

Artículo original

Actividad antimicrobiana y perfil fitoquímico de las hojas de *Connarus venezuelanus* B. var. *venezuelanus* (Connaraceae R. BR.).

Antimicrobial activity and phytochemical profile of the leaves of *Connarus venezuelanus* B. var. *venezuelanus* (Connaraceae R. BR.).

García Giovanni¹, Rodríguez-Castillo Gabriela², Velasco Judith³, Villalobos-Osorio Darly⁴, Ramírez-González Irama^{1*}.

¹Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, C.P. 5101, República Bolivariana de Venezuela. ²Departamento de Química, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Punto Fijo, C.P. 4102, República Bolivariana de Venezuela. ³Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ⁴Departamento de Análisis y Control, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, C.P. 5101, República Bolivariana de Venezuela

Recibido diciembre 2017 – Aceptado febrero 2018

RESUMEN

Las hojas de *Connarus venezuelanus* B. var. *venezuelanus* fueron extraídas con hexano, diclorometano y metanol, de forma progresiva. A cada extracto se le realizó tamizaje fitoquímico con técnicas de análisis cualitativo empleadas en la determinación de metabolitos secundarios. Se comprobó la presencia de varias familias de metabolitos secundarios con interés biológico y farmacológico. El extracto metanólico mostró la mayor diversidad y abundancia de compuestos, con los siguientes compuestos mayoritarios: flavonoides, esteroides, triterpenos y quinonas. A los extractos de diclorometano y metanol se les evaluó la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar con discos, frente a bacterias y levaduras de referencia internacional: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* resistente a Metilicina (SARM) aislado de un paciente hospitalizado, *Candida albicans* (CDC-B385) y *C. krusei* (ATCC 6258). Solo el extracto metanólico resultó activo contra las bacterias Gram positivas, *S.*

aureus, *E. faecalis* y SARM, con valores de concentración inhibitoria mínima (CIM) de 100 mg/mL, 250 mg/mL y 150 mg/mL, respectivamente. Es la primera vez que se reporta el tamizaje fitoquímico y la actividad antimicrobiana de las hojas de esta especie.

PALABRAS CLAVE

Connarus venezuelanus, tamizaje fitoquímico, actividad antimicrobiana, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The organic extracts of hexane, dichloromethane and methanol from the leaves of *C. venezuelanus* B. var. *venezuelanus*, were underwent a phytochemical screening. To perform it, qualitative analysis techniques were used to determine the compounds and was able to verify the presence of several families of secondary metabolites with pharmacological and

biological interest. It was determined that a greatest diversity and abundance of compounds was found in the methanolic extract, where flavonoids, steroids, triterpenes and quinones are the most common. The extracts of dichloromethane and methanol were evaluated for antimicrobial activity by the disc agar method. Only methanolic extract was active against strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) of clinical origin, with minimal inhibitory concentration (MIC) of 100 µg/ml, 250 µg/ml and 150 µg /ml, respectively. This is the first time that the phytochemical screening and antimicrobial activity of *C. venezuelanus* leaves are reported.

KEY WORDS

Connarus venezuelanus, phytochemical screening, antimicrobial activity, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

Aproximadamente la mitad de los medicamentos son derivados u obtenidos de las plantas. El fácil acceso y el uso inapropiado de fármacos, para combatir las infecciones causadas por microorganismos patógenos, facilita la selección, persistencia y diseminación de microorganismos resistentes [1]. Esta situación ha llevado a la búsqueda de nuevos compuestos con actividad antimicrobiana y los extractos de productos naturales son una fuente de ellos. El examen sistemático en la búsqueda de compuestos bioactivos es ahora una rutina en muchos laboratorios dedicados a la investigación biomédica. Esto ha ganado importancia en los últimos años, debido al alarmante aumento de la tasa de resistencia de los microorganismos a los antibióticos [2]. Entre los microorganismos que presentan resistencia se encuentra *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina (SARM), una bacteria que representa un problema de salud pública a nivel hospitalario, es endémico en muchas regiones, aumentando así la morbilidad, mortalidad y coste en los centros de atención sanitaria asociados a infecciones intrahospitalarias [3-6].

