

Metabolitos bioactivos de la culebra ciega (*Anguis fragilis*)

Bioactive metabolites of de blind snake (*Anguis fragilis*)

DOI: 10.34188/bjaerv6n4-032

Recebimento dos originais: 05/08/2023

Aceitação para publicação: 30/09/2023

Shailili M. Moreno Morales

Doctora en Química por la Universidad Simón Bolívar Venezuela

Institución: Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ)

Dirección: Facultad de Ciencias Pecuarias y Biológicas. Universidad Técnica Estatal de Quevedo

Av. Quito km. 1.5 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas, Quevedo, Ecuador, CP 120301

Correo: smorenom2@uteq.edu.ec

José Vicente Hernández Estupiñán

Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad Simón Bolívar Venezuela

Institución: Universidad Simón Bolívar (USB)

Dirección: Laboratorio de Ecología Química del Comportamiento, Biología de Organismos, Edif

FYE I, piso 1, Caracas 1080 A- Venezuela

Correo: jnandez@usb.ve

Jusmerlin Del Valle Núñez Marchan

Licenciada en Química por la Universidad de Oriente Venezuela

Dirección: Departamento de Química, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de

Oriente. Cumaná 6101 – Venezuela

Correo: jusmenm@hotmail.com

RESUMEN

En Venezuela existen muchas fuentes de productos naturales con propiedades medicinales, entre ellas se encuentra la culebra ciega *Anguis fragilis* (Reptilia: *Squamata*). Un ejemplar de esta especie de 98,2 g fue colectado en el Tigrito, municipio San José de Guanipa, Anzoátegui. Este ejemplar se extrajo, durante 3 semanas hasta agotamiento con etanol y luego con éter de petróleo. Los extractos obtenidos se concentraron a presión reducida obteniendo 3,65 g de extracto etanólico (EE) y 0,03 g de extracto en éter de petróleo (EEP), con un rendimiento en masa de 3,72 % y 0,03 % respectivamente. Cada extracto se analizó con ensayos de actividad antibacteriana, antifúngica, y letalidad contra crustáceos de *Artemia salina*; además se realizaron pruebas químicas preliminares, detectando la posible presencia de flavonoides, y alcaloides en el EEP; adicionalmente en el EE fue detectada la posible presencia de cumarinas, alcaloides, taninos, y glicósidos cardiotónicos, confirmando por IR-TF los grupos funcionales, asignables a las familias de compuestos identificados previamente en el EE (el de mayor masa), el cual fue fraccionado mediante columna cromatográfica, obteniendo 10 fracciones (A-J). Ninguno de los extractos, ni las fracciones del EE, mostraron actividad letal frente a *A. salina*, y en la evaluación de actividad antifúngica tampoco se evidenció sensibilidad de los organismos. Para las pruebas antibacterianas se usaron las cepas *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella tiphymurium* y *Bacillus subtilis*, ninguna de ellas mostró sensibilidad ante los extractos, pero la fracción C mostró actividad frente a la mayoría de las bacterias ensayadas, con halos de inhibición entre 12 y 14 mm. A la fracción C se le realizó el análisis de IR-TF, observando que conserva los mismos grupos funcionales presentes en el extracto de origen. El EE se analizó mediante CG-EM y se identificaron

los compuestos Éster etílico del ácido hexadecanoico, ácido linoleico, Éster etílico del ácido octadecadienoico, y el Colestan-5-en-3-ol.

Palabras clave: Metabolitos secundarios, culebra ciega, *Anguis fragilis*, Reptilia, *Squamata*.

