones de *Faramea occidentalis*, sin embargo, varios autores han evaluado la actividad antibacteriana de otras especies que al igual que la planta objeto de estudio, también pertenecen a la familia *Rubiaceae*.

De acuerdo con los reportes de Addy y col (2013)[20] el extracto seco de las hojas de Morinda lucida a una concentración de 10 mg/mL mostró actividad antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* pero no inhibió el crecimiento de *Salmonella typhimurium*. Estos resultados entran en contradicción con el comportamiento del extracto seco de las hojas de *Faramea occidentalis* pues este a una concentración de 2050 µg/mL no mostró actividad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa*, pero inhibió el crecimiento bacteriano de *Salmonella typhimurium* [19].

Según Niño y col (2012)[21] los extractos hexánicos de hojas de *Ladenbergia macrocarpa* y *Palicourea acetosoides*, representantes de la familia *Rubiaceae*, no inhibieron el crecimiento de *Bacillus subtilis*, pero mostraron una concentración inhibitoria mínima de 0,4 mg/mL frente a *Pseudomonas aeruginosa*. Los extractos diclorometánicos de estas plantas no manifestaron actividad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis*.

Parte de estos resultados también entran en contradicción con lo observado en *Faramea occidentalis* pues su fracción hexánica no inhibió el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*, pero coinciden en que la fracción diclorometánica tampoco mostró actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis* y en que la fracción hexánica tampoco inhibió el crecimiento de *Bacillus subtilis*.

Borroto y col (2014)[22] reportaron que el extracto diclorometánico de las raíces de Morinda royoc (L.) a 1 mg/mL no inhibió el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*, lo cual se corresponde con el comportamiento de la fracción diclorometánica de las hojas de *Faramea occidentalis*.

La ausencia de actividad antibacteriana de la fracción etanólica de *Faramea occidentalis* se corresponde con lo reportado por Sanabria y col (1998)[4] para el extracto etanólico de *Arcytophyllum nitidum*, el cual no mostró actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis*. Al mismo tiempo entran en contradicción con lo reportado por los mismos autores para el extracto etanólico de *Hamelia patens* que inhibió el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis* a una concentración de 3 mg/mL.

Podrían ser varios los factores que han influido los resultados obtenidos en esta investigación y los obtenidos por los autores mencionados, por sólo citar algunos de ellos, podríamos referirnos a que pertenecen a distintos géneros dentro de la familia *Rubiaceae*, por lo que podrían existir diferencias en cuanto a la presencia o concentraciones de los metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana; el método de extracción empleado, significando que para *Faramea occidentalis* se utilizó el método de extracción asistida por ultrasonido; la parte de la planta a partir de la cual se obtuvo el extracto y el método empleado para determinar la actividad antibacteriana.

Al realizar las extracciones sucesivas, la concentración inhibitoria mínima disminuyó desde 2050 a 256 µg/mL, esto sugiere un aumento de la pureza y la concentración del principio activo responsable de la inhibición del crecimiento bacteriano, sin embargo, no se produjo en las fracciones un incremento de su espectro antibacteriano, por lo que la inhibición del crecimiento para tres cepas bacterianas (Gram-negativas y Gram-positivas) bajo la acción del extracto

seco, sugieren la existencia de algún tipo de sinergia entre algunos metabolitos que lo constituyen[19].

La inhibición del crecimiento bacteriano por las fracciones diclorometánica y clorofórmica sugiere que los principios activos con actividad antibacteriana presentes en las hojas de la planta son solubles en diclorometano y cloroformo, por lo que las sustancias responsables de la actividad biológica que se evalúa podrían presentar propiedades apolares intermedias, ya que no fueron extraídas con n-hexano, por lo que se infiere que el diclorometano y el cloroformo fueron los solventes más eficientes en la extracción de los principios activos responsables de la actividad antibacteriana.

