

ISSN 1026-0889

ROJASIANA

Departamento de Botánica
Dirección de Investigaciones
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Asunción

Vol. 12 (1-2)
2013

Paraguay

ROJASIANA

Departamento de Botánica
Dirección de Investigaciones
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Nacional de Asunción

Universidad Nacional de Asunción
Rector
Prof. Ing. Agr. **Pedro González**

Facultad de Ciencias Químicas
Decano
Prof. Dr. **Andrés Amarilla**

Vice-Decano y Director de Investigaciones
Prof. Dr. **Esteban Ferro**

ROJASIANA

CUERPO EDITORIAL

Consejo Editorial

Presidente: Prof. Dr. **Andrés Amarilla**

Miembros: Lic. **Gloria Delmás de Rojas**

Dr. Luciano M.A. Recalde

QFAI. Mirtha González de García

Lic. Ms.Cs. Christian Vogt

Editor Jefe: QF. **Rosa Degen Naumann de Arrúa**

Editor Asociado: QFAI. **Yenny González**

Comité Científico

Dra. Aline Freire-Fierro

Coleccion Manager PH-Herbarium
Academy of Natural Sciences, Philadelphia, USA

Dr. Gustavo Giberti

Museo de Farmacobotánica,
Facultad de Farmacia, UBA, Argentina

Dra. Etilé Dolores Spegazzini

Cátedra Farmacobotánica-LABRAM,
Departamento de Ciencias Biológicas,
Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, Argentina

Dra. Gabriela E. Giudice

Cátedra de Morfología Vegetal,
Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP,
Argentina

Dra. Vanilde Citadini-Zanette

Recuperación de Áreas degradadas,
Universidad do Extremo Sul Catarinense (UNESC),
Brasil

Dra. Dámaris Silveira

Directora, Ciencias Farmacéuticas, Facultad de
Ciencias da Saúde, Universidade de Brasília, Brasil

Dra. Graciela Ponessa

Directora del Instituto de Morfología Vegetal,
Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina

Dr. Nelson Rosot

Director Adjunto, Núcleo Interdisciplinario de
Medio Ambiente, Universidad Federal do Paraná,
Brasil

Dra. Gisele Lorenzi

Departamento de Botánica, Universidad Federal
do Paraná, Brasil

Dra. Raquel Negrelle

Directora Departamento de Botánica,
Universidad Federal do Paraná, Brasil

Dr. Esteban Antonio Ferro

Director de Investigaciones, Facultad de Ciencias
Químicas, UNA, Paraguay

La Revista **ROJASIANA** es auspiciada por la *Academia de Ciencias Farmacéuticas del Paraguay*.

Se publica gracias al apoyo del **Dr. Blás Vázquez** y la empresa **ITALQUIMICA S.A.**

La Revista **ROJASIANA ISSN 1026-0889** está incluida en el Directorio y en el Catálogo de **LATINDEX**.

El contenido de los números anteriores y del actual se encuentran disponibles en el sitio <http://www.qui.una.py/Publicaciones/ROJASIANA>

Diagramación

QFAI. **Mírtha González de García**

Ilustración de Tapa

Lic. **Gloria Delmás de Rojas**

Se agradece la colaboración del Lic. **Ricardo Maidana** por la corrección de la redacción de este Volumen