ABSTRACT

In Venezuela there are many sources of natural products with medical properties, among them is the blind snake *Anguis fragilis* (Reptilia: Squamata). A specimen of this species weighing 98.2g was collected in Tigrito, San José de Guanipa municipality, Anzóategui. This specimen was extracted for 3 weeks until exhaustion with ethanol and then with petroleum ether. The extracts obtained were concentrated under reduced pressure, obtaining 3.65g of ethanolic extract (EE) and 0.03g of petroleum ether extract (EEP), with a mass yield of 3.72% and 0.03% respectively. Each extract was analyzed with antibacterial, antifungal activity, and lethality assays against *Artemia salina* crustaceans; in addition, preliminary chemical tests were carried out, detecting the possible presence of flavonoids and alkaloids in the EEP; additionally, in the EE the possible presence of coumarins, alkaloids, tannis, and cardiotoxic glycosides was detected, confirming by IR-TF the functional groups, assignable to the families of compounds previously identified in the EE (the one with the greatest mass), which was fractionated by chromatographic column, obtaining 10 fractions (A - J). None of the extracts, nor the EE fractions, showed lethal activity against *A. salina*, and in the evaluation of antifungal activity no sensitivity of the organisms was evident. For the antibacterial tests, the strains *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Bacillus subtilis* were used. None of them showed sensitivity to the extracts, but fraction C showed activity against the majority of the bacteria tested, with halos of inhibition between 12 and 14mm. The IR-TF analysis was carried out on fraction C, observing that it retains the same functional groups present in the original extract. The EE was analyzed by GC – MS and the compounds Hexadecanoic acid ethyl ester, linoleic acid, Octadecadienoic acid ethyl ester, linoleic acid, Octadecadienoic acid ethyl ester, and Colestan-5-en-3-ol were identified,

Keywords: Secondary metabolites, blind snake, *Anguis fragilis*, Reptilia, *Squamata*

1 INTRODUCCIÓN

Los animales han biosintetizado un gran número de sustancias químicas a través de sus procesos evolutivos, muchas de estas sustancias tienen características químicas únicas, las cuales les permiten al animal responder frente a diferentes circunstancias del entorno, por ejemplo como defensas químicas ante determinadas agresiones ambientales y contra el ataque de depredadores naturales, por lo que actualmente muchos animales representan fuente de metabolitos bioactivos, de gran utilidad para la humanidad.

Muchos de los avances sobresalientes en este tema se realizaron en las últimas 4 décadas, racionalizando el origen químico de la célula primitiva, definida como una entidad y ancestro común universal, que también es el origen de la "maquinaria biosintética" productora de los productos naturales (Delgado y De Vivar, 2023).

En años recientes, se ha incrementado el interés en los productos naturales para la elaboración de nuevos medicamentos, siendo de muy útil para las farmacéuticas y la cosmetología.

La búsqueda de medicamentos naturales surge por el frecuente incremento de las enfermedades. El desarrollo de nuevos medicamentos constituye uno de los espacios de creación científica más estudiados en el mundo contemporáneo (Pérez *et al.*, 2022).

Estos estudios están basados en la Química de los Productos Naturales, la cual se refiere a la investigación en metabolitos secundarios o “metabolitos especiales” de fuentes naturales de origen vegetal, animal, marino, fúngico y bacteriano. Estos son justamente compuestos de interés porque poseen en su estructura química algunas subestructuras que son bioactivas en organismos animales, incluido el hombre (Pomillo, 2012).

El conocimiento químico de los metabolitos secundarios permite determinar el uso potencial de estas sustancias para diferentes fines farmacéuticos, así como determinar los tipos de análisis a los que se pueden someter estas sustancias (Martínez Martínez, 2020). Estos metabolitos son compuestos de estructura relativamente compleja, que se caracterizan por no intervenir en el crecimiento del organismo que los produce. En estado natural sus funciones se hayan ordenadas a la supervivencia de la especie, pero cuando los organismos que los producen se desarrollan en cultivo puro no desempeñan esa misión. Generalmente, se producen como una mezcla de sustancias muy relacionadas químicamente entre sí (Marcano y Hasegawa, 2002).