Connarus venezuelanus B. var *venezuelanus*, comúnmente llamado pico de loro, es un árbol de la

familia Connaraceae, ampliamente distribuido en la región de los llanos venezolanos [7]. El perfil biológico de la familia Connaraceae contempla actividades tales como: antiinflamatoria, antibacteriana, antifúngica, antiviral, antitumoral, hipertensora, espasmolítica, entre otras relacionadas con la medicina popular [8,9]. La literatura señala el uso de especies del género *Connarus* en la medicina tradicional tales como: la corteza de *C. suberosus*, una planta exclusiva de campos secos y cerrados de Brasil central, se utiliza para aliviar el dolor estomacal [10]; *C. perrotteti* var. *angustifolius* se usa en el tratamiento de infecciones genitourinarias en las mujeres, en el sangrado uterino, ovarios quísticos, enfermedades gástricas, dolores de cabeza, gripe, tos y congestión [11] y la infusión de las hojas de *C. semidecandrus* es administrada vía oral, en Tailandia, para el tratamiento de la diarrea [12]. El género *Connarus* ha sido poco estudiado desde el punto de vista químico y biológico. En tal sentido, se ha descrito un poliflavonoide altamente hidroxilado aislado de los frutos de *C. venezuelensis* [13], leucopelargonidina de las raíces de *C. monocarpus* [14], seis alcaloides de *C. paniculatus* var. *paniculatus* [15], iminoazúcares de *C. ferrugineus* [16] y la identificación y cuantificación de varios polifenoles en *C. var. angustifolius* [17]. En relación a sus actividades biológicas y farmacológicas, se mencionan: actividad antinociceptiva y antipirética del extracto metanólico de *C. semidecandrus* [18], citotoxicidad en la línea de cáncer de colon humano KM-12 del extracto de diclorometano:metanol en una proporción de 1:1 de *C. perrotteti* [19] y la capacidad de inhibir la actividad hemorrágica del veneno de *Bothrops atrox*, que se observó del extracto acuoso de *C. favosus*, sumado a su actividad antioxidante y antibacteriana [20]. En este estudio se describe el tamizaje fitoquímico y la evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos orgánicos de las hojas de *C. venezuelanus* recolectado en los llanos venezolanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron las hojas de *C. venezuelanus* el 14 de mayo de 2011, en los alrededores del Hato Marisela (antiguo Hato El Frío. Latitud: 7.81169, Longitud: -

68.8976), entre las poblaciones de Mantecal y El Samán del estado Apure, Venezuela. Una muestra del material vegetal (*Voucher specimen*) fue depositada en el Herbario MERF “Luís Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, Mérida (Venezuela), bajo el número CV-07. La identificación de la especie fue realizada por el taxónomo Dr. Pablo Meléndez, Profesor de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes.

Extracción y tamizaje fitoquímico

Las hojas fueron sometidas a secado por recirculación de aire a 40 °C, posteriormente molidas y maceradas de manera progresiva con solventes orgánicos (hexano, diclorometano y metanol). Cada uno de los extractos fue concentrado al vacío en un rotavapor y fueron evaluados, mediante ensayos fitoquímicos por triplicado, con la finalidad de determinar la presencia de los diferentes metabolitos secundarios, usando los procedimientos establecidos [21-25].

Actividad antimicrobiana

Se determinó la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos de diclorometano y metanol, por el método de difusión en agar con discos [26]. Los ensayos se desarrollaron contra bacterias y levaduras de referencia internacional: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* resistente a Metilicina (SARM N° 525) aislado de un paciente hospitalizado, *Candida albicans* (CDC-B385) y *C. krusei* (ATCC 6258). Para evaluar la actividad antifúngica se realizaron algunas modificaciones, el agar Müeller-Hinton (20 mL) fue suplementado con glucosa 2%, p/v) y azul de metileno (0,5 µg/mL) [27] y se mezcló con 1 mL del inóculo de cada levadura, el cual se había ajustado previamente a una turbidez equiparable al Patrón McFarland N° 1 3×10^8 UFC/mL) con solución salina fisiológica [28]. Los ensayos se realizaron por duplicado.