CONTENIDO
ROJASIANA Vol. 12 (1-2) 2013

- BURGOS, A.; EDWARDS, A.; BAZÁN, D.; FERRO, E. & ALVARENGA, N.** Composición química y actividad antibacteriana del extracto etanólico y fracciones de la parte aérea de *Sida cordifolia* L. [Chemical composition and antibacterial activity of the ethanolic extract and fractions from the aerial parts of *Sida cordifolia* L.].....**Pág.9-16**
- MICHAJLUK, J.; VILLANI, H.; FIGUEREDO, A.; ROVIRA, T. & CHEN, L. S.** Evaluación de la eficiencia de inoculantes para soja en suelos chaqueños. [Evaluation of soybean inoculants in Chaco soils].....**Pág.17-21**
- CABALLERO, S.; WISZOVTY, L.; PIRIS, P.; MERELES, L. & MICHAJLUK, J.** Composición química y valor nutricional del “kumanda yvyra’i”, *Cajanus cajan* (L.) Huth (Fabaceae). [Chemical composition and nutritional value of “kumanda yvyra’i”, *Cajanus cajan* (L.) Huth (Fabaceae)] **Pág.23-27**
- VOGT, C.** *Prosopanche americana* (R. Br.) Baill. (Hydnoraceae), nuevo registro para la flora del Paraguay. [*Prosopanche americana* (R. Br.) Baill. (Hydnoraceae), new record for the flora of Paraguay].....**Pág.29-31**
- CALABRONI DE ASSEPH, A. & GODOY, V.** Caracterización morfológica de *Cycas circinalis* L. Cycadaceae. [Morphological characterization of *Cycas circinalis* L. Cycadaceae].**Pág.33-46**
- CALABRONI, A. ; VAZQUEZ, M.; CANEPA, L. & GODOY, V.** Análisis preliminar de la anatomía foliar de cuatro fenotipos de *Psidium guajava* L. (Mirtaceae), “Guayaba”**Pág.47-58**
- CALABRONI, A.** Caracterización morfológica de *Psidium guajava* L. Myrtaceae “guayaba”. [Morphological characterization *Psidium guajava* L. Myrtaceae "Guava".].....**Pág.59-64**
- VÁZQUEZ, M. & CALABRONI, A.** Parámetros cuantitativos en el estudio de cuatro fenotipos de *Psidium guajava* L. Myrtaceae, “Guayaba”. [Quantitative parameters in the study of four phenotypes of *Psidium guajava* L. "Guava" Myrtaceae.].....**Pág.65-70**
- VERA, M. & DELMÁS DE ROJAS, G.** Nuevas menciones para la reserva Natural Laguna Blanca, Departamento de San Pedro, Paraguay: *Langsdorffia hypogaea* Mart. y *Lophophytum mirabile* Schott & Endl. spp. *bolivianum* (Wedd.) B. Hansen (Balanophoraceae). [New mentions for Natural Reserve Laguna Blanca, Department of San Pedro, Paraguay: *Langsdorffia hypogaea* Mart. and *Lophophytum mirabile* Schott & Endl. spp. *bolivianum* (Wedd.) B. Hansen (Balanophoraceae)].**Pág.71-76**

RICCO, R.; GIBERTI, G.; WAGNER, M. & GURNI, A. Dos sustitutos inusuales de la yerba mate (*Ilex pseudobuxus* e *I. taubertiana*): morfología, flavonoides y distribución geográfica. [Two unusual maté substitutes (*Ilex pseudobuxus* and *I. taubertiana*): morphology, flavonoids, geographical distribution].....**Pág: 77-90**

DA PONTE CANOVA, G. Observaciones preliminares de floración y fructificación de las especies *Aspidosperma tomentosum* Mart., *Qualea grandiflora* Mart. y *Vochysia tucanorum* del cerrado en la Reserva Natural del Bosque Mbaracayú. [Preliminary observations of flowering and fructification of the tree species *Aspidosperma tomentosum* Mart., *Qualea grandiflora* Mart. and *Vochysia tucanorum* of the cerrado formation in the Nature Forest Reserve Mbaracayú]..... **Pág: 91-104**

GONZÁLEZ, Y.; DEGEN, R.; GONZÁLEZ, G. & DELMÁS, G. Especies medicinales, su estado de conservación y usos, de la compañía Pikysyry, Departamento de Cordillera, Paraguay. [Medicinal species, conservation status and uses, Pikysyry company Department of Cordillera, Paraguay]..... **Pág: 105-115**

OAKLEY, L. & PRADO, D. Consideraciones sobre la identidad y delimitación de *Celtis chichape* (Wedd.) Miq. (Celtidaceae). [Considerations on the identity and delimitation of *Celtis chichape* (Wedd.) Miq. (Celtidaceae)].....**Pág: 117-124**

OAKLEY, L. & PRADO, D. Nueva combinación en *Celtis ebrenbergiana* (Klotzsch) Liebm. [New combination in *Celtis ebrenbergiana* (Klotzsch) Liebm.].....**Pág: 125-129**

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y FRACCIONES DE LA PARTE AÉREA DE *Sida cordifolia* L.