Desde tiempos ancestrales, se usan una gran cantidad de especies del reino animal y vegetal para tratar ciertas dolencias. Un ejemplo significativo es el caso de las comunidades mayas yucatecas, para quienes el uso de los animales se relaciona con sus atribuciones curativas, donde se aprovecha el cuerpo completo del animal o algunas partes; siendo muchas las especies de fauna silvestre con un aprovechamiento reportado en las comunidades mayas, que pueden conjuntarse acorde a los distintos grupos de vertebrados terrestres (Nahuat *et al.*, 2021). Además, también forman parte de las prácticas de medicina tradicional algunos insectos, como es el caso de *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae) (Fairm), mejor conocidos como “gorgojos chinos”, que han sido usados con éxito como medicina en terapias no convencionales, basado en su variado perfil de metabolitos, que tienen efecto bacteriostático contra *Klebsiella neumoneae* y un amplio espectro de acción antibacteriana, pues tiene también actividad frente *Staphylococcus aureus* (Moreno *et al.*, 2016).

En este sentido, las necesidades de algunas comunidades rurales de acudir a cuanto medio tengan a su alcance, para enfrentarse con éxito a la enfermedad y al dolor, les ha hecho recurrir al uso de los reptiles (Flores *et al.*, 2020). Estos son animales vertebrados de piel seca, queratinizada y gruesa. Por lo general, cubierta de escamas protectoras, como estrategia evolutiva para evitar su desecación, y la piel es mudada periódicamente. Algunas son netamente terrestres y otros pueden ser acuáticos. Existen alrededor de 9.547 especies en el mundo, clasificados en 4 órdenes: cocodrilos

(*Crocodylia*), lagartijas y serpientes (*Squamata*), tortugas (*Testudines*) y tuátaras (*Sphenodontia*) (Flores y García, 2013).

Así, muchas sustancias farmacológicas han sido aisladas de reptiles: la hormona Exendina 4, que reactiva el páncreas y estimula la secreción de insulina, para el tratamiento de la diabetes tipo II (Bértola, 2021), antídotos a base de venenos de serpientes que, al ser aplicados en las cantidades adecuadas, neutralizan la acción mortal de los venenos, alivian la otitis y fortalecen el sistema inmunológico humano (Jiménez *et al.*, 2022); el Captopril, nombre comercial de un fármaco, y componente aislado de veneno de serpiente, que inhibe la enzima que convierte la molécula Angiotensina I en II, la cual incrementa la acción vasoconstrictora, por lo que se usa para tratar la hipertensión arterial (Díaz-Gamboa, 2020). Así como la Cromatina, proteína aislada del veneno de Cascabel y que puede aumentar la expectativa de vida de pacientes con cáncer en la piel (Rangel *et al.*, 2016).

Una especie común en el oriente venezolano es *Anguis fragilis*, la cual es un reptil del orden de los escamosos (*Squamata*). En el género *Anguis* se reconocen dos especies, *Anguis fragilis* y *Anguis cephalonicus*; esta última tiene una distribución muy restringida y sus diferencias morfológicas con la primera son mínimas (Roca, 2017). En Venezuela es conocida como culebra ciega o morrona, y se usa para aliviar los dolores de huesos en seres humanos. De hecho, existe una crema mentolada a base de ron de culebra ciega la cual sirve para tratar diferentes tipos de dolencias, como reumas, fracturas de huesos, artritis, entre otras afecciones de la salud (Pereira y Valero, 2009).

Con base en lo expuesto, cobra importancia el estudio químico y de la bioactividad de la especie *A. fragilis*, la cual ha sido poco investigada en Venezuela. Aunado a la disponibilidad de esta culebra en el oriente de nuestro país, y al amplio uso que le da la población para combatir problemas óseos, esta investigación busca caracterizar metabolitos presentes en los extractos orgánicos del cuerpo completo de la culebra ciega *Anguis fragilis* y evaluar la actividad biológica de los extractos orgánicos de esta especie.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y tratamiento de muestras

Con técnicas manuales se colectaron 2 ejemplares de *A. fragilis*, pues se encuentran muy superficial. El muestreo fue realizado por trabajadores de campo en el Tigrito sector Barrio Sur, Municipio San José de Guanipa, Estado Anzoátegui, con ubicación geográfica de 8° 53' 00" Latitud Norte y 64° 09' 00" Longitud Sur. Uno de los dos ejemplares muestreados fue llevado al Departamento de Biología del Núcleo de Sucre de la Universidad de Oriente, para su identificación.