RESULTADOS

Los ensayos del tamizaje fitoquímico indicaron, que de los tres extractos orgánicos evaluados de *C.*

venezuelanus, el extracto metanólico es el que contiene una gran diversidad de metabolitos secundarios (glucósidos, flavonoides, esteroides, triterpenos, quinonas, saponinas y compuestos fenólicos); los mayoritarios fueron flavonoides, triterpenos y quinonas. El extracto de hexano mostró sólo la presencia de glucósidos cardiotónicos (Tabla 1). De la actividad biológica evaluada al extracto de diclorometano (ED) y metanol (EM), solo el EM de las hojas de *C. venezuelanus* mostró actividad antibacteriana, con inhibición del desarrollo de las bacterias Gram positivas, *S. aureus*, *E. faecalis* y SARM, con valores de concentración inhibitoria mínima (CIM) de 100 mg/mL, 250 mg/mL y 150 mg/mL, respectivamente (Tabla 2).

DISCUSIÓN

De los tres extractos obtenidos de las hojas de *C. venezuelanus*, el extracto metanólico mostró la mayor variedad de compuestos: fenoles, triterpenos, flavonoides, quinonas y taninos. Al respecto, Jiménez y col. 2001, describen la presencia de algunos de estos metabolitos, como flavonoides y quinonas en las hojas y tallos de la especie *C. lambertii*, recolectada en el amazonas venezolano [29].

En un estudio realizado en Brazil a *C. var. angustifolius* se comprobó el contenido de compuestos fenólicos [17] y a partir de extractos de los frutos de *C. venezuelensis* se aislaron flavonoides y quinonas [23]. Este es el primer reporte del tamizaje fitoquímico realizado a las hojas de *C. venezuelanus*. En relación a la evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de las hojas de *C. venezuelanus*, sólo el extracto metanólico mostró actividad antibacteriana, frente a *S. aureus*, *E. faecalis* y SARM. La actividad observada frente a estos microorganismos se puede atribuir a la presencia de flavonoides, triterpenos y quinonas, compuestos a los cuales se les ha descrito actividad antibacteriana [30-35]. El hecho de que el extracto metanólico exhibió actividad antibacteriana, contrario al extracto de diclorometano que resultó inactivo, puede ser debido a la habilidad del metanol para solubilizar y mejorar la extracción de una gran variedad de metabolitos biológicamente activos. Lo observado confirma estudios previos, que reportan que el metanol se encuentra entre los mejores solventes utilizados para la extracción de sustancias

TABLA 1
Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *Connarus venezuelanus B var. venezuelanus*

Metabolitos Secundarios	Ensayo	Hojas		
		EH	ED	EM
Alcaloides	Wagner	-	-	-
	Mayer	-	-	-
	Dragendorff	-	-	-
Cumarinas	Fluorescencia a 365nm	-	-	-
Glucósidos	NaOH (ac)	+	-	+
Glucósidos cardiotónicos	Keller – Killiani (2-desoxiazucar)	-	-	-
	Reacción de Legal (cardenólido o lactonas α,β -insaturadas)	+	-	-
Núcleo fenólico	FeCl ₃ Ext. Acuoso	-	-	+++
	Reacción de Shinoda	-	-	-
Flavonoides	Reacción de NaOH 10%	-	-	+++
	Reacción de Pew's	-	-	-
	CCF: 2-aminoetil-difenilborato	-	-	-
Esteroides y/o Triterpenoides	Reacción de Lieberman Bouchard	-	-	+++
	Reacción de Rosenthaler (Triterpenoides)	-	-	++
	Salkowski (Esteroides)	-	-	+++
Antraquinonas	C ₆ H ₆ (conc.)	-	-	-
	NH ₄ OH (conc.)	-	-	++
Quinonas y/o antronas	Reacción de Borntrager	-	-	+++
	H ₂ SO ₄ (conc.)	-	-	-
Resinas	H ₂ SO ₄ (conc.)	-	-	-
Saponinas	Altura de la espuma	-	-	-
	Bicarbonato	-	-	+++
	CCF: Komarowsky	-	-	++
Taninos	Gelatina 1%	-	-	-
	Gelatina (1%) – Sal (10%)	-	-	-
	FeCl ₃ 10%	-	-	++
	KFe(CN) ₆ 1%	-	-	-
Mucilagos	Enfriamiento a 0-5 °C	-	-	-

EM: extracto metanólico, ED: Extracto en Diclorometano, EH: Extracto Hexánico, -: Ausencia, +: Baja confiabilidad, ++: Mediana confiabilidad, +++: Alta confiabilidad.