[Chemical composition and antibacterial activity of the ethanolic extract and fractions from the aerial parts of *Sida cordifolia* L.]

ALBERTO BURGOS¹, ALBA EDWARDS², DIANA BAZÁN¹, ESTEBAN FERRO¹, NELSON ALVARENGA^{1*}

¹Departamento de Fitoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, PO BOX 1055, San Lorenzo, Paraguay

² Estudiante del Doctorado en Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción

*E-mail: nalvarenga@qui.una.py

Resumen: Se realizó la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la parte aérea de *Sida cordifolia* L. (Malvaceae) y de las fracciones obtenidas por extracción en condiciones diferenciales de pH empleando el método de microtitulación en placa utilizando resazurina como indicador de viabilidad celular frente a un panel constituido por 2 bacterias Gram positivos (+) y 2 Gram negativos (-). También se realizó un ensayo fitoquímico preliminar para determinar grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto crudo y compararlos con los descritos en la bibliografía. El ensayo fitoquímico mostró la presencia de alcaloides, flavonoides y esteroides y/o triterpenoides libres. En cuanto a la actividad antibacteriana, la fracción ácida demostró ser la más activa, con valores de CMI entre 5 y 1,25 mg/mL frente a los microorganismos ensayados, siendo *Pseudomonas aeruginosa* el que demostró mayor sensibilidad en las condiciones empleadas.

Palabras clave: Malvaceae, *Sida cordifolia*, actividad antibacteriana, extracto etanólico.

Summary: Evaluation of antibacterial activity of the ethanolic extract from the aerial parts of *Sida cordifolia* L. (Malvaceae) and fractions obtained by differential pH extraction was performed against a panel of 2 Gram (+) and 2 Gram (-) bacteria with the resazurin microtitre-plate method. A preliminary phytochemical analysis was also performed to compare the secondary metabolites present in the crude extract with those described in the literature. The chemical assay showed the presence of alkaloids, flavonoids and free steroids and/or triterpenoids. Respect to the antibacterial activity, the acid fraction was the more active, with MIC values ranging from 5 to 1,25 mg/mL. *Pseudomonas aeruginosa* was the most sensitive of the tested microorganisms.

Key words: Malvaceae, *Sida cordifolia*, antibacterial activity, ethanolic extract.

Manuscrito recibido: 30 de septiembre de 2013.

Manuscrito aceptado: 10 de octubre de 2013.

INTRODUCCIÓN

A pesar de la existencia de numerosos agentes antimicrobianos actualmente en uso clínico, la aparición continua de cepas resistentes o multi-resistentes a los mismos plantea la necesidad de buscar nuevos fármacos para el tratamiento de las infecciones producidas por dichas cepas (Suleiman *et al.*, 2010).

Dentro de este contexto, los productos naturales son una fuente importante para el aislamiento de nuevas moléculas, las cuales pueden constituirse en cabezas de serie para el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos. En efecto, se estima que los productos naturales están implicados en el desarrollo del 44% de todos los nuevos fármacos, principalmente como moléculas base para la obtención de derivados semisintéticos (Hostettmann *et al.*, 2001).

Sida cordifolia L. (Malvaceae), conocida popularmente como Malva Blanca, es una planta ampliamente utilizada para el tratamiento de infecciones de diverso tipo, tanto en Paraguay como en otras partes del mundo así como para otras indicaciones, como por ejemplo antiinflamatoria, antiasmática, hipoglucemiante, antipirética y analgésica (Pin *et al.*, 2009; Vera, 2009). Las hojas trituradas se usan para el alivio de dolores locales y para el tratamiento de heridas y enfermedades de la piel (Medeiros *et al.*, 2006).