El espécimen fue identificado taxonómicamente por el prof. Óscar Chinchilla *M. Sc.* y posteriormente liberado en campo.

De acuerdo con el conocimiento folclórico, de quienes popularmente preparan y expenden el “ron de culebra”, esta se sumerge limpia en alcohol. De allí que, el otro ejemplar de *A. fragilis* fue lavado con agua destilada dentro del envase en el que se encontraba, asegurándonos que no quedaran restos de arena y organismos epífitos del mismo. Luego, fue secado con pinzas y algodón, hasta que el material quedara libre de humedad.

Obtención de los extractos y pruebas químicas preliminares

El ejemplar seco fue introducido en un contenedor de vidrio previamente esterilizado y pesado, la culebra se pesó con el envase de vidrio y seguidamente se maceró con 1L de etanol durante 3 semanas y luego se filtró el solvente, se repitió la maceración y extracción, asegurándose la completa extracción de los compuestos afines a este solvente, y se filtró nuevamente para unir los extractos. El extracto fue concentrado en un rotaevaporador marca Hildolph a 40 °C, obteniendo 20 mL del extracto etanólico (EE). De la misma forma se obtuvo el extracto en éter de petróleo (EEP), a partir del residuo de etanol. Una vez concentrado el material se trasvasó a viales previamente rotulados y pesados. Finalmente, se obtuvo la masa de los extractos hasta sequedad y fueron almacenados en un desecador.

La posible presencia de familias de metabolitos secundarios (Alcaloides, cumarinas, esteroides insaturados, tripterpenos pentacíclicos, fenilpropanoide, flavonoides, glicósidos cianogénicos y cardiotónicos, metilencetonas, polifenoles, sapononas, taninos y antraquinonas) se evidenció empleando ensayos analíticos húmedos, para ello se utilizaron reactivos certificados según la metodología descrita a continuación (Murillo y Méndez, 2007; Domínguez, 1973).

Separación de los extractos y análisis de las fracciones

El uso de diferentes técnicas de cromatografía (Cromatografía de columna con elución de gradiente, Cromatografía de capa fina analítica y Cromatografía de capa fina preparativa) nos permitió separar algunos de los compuestos químicos presentes en EE y EEP. Las estructuras de algunos de los metabolitos biosintetizados por *A. fragilis*, se identificaron mediante la técnica espectroscópica de infrarrojo (FT-IR) y espectrometría de masas (EM).

Evaluación de la bioactividad

Se realizaron pruebas a los extractos y las fracciones, de actividad letal frente al crustáceo *A. salina* (Meyer *et al.*, 1982), antibacteriana (Bauer *et al.*, 1996) y antifúngica (Madubunyi, 1995),

con la finalidad de determinar la posible actividad farmacológica de los metabolitos de la culebra ciega *A. fragilis* frente diferentes organismos en estudio.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos obtenidos presentaron una textura aceitosa y diferente coloración, el EE es de color amarillo intenso, y el EEP es amarillo pálido. De acuerdo con la coloración, los extractos presentan grupos funcionales con capacidad cromotófora, capaces de absorber energía en la región de UV-Visible, estos grupos funcionales pueden ser dobles enlaces aislados, dobles enlaces conjugados, átomos con pares de electrones libres entre otros, que hacen posible visualizar estos colores en los extractos (Moreno *et al.*, 2019).

La coloración más intensa del EE es atribuida a la presencia de metabolitos cromóforos, como los carotenoides en la piel de la culebra (Czeczuga, 2014), ya que estos compuestos son de la familia de los terpenos, constituidos por múltiples unidades de isoprenoides con un anillo de ciclohexano sustituido e insaturado en cada uno de los extremos.