Los resultados evidencian la actividad antibacteriana in vitro del extracto seco obtenido a partir de la tintura al 20 % de las hojas de *Faramea occidentalis* [19] y de las fracciones diclorometánica y clorofórmica obtenidas a partir de este, lo que demuestra que los extractos y fracciones de las hojas de *Faramea occidentalis* presentan una aplicación potencial como antibacteriano, así como la importancia de las plantas como fuente de nuevos agentes antibacterianos.

Referencias:

1. **Conferencia de las Naciones Unidas sobre Comercio y Desarrollo** (2008) Systems and National Experiences for Protecting Traditional Knowledge, Innovations and Practices *Background Note by the UNCTAD Secretariat*. Ginebra (documento de referencia TD /B/COM.1/EM.13/2).

2. **Menéndez R.A** (2000) Acerca de las pautas de la OMS en la investigación para la evaluación de la seguridad y eficacia de los medicamentos herbarios *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1: 51-55.

3. http://www.herbotecnia.com.ar/c-public-001.html, accesado 4/11/2013

4. **Sanabria G.A, Mendoza R.A, Moreno A.L** (1998) Actividad antimicrobiana in vitro de angiospermas colombianas *Revista colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 27: 47-51.

5. **Peña A, Torres E** (2006) Monografía de Productos Naturales *Universidad de Granma*.

6. **Soler B, Porto M** (1997) Experiencia cubana en el estudio y aplicación de medicamentos herbarios *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1: 30-34.

7. **Berazaín R** (2005) Lista roja de la flora vascular cubana *Jardín Botánico Atlántico de Gijón*.

8. http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=112647, accesado 6/11/2013

9. http://www.ecured.cu/index.php/Nabaco, accesado 2/10/2013

10. **Roig J.T** (1988) Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos *T.2. M-Z. La Habana*: *Editorial Científico-Técnica.*

11. **Regalado L, Ventosa I, Morejón R** (2008) Revisión histórica de los herbarios cubanos con énfasis en las series de especímenes *Revista del Jardín Botánico Nacional,* 29: 101- 138.

12. **Norma Ramal de Salud Pública 309** (1992) Medicamentos de origen vegetal: droga cruda *Métodos de ensayos*. La Habana Cuba.

13. **Carballo C** (2005) Desinfección química de Pedilanthus tithymaloides (L.) Poit *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2: 45-49.

14. http://www.buenastareas.com/ensayos/Extracci%C3%B3n-De-Sustancias-Asistida-Por-Ultrasonido/1950573.html, accesado 10/9/2014

15. **Torres E, Guillén Z, Hermosilla R, Arias Q, Vogel C, Almeida M** (2014) Empleo del ultrasonido en la extracción de curcumina a partir de su fuente natural *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19 (1): 14-20.

16. **Bauer A.W, Kirby W.M.M, Sherris J.C, Truck M** (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493-496.

17. **Clinical and Laboratory Standards Institute** (2007). M100-S17 (M2). *Disk Diffusion Supplemental Tables, CLSI, Wayne Pa*.

18. **National Committee for Clinical Laboratory Standards** (2003) Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically *NCCLS M7-A6. Wayne, PA.*

19. **Bullaín G.M, Viera T.Y, Avilés T.Y** (2014) Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto seco de las hojas de Faramea occidentalis *QuímicaViva*, 13 (3): 164-173.

20. **Addy BS y col** (2013) Phytochemical Screening and Antimicrobial Study on the Leaves of Morinda lucida (Rubiaceae) *Journal of Natural Sciences Research*, 3 (14): 131-135.

21. **Niño J, Mosquera O.M, Correa Y.M** (2012) Antibacterial and antifungal activities of crude plant extracts from Colombian biodiversity *Revista de Biología Tropical*, 60 (4): 1535-1542.

22. **Borroto J, Trujillo R, de la Torre Y, Waksman N, Hernández M, Salazar R** (2014) Actividad antimicrobiana y toxicidad frente a Artemia salina del extracto diclorometánico de raíces de Morinda royoc (L.) *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16 (1): 34-42.

QuímicaViva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Volumen 14, Número 3, Diciembre de 2015

ID artículo:F0228

Versión online