Trabajos anteriores han demostrado la presencia de alcaloides, esteroides, flavonoides y saponinas (Reddy *et al.*, 2012). La actividad antimicrobiana de diferentes extractos de la planta frente a bacterias y hongos patógenos también ha sido descrita (Baby *et al.*, 2011; Reddy *et al.*, 2012). Sin embargo, hasta el momento no se han identificado los compuestos responsables de dicha actividad. Como se ha descrito la presencia de alcaloides, terpenoides y flavonoides en la planta y es bien conocido que estos compuestos poseen actividad antimicrobiana es dable suponer que algunos de ellos son responsables de la misma. Por otro lado, la mayoría de los ensayos publicados utilizan para la evaluación de la mencionada actividad el método de difusión en disco, el cual necesita cantidades significativas de material a ensayar, requiere tiempo y presenta algunos problemas, que han sido descritos en la literatura (Drummond & Waigh, 2000).

El método de microtitulación en placa para la determinación de actividad antimicrobiana de productos naturales ha ganado amplia aceptación en los últimos años, debido a la facilidad y rapidez de su realización, además del hecho de requerir poca cantidad de extracto y permitir analizar varios extractos simultáneamente. A esto se suma el hecho de la utilización del colorante resazurina, el cual permite la detección del crecimiento microbiano sin necesidad de emplear un espectrofotómetro, obteniéndose además la CMI de los extractos evaluados (Sarker *et al.*, 2007).

Con estos antecedentes, hemos decidido llevar a cabo la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la parte aérea de *S. cordifolia* y de fracciones obtenidas del mismo, con el propósito de identificar en cuales se encuentran los componentes activos. Esto tiene por objeto centrar las operaciones de aislamiento sólo a las fracciones que demuestren inhibir el crecimiento microbiano. La extracción en condiciones diferenciales de pH se propone debido a que en la literatura se ha descrito la presencia de alcaloides, y estos compuestos han demostrado poseer actividades biológicas de diverso tipo, entre la que se encuentra la antimicrobiana. Se obtuvo

además la concentración mínima inhibitoria (CMI) tanto del extracto crudo como de las fracciones obtenidas. Se planteó también la realización de un ensayo fitoquímico preliminar, tendiente a confirmar si la composición química de la especie que crece en Paraguay es similar a la descrita en la literatura, ya que se sabe que la producción de tipos y cantidades de metabolitos secundarios es afectada por el medio ambiente en que se desarrolla la planta (Bourgaud *et al.*, 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal.

Sida cordifolia L. fue colectada en el Departamento Central, Paraguay, en el mes de abril de 2012. Un ejemplar fue depositado en el Herbario FCQ de la Facultad de Ciencias Químicas (R. Degen y A. Edwards 3.763).

Obtención de extracto etanólico de *S. cordifolia*.

El material vegetal fue secado desde el día de su colección en estufa con aire circulante a 40°C por 5 días, y luego triturado en un molino de cuchillas hasta consistencia de polvo fino.

El procedimiento extractivo se realizó en frío, a fin de preservar los compuestos termolábiles. Para ello, se extrajeron por maceración 380g de material molido en un recipiente de 2 L con 1,5 L de etanol de 96° durante 24 h. El proceso mencionado se repitió 2 veces más.

El extracto obtenido se concentró, eliminándose el disolvente por medio de un evaporador rotatorio de vacío obteniéndose 12,8g de extracto (rendimiento 3,37%), el cual fue empleado en los ensayos posteriores.

Obtención de las fracciones por extracción diferencial de pH.

En un recipiente se puso en contacto 288g de material vegetal molido con una solución de ácido clorhídrico al 5% por 24 horas, repitiéndose el proceso por 2 veces más. Del extracto obtenido se tomaron volúmenes de 2L y se realizó el siguiente procedimiento de extracción de compuestos ácidos con cada uno de ellos: se agregó el volumen mencionado de extracto a un embudo de decantación de 3 litros y se puso en contacto con 400ml de cloruro de metileno, agitándose continuamente por 2 minutos para luego dejar reposar hasta separación de las fases. Una vez separadas las fases se decantó la fase diclorometánica y se concentró llevándose a sequedad con un evaporador rotatorio cuyo baño se encontraba a una temperatura de 40°C, el mismo proceso se repitió 2 veces más. Al final del proceso de extracción se obtuvieron 205mg de extracto denominándose a la misma fracción ácida.