Este esqueleto polieno (o cromóforo) puede ser modificado por ciclación de uno o ambos extremos, por cambios en el nivel de hidrogenación o por adición de grupos funcionales que contienen oxígeno. El rasgo más destacado de la estructura carotenoides es el largo sistema de enlaces dobles alternantes y simples que conforman la parte central de la molécula, constituyendo un sistema conjugado en el que los electrones π están deslocalizados a lo largo de toda la cadena poliénica. Por ello, los carotenoides tienen una forma molecular distintiva, con la propiedad de absorber luz; gracias a la presencia de 7 o más enlaces dobles conjugados que absorben luz visible, con colores que van del amarillo al rojo (Meléndez *et al.*, 2007).

La cadena poliénica de los carotenoides es altamente reactiva y rica en electrones, los carotenoides como grupo son extremadamente hidrofóbicos con poca o ninguna solubilidad en agua. Obviamente los grupos funcionales polares alteran la polaridad y afectan a las interacciones con otras moléculas, las cuales fueron arrastradas por el etanol, como ha ocurrido en otras investigaciones que utilizan mezclas de solventes con etanol para extraer carotenoides de fuentes naturales (Calderón y Vera, 2018).

Con respecto a los rendimientos y las masas de los extractos obtenidos, el EE presenta un mayor porcentaje de rendimiento (3.72 vs 0.03) y, por ende, una masa mayor que el EEP (3.65g vs 0.03g); esto indica que la mayor parte de las sustancias y pigmentos que posee la culebra son de naturaleza polar y, en consecuencia, solubles en el alcohol; mientras que se encuentran presentes pequeñas cantidades de compuestos de baja polaridad solubles en éter de petróleo. En general, los productos naturales terrestres presentan rendimientos muy bajos, ya que aproximadamente más del

70% de su composición es agua. Esto permite explicar los bajos rendimientos observados en la obtención de los extractos.

Análisis del extracto en Éter de petróleo

De acuerdo con las pruebas químicas preliminares, en el EEP fue detectada la posible presencia de flavonoides y alcaloides.

Resulta extraño encontrar flavonoides en este extracto, porque ellos corresponden al parecer, a los de mayor distribución en el reino vegetal; sin embargo, se han reportado flavonoides en otro tipo de organismos, como *Streptomyces griseus*, bacteria que codifica una proteína de gran similitud con la de las plantas. Los modelos microbianos son una herramienta excelente para la producción de metabolitos secundarios de plantas, pues se sabe que los microorganismos mimetizan el metabolismo de los mamíferos, plantas e insectos. Además de poseer sistemas enzimáticos similares a éstos, catalizan reacciones similares de importancia en metabolismo primario y secundario (Bravo *et al.*, 2023). De allí que, los metabolitos posiblemente presentes en el EEP de *A. fragilis* pueden ser propios de su metabolismo o adquiridos de las fuentes vegetales o bacterianas, con las que estaban en contacto durante su proceso de reproducción y crecimiento.

Además, este extracto es de baja polaridad y, a pesar de ello, se obtuvo este resultado positivo para metabolitos tradicionalmente polares, por lo que es probable que se trate de falsos positivos. Sin embargo, existen reportes de metabolitos tipo isoflavonas, como es el caso de la Rotenona, a partir de un extracto vegetal obtenido en éter de Petróleo (Rodríguez *et al.*, 2022).

Con respecto a los alcaloides, se debe considerar que son bases orgánicas por tener nitrógenos secundarios y terciarios formando ciclos, por lo que deben encontrarse en el organismo como sales, que durante el macerado pasan a bases libres y se pudieran extraer fácilmente con solventes poco polares, como diclorometano (CH_2Cl_2), cloroformo (CHCl_3) o éter etílico (Castillo *et al.*, 2021). De igual manera, los alcaloides pueden tener cadenas carbonadas que facilitan su solubilidad en solventes de baja o mediana polaridad, ya que existen reportes de la presencia de este tipo de metabolitos en extractos etéreos de fuentes naturales (Rodés *et al.*, 2015).