TABLA 2
Actividad antimicrobiana de los extractos de las hojas de *Connarus venezuelanus* B var. *venezuelanus*

Microorganismos	Zona de inhibición (mm) *				CIM (mg/mL)
	ED	EM	Control Positivo		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	NA	10*	SXT	42*	100
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	NA	9*	VA	27*	250
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	NA	NA	GM	35*	NP
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	NA	NA	AZT	50*	NP
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	NA	NA	CEF	40*	NP
SARM N° 525	NA	11*	-	-	150
<i>Candida albicans</i> CDC-B385	NA	NA	FLU	32*	NP
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	NA	NA	VOR	30*	NP

*mm de halos de inhibición (discos de 6 mm de diámetro), promedio de tres ensayos. ED: extracto de diclorometano, EM: extracto metanólico, SXT: trimetoprim-sulfametoxazol® 1,25/23,75 µg, VA: vancomicina® 30 µg, GM: gentamicina® 10 µg, AZT: aztreonam® 30 µg, CEF: cefepima® 30 µg, FLU: Fluconazol® 100 µg, VOR: Vorcum® 200 mg Voriconazol 400 µg/mL, NA: no activo, NP: no probado, CIM: Concentración Inhibitoria Mínima rango 50-300 mg/mL, SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a Metilina aislado de un paciente hospitalizado.

antimicrobianas, en comparación con otros solventes tales como, agua, etanol y hexano [36].

La inhibición del desarrollo solo de las bacterias Gram positivas, permite inferir que la acción de los compuestos identificados en el extracto metanólico de las hojas de la especie en estudio están dirigidas a interrumpir la síntesis del peptidoglicano, compuesto principal de la pared celular de las bacterias Gram positivas [37].

Otras especies de la familia Connaraceae, como *Rourea santaloides* [38], *Bryoscarpus coccineus* [39] y *Cnestis ferruginea* [40], evidenciaron actividad antibacteriana, lo cual indica que esta familia es una fuente de metabolitos potenciales como antibacterianos. Estos resultados son de gran importancia debido a que, entre los microorganismos que presentan mayor resistencia se encuentra *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (SARM), una bacteria que representa un problema de salud pública a nivel hospitalario, es endémico en muchas regiones aumentando así su morbilidad, mortalidad y coste en los centros de atención sanitaria asociados a infecciones intrahospitalarias [41,42]. Este es el primer reporte de actividad antibacteriana de las hojas de *C. venezuelanus*.

CONCLUSIONES

El extracto metanólico de las hojas del *C. venezuelanus* contiene glucósidos, flavonoides, esteroides, triterpenos, quinonas, saponinas y compuestos fenólicos y fue activo frente a *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y SARM, lo cual indica que los metabolitos secundarios que lo constituyen, puros o en sinergia, son una fuente alternativa terapéutica en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias Gram positivas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT), con el Proyecto N° 2012001255 y al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA), de la Universidad de Los Andes, a través del Proyecto N° FA-496-11-08-A.

REFERENCIAS

[1] Akerele O. Conservation of Medicinal Plant. London: A Cambridge University Press Publication; 1988. pp. 18-20.