A la fase acuosa remanente se le agregó una solución de hidróxido de sodio al 30% hasta alcanzar un pH de 9 medido con papel indicador. Posteriormente se puso en contacto la fase acuosa alcalina con 400ml de diclorometano, agitándose continuamente por 2 minutos para luego dejar reposar hasta separación de las fases.

Una vez separadas se decantó la fase diclorometánica y se concentró llevándose a sequedad en un evaporador rotatorio cuyo baño se encontraba a una temperatura de 40°C, el mismo proceso se repitió 2 veces más. Como resultado de esto se obtuvieron 112 mg de extracto concentrado el cuál se denominó fracción alcalina.

Finalmente se procedió a la obtención de la fracción de sustancias insolubles en medio ácido o básico. Para ello, se puso en contacto la solución acuosa alcalina obtenida por el proceso anterior con 400 ml de acetato de etilo en el mismo embudo de decantación, se agitó constantemente por 2 minutos para luego dejar reposar hasta la separación de fases, la fase orgánica fue separada y el proceso se repitió 2 veces más. Posteriormente, las fases orgánicas fueron reunidas y concentradas en un evaporador rotatorio cuyo baño se encontraba a una temperatura de 45°C. Al final del proceso se obtuvo 265 mg de la que se denominó fracción neutra.

Análisis fitoquímico preliminar.

El extracto crudo fue analizado empleando la metodología descrita por Sanabria-Galindo (1.983). Para ello se realizan reacciones de coloración y/o precipitación, empleando reactivos específicos para poner de manifiesto determinados grupos de metabolitos secundarios, así como cromatografía en capa fina. Ello permite determinar la presencia de alcaloides, flavonoides, esteroides y/o triterpenoides libres, naftoquinonas y/o antraquinonas, taninos, saponinas, cumarinas, cardiotónicos y lactonas terpénicas.

Determinación de la actividad antibacteriana.

Para ello se utilizó el método de Sarker *et al.* (2007) modificado.

Material empleado.

Se emplearon placas estériles de plástico de 96 pocillos (Sterilin Limited, UK). Como medio de cultivo se empleó caldo MuellerHinton (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, India) preparado de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Microorganismos utilizados para el ensayo.

Para la determinación de actividad antimicrobiana fueron utilizadas cepas de *Escherichia coli* (American Type Culture Collection, ATCC 35218), *Bacillus subtilis* (Colección Española de Cultivos Tipo, CECT 39), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Pseudomonas aeruginosa* (CECT 108) los cuales estaban mantenidos a -20°C en caldo nutritivo con glicerol al 15%. Una pequeña porción se tomó en forma aseptica y se introdujo en un tubo con tapa rosca que contenía 15 mL de caldo MuellerHinton y se incubó durante 24 h a 36±1°C. Después de transcurrido este tiempo, la suspensión bacteriana fue diluida con solución fisiológica estéril a la escala de McFarland 0,5 por medio de un Turbidímetro (AN2100, Hach Company, USA) de manera a obtener una densidad de aproximadamente 10⁸ UFC/mL.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Las hileras exteriores de las placas fueron llenadas con solución fisiológica estéril, con el objeto de impedir la desecación de las suspensiones en los pocillos. Una cantidad adecuada de los extractos fue pesada y se disolvió en suficiente DMSO (Anedra, Argentina) de tal manera que la concentración final de DMSO fuera del 10% en la solución final. A esto se le agregó caldo MuellerHinton en cantidad suficiente para alcanzar una concentración de 10,0 mg/mL. De esta suspensión se tomaron 100 μ L y se colocaron en los pocillos de la primera hilera de cada placa en duplicado. A todos los demás pocillos se adicionó 50 μ L de caldo MuellerHinton, excepto las dos últimas hileras, que contenían 50 μ L de caldo con 10% de DMSO y que se reservaron para los controles de crecimiento positivo y negativo. Se tomaron 50 μ L de los pocillos de la primera hilera con una pipeta multicanal y se realizaron diluciones seriadas, de tal manera que cada pocillo tuviera 50 μ L de extracto a ensayar en concentraciones descendentes. Los 50 μ L sobrantes de la última dilución fueron descartados. A continuación a todos los pocillos se adicionó 40 μ L de medio MH y luego 10 μ L de suspensión microbiana, excepto la última hilera, que se destinó para el control de crecimiento negativo, a la cual sólo se añadió 50 μ L de medio pero no microorganismo. El volumen final contenido en cada pocillo fue de 100 μ L. Se empleó una placa completa para cada microorganismo utilizado. Las concentraciones ensayadas estuvieron en el rango de 5,0 a 0,04 mg/mL.