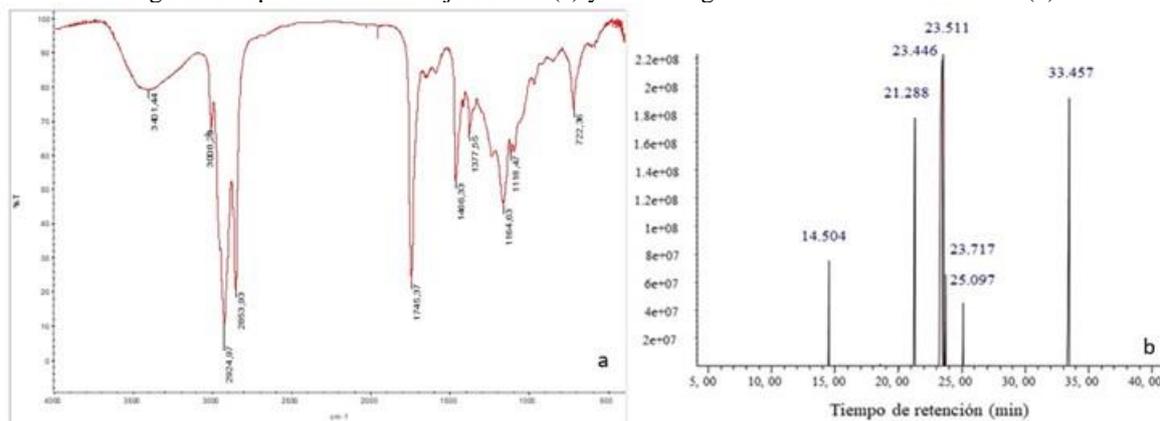
A pesar de la posible presencia de flavonoides y alcaloides en el EEP, el extracto no exhibió actividad biológica en las pruebas ensayadas, y tomando en cuenta su bajo porcentaje de rendimiento en la obtención, fue descartado.

Análisis del extracto en Etanol

En el EE fue detectada la posible presencia de cumarinas, alcaloides, taninos, y glicósidos cardiotónicos, confirmando por IR-TF los grupos funcionales (Figura 1a), asignables a las familias

de compuestos detectados, excepto los alcaloides; y se analizó mediante CG-EM (Figura 1b), identificando los compuestos Éster etílico del ácido hexadecanoico (21,288min), ácido linoleico (23,443min), Éster etílico del ácido octadecadienoico (23,719min), y el Colestan-5-en-3-ol (33,453min), correspondientes a los picos más significativos que fueron identificados mediante espectrometría de masas con un porcentaje de confianza $\geq 90\%$, haciendo uso de la Librería de Espectros NIST-05.

Figura 1. Espectro de infrarrojo del EE (a) y Cromatograma de iones totales del EE (b)



En el espectro de IR (Figura 1a) se muestran las vibraciones de los principales grupos funcionales de los compuestos en mayor proporción, observando dos señales intensas a 2924,97 y 2853,93 cm^{-1} , asignables al estiramiento de enlaces C-H sp^3 (alcano) y sp^2 (alqueno) no conjugados, y sus correspondientes sobretonos a 1466,33 y 1377,55 cm^{-1} que indica la presencia de grupos metílicos terminales, puesto que son bandas correspondientes a las deformaciones simétricas y asimétricas del grupo $-\text{CH}_3$, respectivamente. La señal de absorción a 722,36 cm^{-1} se debe a la deformación de los enlaces C-H de grupos metilenos continuos, $(\text{CH}_2)_n$ ($n > 4$). La absorción a 1745,37 cm^{-1} observada como una tensión intensa, es originada por el doble enlace C=O característico de los compuestos carbonílicos (cetonas, ésteres, aldehídos y ácidos carboxílicos).

Estas señales son características de alcanos, alquenos y ácidos grasos, así como de compuestos esteroidales, cuyas estructuras generales contienen enlaces C-H sp^3 (alcanos) y sp^2 (alquenos) no conjugados; e incluso pueden contener el grupo carbonilo (C=O) en sus cadenas sustituyentes.

Por otra parte, la señal ancha alrededor de 3401,44 cm^{-1} , podría indicar la presencia de un grupo N-H, lo cual es lógico si tomamos en cuenta que se obtuvo resultado positivo para alcaloides, quienes tienen el grupo N-H en su estructura, pero se descarta con la ausencia de señales intensas C-N sp^3 a 1200 cm^{-1} , C-N sp^2 a 1660 cm^{-1} y sp^3 a 200 cm^{-1} , por lo que la prueba de alcaloides corresponde a un falso positivo.