- [2] Ahmadu AA, Akpulu IN, Hassan HS, Sule MI, Pateh UU. Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of the leaves of *Byrsocarpus coccineus* Schum & Thonn (Connaraceae). JPB. 2006; 3(2): 107-110.
- [3] Schmitz FJ, MacKenzie CR, Geisel R, Wagner S, Idel H, Verhoef J, et al. Enterotoxin and toxic shock syndrome toxin-1 production of methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* strains. Eur J Epidemiol. 1997; 13(6): 699-708.
- [4] Lowy FD. Antimicrobial resistance: The example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest. 2003; 111(9): 1265-1273.
- [5] Morgan DJ, Murthy R, Munoz-Price LS, Barnden M, Camins BC, Johnston BL, et al. Reconsidering contact precautions for endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus*. Infect Control Hosp Epidemiol. 2015; 36(10): 1163-1172.
- [6] Togneri AM, Podestá LB, Pérez MP, Santiso GM. Estudio de las infecciones por *Staphylococcus aureus* en un hospital general de agudos (2002-2013). Rev Argent Microbiol. 2017; 49(1): 24-31.
- [7] Pinto P, Ruiz P. Flora de Colombia. Bogotá: Ediciones Universidad Nacional de Colombia; 1983.
- [8] Albuquerque UP, Lucena RFP. Can apparency affect the use of plants by local people in tropical forests. Interciencia. 2005; 30(8): 506-510.
- [9] Akindede AJ, Ezenwanebe KO, Anunobi ChC, Adeyemi OO. Hepatoprotective and *in vivo* antioxidant effects of *Byrsocarpus coccineus* Schum and Tonn. (Connaraceae). J Ethnopharmacol. 2010; 129 (1): 46-52.
- [10] Matthaus B, Vosmann K, Pham LQ, Aitzetmuller K. FA and tocopherol composition of vietnamese oil seeds. JAOCS. 2003; 80 (10): 1013-1020.
- [11] Coelho-Ferreira M. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Maruda, Pará State (Brazil). J Ethnopharmacol. 2009; 126(1): 159-175.
- [12] Srithi K, Balslev H, Wangpakapattanaongw P, Srisanga P, Trisonthi C. Medicinal plant knowledge and its erosion among the Mien (Yao) in northern Thailand. J Ethnopharmacol. 2009; 123(2): 335-342.
- [13] Marcano D, Pérez F, Ramírez I. Constituyentes químicos de *Connarus venezuelensis* B. Un estudio preliminar. Acta Cient Venez. 1984; 35(3-4): 241-243.
- [14] Aiyar SN, Jain MK, Krishnamurtti M, Seshadri TR. Chemical components of the roots of *Connarus monocarpus*. Phytochemistry. 1964; 3(2): 335-339.
- [15] Le PM, Martin MT, Hung NV, Guenard D, Sevenet T, Platzer N. NMR study of quinolizidine alkaloids: relative configurations, conformations. Magn Reson Chem. 2005; 43(4): 283-293.
- [16] Asano N, Yamauchi T, Kagamifuchi K, Shimizu N, Takahashi S, Takatsuka H, et al. Iminosugar-producing Thai medicinal plants. J Nat Prod. 2005; 68(8): 1238-1242.
- [17] Pires FB, Dolwitsch CB, Prá VD, Faccin H, Monego DL, de Carvalho LM, et al. Qualitative and quantitative analysis of the phenolic content of *Connarus* var. *angustifolius*, *Cecropia obtusa*, *Cecropia palmata* and *Mansoa alliacea* based on HPLC-DAD and UHPLC-ESI-MS/MS. Rev Bras Farmacogn. 2017; 27(4): 426-433.
- [18] Wantana R, Sanan S, Kritawan M, Kaesorn N, Gomol R, Takayama H. Antipyretic activity of *Connarus semidecandrus* in rats. J Sci Technol. 2004; 22(2): 191-198.
- [19] Suffredini IB, Paciencia MLB, Varella AD, Younes RN. *In vitro* cytotoxic activity of Brazilian plant extracts against human lung, colon and CNS solid cancers and leukemia. Fitoterapia. 2007; 78(3): 223-226.
- [20] Pereira da Silva T, Mourão de Moura V, Scheffer de Souza MC, Carvalho VN, Moreira KAM, Guimarães MG, et al. *Connarus favosus* Planch.: An inhibitor of the hemorrhagic activity of *Bothrops atrox* venom and a potential antioxidant and antibacterial agent. J Ethnopharmacol. 2016; 183: 166-175.
- [21] Domínguez X. *Métodos de Investigación Fitoquímica*. México: Limusa, S.A; 1979.
- [22] Shyamala-Gowri S, Vasantha K. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Syzygium cumini* (L.) (Myrtaceae) leaves extracts. Int J Pharm Tech Res. 2012; 2(2): 1569-1573.
- [23] Marcano D, Hasegawa M. *Fitoquímica orgánica*. 2 da. Edición. Caracas-Venezuela: Universidad Central de Venezuela; 2002. 57-59.
- [24] Orantes S. Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri* Standley