Las placas fueron cubiertas con lámina de polietileno para impedir la desecación de las suspensiones e incubadas durante 24 h a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, al cabo de las cuales a cada pocillo se adicionaron 10 μ L de solución de resazurina en agua estéril (6,75 mg/mL, Sigma, St. Louis, MO, USA) y se volvieron a incubar durante 1 h. Pasado ese tiempo, las placas fueron examinadas visualmente. El cambio de color del azul al rosa fue registrado como crecimiento microbiano positivo. Cada placa tenía una hilera de control de crecimiento positivo (DMSO+medio+microorganismo) y un control negativo (DMSO+medio). La concentración más baja que no evidenció crecimiento microbiano fue tomada como la CMI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el análisis fitoquímico preliminar se muestran en la **Tabla 1**.

De acuerdo a lo observado, se evidencia la presencia de alcaloides, esteroides y/o triterpenoides libres y flavonoides. A diferencia de los resultados descritos en la literatura no se han encontrado saponinas en el extracto etanólico de *S. cordifolia* (Reddy *et al.*, 2012).

Los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad antibacteriana se presentan en la **Tabla 2**.

Tabla 1. Análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico de *Sida cordifolia*

Compuestos	Prueba realizada	Resultados
Alcaloides totales	Dragendorff	(+++)
	Mayer	(+)
	Valser	(++)
	Reineckato de amonio	(+++)
Esteroides y/o triterpenoides libres	TLC, Liebermann - Burchard	(+++)
Flavonoides	Shinoda	(+)
Naftoquinonas y/o antraquinonas	Bornträger - Kraus	(-)
Taninos	Gelatina - Sal	(-)
Saponinas	Espuma	(-)
Cumarinas	CCF, Hidroxamato férrico	(-)
Cardiotónicos	CCF, Raymond, Vainillina	(-)
Lactonas terpénicas	CCF, Raymond	(-)

(+++): Precipitado abundante o coloración intensa

(++): Precipitado o coloración intermedia

(+): Precipitado o coloración leve

CCF: Cromatografía en capa fina

Tabla 2. Actividad antibacteriana del extracto etanólico y fracciones de *Sida cordifolia*

Extracto	Microorganismo	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)
Etanólico bruto	<i>S. aureus</i>	> 5mg/mL
	<i>P. aeruginosa</i>	5mg/mL
	<i>B. subtilis</i>	> 5mg/mL
	<i>E. coli</i>	5mg/mL
Fracción alcalina	<i>S. aureus</i>	5mg/ml
	<i>P. aeruginosa</i>	2,5mg/ml
	<i>B. subtilis</i>	5mg/ml
	<i>E. coli</i>	5mg/ml
Fracción ácida	<i>S. aureus</i>	5mg/ml
	<i>P. aeruginosa</i>	1,25mg/ml
	<i>B. subtilis</i>	2,5mg/ml
	<i>E. coli</i>	2,5mg/ml
Fracción neutra	<i>S. aureus</i>	> 5mg/mL
	<i>P. aeruginosa</i>	5mg/ml
	<i>B. subtilis</i>	> 5mg/mL
	<i>E. coli</i>	> 5mg/mL

Los resultados de la actividad antibacteriana muestran que la fracción ácida es la más activa, sobre todo frente a *P. aeruginosa*, con un valor de CMI de 1,25 mg/mL. Esta fracción también demuestra mayor actividad que las demás frente a *B. subtilis* y *E. coli*.