Sin embargo, esta misma señal ($\sim 3200\text{ cm}^{-1}$) corresponde al grupo O-H alcohólico o fenólico, confirmando el resultado positivo obtenido para glicósidos cardiotónicos, los cuales poseen en su estructura una parte esteroidal. En este espectro también se visualizan dos bandas a $1118,47$ y $1164,43\text{ cm}^{-1}$ correspondientes al alargamiento C-O. De acuerdo con el análisis del espectro de infrarrojo, este extracto puede estar constituido principalmente, por compuestos esteroidales.

A pesar de la presencia de estos metabolitos en el extracto etanólico, este no presentó actividad biológica; esto puede ser debido a que tiene una gran variedad de compuestos, de los cuales no se conocen todos sus constituyentes y menos la masa de cada uno de éstos en el mismo; causando que aquellas sustancias responsables de la actividad biológica, disminuyan el espectro de acción, probablemente por la poca concentración. Es decir que, además de la baja concentración, hay un efecto antagónico de los constituyentes químicos presentes en el mismo, en otras palabras, la sustancia original no podrá actuar ya que se combinan con otras sustancias químicas para bloquear esa acción, sin producir efecto.

Sin embargo, por los metabolitos identificados y la cantidad disponible del EE, éste se fraccionó en cromatografía de columna y se obtuvieron 10 fracciones (A - J), de las cuáles se evaluó nuevamente la actividad; ninguna de las fracciones del EE, mostró actividad letal frente a *A. salina*, y en la evaluación de actividad antifúngica tampoco se evidenció sensibilidad de los organismos, excepto la fracción C que se destaca porque tiene efecto antibacteriano frente a *S. tiphymurium*, *E. faecalis* y *B. cereus*, con halos de inhibición entre 12 y 14 mm, indicando que, de las cinco bacterias ensayadas, esta fracción inhibe el crecimiento total o parcial de tres microorganismos; por lo que se le realizó el análisis de IR-TF a esta fracción, observando que conserva los mismos grupos funcionales presentes en el extracto de origen.

Los resultados demuestran que *A. fragilis* presenta actividad antibacteriana, sobre especies Gram positivas y Gram negativas, a pesar de la diferencia que reside en las paredes celulares. Las bacterias Gram positivas tienen una pared gruesa que está casi toda compuesta de peptidoglicanos, ésta capa de peptidoglicanos en las bacterias Gram negativas es muy delgada y su capa más exterior está protegida por una membrana de moléculas de lipoproteínas, resistiendo los efectos de muchos tipos de antibióticos, porque es impermeable a éstos. Tal situación implica que las infecciones causadas por bacterias Gram negativas son muy difíciles de tratar (Guerra y Vilchez, 2023).

Debemos destacar que, la presencia de ésteres de ácidos grasos en la culebra, puede estar asociado a posibles funciones defensivas de *A. fragilis*, cuyo comportamiento ocurre también entre las plantas y los insectos (Vega-Robledo y Rico-Rosillo, 2019). Los ácidos grasos al igual que sus

ésteres metílicos, pudieran ser los responsables de la actividad antibacteriana observada en la fracción C, obtenida a partir de dicho extracto.

Sin embargo, se ha demostrado que la esterificación de los ácidos grasos insaturados causaba la pérdida de la actividad inhibitoria. La baja actividad antibacteriana de los ésteres de ácidos grasos se debe, a que el grupo carbonilo libre es necesario para dicha actividad; además que está relacionada con el tipo de bacteria (Espin y Soria, 2022). No obstante, los compuestos bioactivos se concentran en la fracción C, provocando que esta exhiba efecto antibacteriano amplio.