- Subsp. *Izabalensis* W.S. Alverson ex Véliz (Bombacaceae) [Tesis de Licenciatura en Química]. Guatemala: Universidad de San Carlos. 2010. p. 13.
- [25] Rajesh P, Latha S, Selvamani P, Rajesh-Kannan V. Phytochemical screening and toxicity studies on the leaves of *Capparis sepiaria* Linn. (Capparidaceae). J Clin Basic Pharma. 2010; 1(1): 41-46.
- [26] Velasco J, Contreras E, Buitrago D, Velazco E. Efecto antibacteriano de *Virola sebifera* sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Ciencia. 2005; 13(4): 411-415.
- [27] NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Fourteenth informational supplement. Wayne, Pa: NCCLS document M100-S14. 2004.
- [28] Lozina LA, Boehringer SB, Acosta O. Extrapolación en una forma posológica de valores obtenidos *in vitro* sobre actividad antifúngica del propóleo. Universidad Nacional del Noreste: Comunicaciones científicas y tecnológicas. 2005, 018: 1-4.
- [29] Jiménez G, Hasegawa M, Rodríguez M, Estrada O, Méndez J, Castillo A, *et al.* Biological screening of plants of the venezuelan amazons. J Ethnopharmacol. 2001; 77: 77-83.
- [30] Cushnie T, Lamb AJ. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. Int J Antimicrob Agents. 2011; 38(2): 99-107.
- [31] Rajeshkumar S, Bharath LV. Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles-A review on biomolecules involved, characterization and antibacterial activity. Chem Biol Interact. 2017; 273: 219-227.
- [32] Barbieri R, Coppo E, Marchese A, Daglia M, Sobarzo-Sánchez E, Nabavi SF, *et al.* Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. Microbiol Res. 2017; 196: 44-68.
- [33] Peng M, Zhao X, Biswas D. Polyphenols and tri-terpenoids from *Olea europea* L. in alleviation of enteric pathogen infections through limiting bacterial virulence and attenuating inflammation. J Funct Foods. 2017; 36: 132-143.
- [34] Saruul E, Murata T, Selenge E, Sasaki K, Yoshizaki F, Batkhuu J. An antibacterial *ortho*-quinone diterpenoid and its derivatives from *Caryopteris mongolica*. Bioorg Med Chem Lett. 2015; 25(12): 2555-2558.
- [35] Swapnaja J, Yennam S, Chavali M, Poomachandra Y, Kumar G, Muthusamy K, *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of diaziridinyl quinone isoxazole hybrids. Eur J Med Chem. 2016; 117: 85-98.
- [36] Parekh J, Jadeja D, Chanda S. Efficacy of aqueous and metanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. Turkish J Biol. 2005; 29(4). 203-210.
- [37] Fica A. Resistencia antibiótica en bacilos Gram negativos, cocáceas Gram positivas y anaerobios. Implicancias terapéuticas. Rev Med Clin Condes. 2014; 25(3) 432-444.
- [38] Parekh J, Chanda S. *In vitro* screening of antibacterial activity of aqueous and alcoholic extracts of various Indian plant species against selected pathogens from Enterobacteriaceae. AJMR. 2007; 1(6): 092-099.
- [39] Hamid A, Aiyelaagbe O. The screening of phytoconstituents, antibacterial and antifungal activities of *Brysocarpus coccineus* Schum and Thonn. stem (Connaraceae). AEB. 2010; 4(3): 485-489.
- [40] Akharaiyi FC, Boboye B, Adeyuv C. Antibacterial, phytochemical and antioxidant properties of *Cnestis ferruginea* DC (Connaraceae) extracts. JMBFS. 2012; 2(2): 592-609.
- [41] Vindel A, Cercenado E. *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina portadores del gen *mecC*: ¿Un problema emergente? Enferm Infecc Microbiol. Clin. 2016; 34(5), 277-279.
- [42] Jordan I, Esteban, E, Bustinza A, de Carlos JV, García P, Concha JA, *et al.* Trends in nosocomial infections and multidrug-resistant microorganisms in Spanish pediatric intensive care units. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2016; 34(5), 286-292.