No hay diferencias entre la actividad de esta fracción y la alcalina frente a *S. aureus*, mostrando ambas una CMI de 5 mg/mL. La fracción neutra no mostró actividad excepto frente a *P. aeruginosa*. El extracto crudo muestra actividad sólo a la concentración más alta empleada frente a *P. aeruginosa* y *E. coli*. De acuerdo con estos resultados, los compuestos responsables de la actividad son sustancias de naturaleza ácida. Dado que en el ensayo fitoquímico preliminar se observó la presencia de flavonoides y también terpenoides, entre los cuales se encuentran sustancias ácidas, puede estimarse que estas podrían ser responsables de la actividad, pero esto debe ser confirmado con el aislamiento de los componentes de la fracción y evaluación de su actividad antimicrobiana en forma individual, así como la determinación de su estructura química. Los datos muestran además que el microorganismo más sensible es *P. aeruginosa*, lo cual concuerda con lo publicado por Reddy *et al.*, (2012). Estos resultados son muy importantes porque este microorganismo es responsable de buena parte de las infecciones hospitalarias y además existen cepas resistentes a varios de los antibacterianos empleados actualmente.

En conclusión, el extracto etanólico de la parte aérea de *S. cordifolia* colectada en Paraguay muestra la presencia de alcaloides, esteroides y/o triterpenoides y flavonoides pero no saponinas, como ha sido descrito en la literatura. El mencionado extracto presenta actividad sólo frente a *P. aeruginosa* y *E. coli* con una CMI de 5 mg/mL. Sin embargo, entre las fracciones, la ácida muestra más actividad que el extracto crudo, demostrando que los compuestos presentes en el mismo son los principales responsables de la acción antibacteriana de *S. cordifolia*. *P. aeruginosa* es el microorganismo más sensible con una CMI de 1,25 mg/mL.

BIBLIOGRAFÍA

- Baby, J., Ajisha, A., Kumari, S. & S. Sujatha. 2011. Effect of bioactive compounds and its pharmaceutical activities of *Sidacordifolia* (Linn.). *Int J Biol Med Res.* 2(4): 1038–1042.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S. & E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science* 161: 839–851.
- Drummond, A. & R. Waigh. 2000. The development of microbiological methods for phytochemical screening. *Recent Research Developments in Phytochemistry.* 4: 143-152.
- Hostettmann, K., Wolfender, J. & C. Terreaux. 2001. Modern screening techniques for plant extracts. *Pharm. Biol.* 39: Supplement, 18-32.
- Medeiros, I., Santos, M., Nascimento, N. & J. Duarte. 2006. Cardiovascular effects of *Sidacordifolia* leaves extract in rats. *Fitoterapia.* 77 (1): 19-27.

- Pin, A., González, G., Marín, G., Céspedes, G., Cretton, S., Christen, P. & D. Rouguet. 2009. Plantas medicinales del Jardín Botánico de Asunción. Municipalidad de Asunción, AEPY, Université de Genève. 441 pp.
- Reddy, S., Kumari, C., Reddy, C., Ratna, Y. & C. D. Reddy. 2012. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Sida cordifolia*. IRJP. 3 (9): 309-311.
- Sanabria-Galindo, A. 1983. Análisis fitoquímico preliminar. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. Bogotá, Colombia. S/E. 113 pp.
- Sarker, S., Nahar, L. & Y. Kumarasamy. 2007. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. Methods. 42: 321–324
- Suleiman, M., McGaw, L., Naidoo, V. & J. Eloff. 2010. Detection of antimicrobial compounds by bioautography of different extracts of leaves of selected South African tree species. Afr. J. Trad. CAM 7 (1): 64 - 78.
- Vera, M. 2009. Plantas medicinales de tres áreas silvestres protegidas y su zona de influencia en el sureste de Paraguay. Fundación Moisés Bertoni & EGP The Netherlands. 160 pp.