El mecanismo de la actividad antimicrobiana de los ácidos grasos es debido a la inhibición del transporte de membrana, lo que resulta en una carencia nutricional de las células. Algunos autores sugieren que los ácidos grasos son los inhibidores más efectivos frente a las bacterias Gram positivas, entre ellos los ácidos tetradecanoico y hexadecanoico son inhibidores efectivos de estas bacterias (Castillo *et al.*, 2010). Así mismo, se han reportado algunas investigaciones sobre la actividad biológica de ácidos grasos, donde se resalta la actividad antibacteriana y antifúngica de los ácidos oleico, láurico, palmítico y linoleico (Patiño *et al.*, 2020). Además, estudios realizados han demostrado que la buena actividad biológica del ácido linoleico que brinda protección a la salud (Del Carpio *et al.*, 2022).

Por otra parte, el colesterol (colestano-5-en-3-ol) identificado como metabolito de *A. fragilis*, es un esteroide de origen animal que cumple numerosas funciones metabólicas: constituye la estructura básica para la formación de las hormonas esteroideas, sustancias que regulan un gran número de funciones fisiológicas entre las que se encuentran el desarrollo sexual y el metabolismo glucídico, a partir de él también se forman las sales biliares que cumplen un rol importante en la digestión y absorción de las grasas en el tracto digestivo, posee importantes funciones regulatorias en el metabolismo intracelular de los ácidos grasos, y es, junto con los fosfolípidos, uno de los componentes más importantes de las membranas celulares. Otra de sus funciones más importantes es que es el precursor de la vitamina D esencial en el metabolismo del calcio (Ñaccha-Urbano, 2021).

En este sentido, el calcio interviene en funciones orgánicas diversas, tanto a nivel intracelular como extracelular. Entre las primeras podríamos mencionar su papel en la contracción muscular, en la actividad de la célula nerviosa, en los procesos secretores mediante exocitosis, incluyendo la secreción de hormonas, o en la activación de enzimas. Entre las funciones del calcio a nivel extracelular destaca, por ejemplo, su papel en la coagulación sanguínea, en el mantenimiento y estabilidad de las membranas celulares o en el de la integridad estructural de huesos y dientes (Rovira y Pons, 2022).

La vitamina D es la encargada de regular el paso del calcio a los huesos. Por ello sí la vitamina D falta, este paso no se produce y los huesos empiezan a debilitarse y a curvarse produciéndose malformaciones irreversibles: el raquitismo. La vitamina D tiene un papel importante en el mantenimiento de órganos y sistemas a través de múltiples funciones, tales como: la regulación de los niveles de calcio y fósforo en la sangre, promoviendo la absorción intestinal de los mismos a partir de los alimentos y la reabsorción de calcio a nivel renal. Con esto contribuye a la formación ósea, siendo esencial para el desarrollo del esqueleto (Gómez-Piña, 2020).

Con base en esto, es lógico que algunas poblaciones utilicen el “ron de culebra” elaborado con *A. fragilis* en etanol, ya que su contenido de colesterol, sumado al calcio ubicado en los sacos endolinfáticos del oído interno (Krmptic *et al.*, 2022) de la culebra; podrían estar ayudando a aliviar los síntomas de artritis, reumas, fracturas de huesos, entre otros tipos de dolencias.

Este primer aporte al conocimiento de la bioactividad y composición química de la especie *A. fragilis* proveniente del oriente venezolano, concluye que la especie es capaz de sintetizar compuestos bioactivos, pertenecientes a diferentes familias de metabolitos, los cuales le confieren a la culebra propiedades antibacterianas.

REFERENCIAS

- Bauer, A; Kirby A.; Sherris, J. y Turk, M., (1996). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathol.* 45 (4): 493-496.
- Bravo, J. L. G., Ramales, S. C., García, M. O. R., Sánchez, A. T., & De los Santos Bañuelos, G. (2023). Modelación de la cinética de reacción para la producción de polihidroxicanoatos microbianos mediante *Bacillus megaterium*. *Project Design and Management*: 89 – 105.
- Bértola, D. (2021). La naturaleza (ambigua) de las cosas. *Revista Médica de Rosario*, 87 (2), 106-107.
- Calderón, S., & Vera, E. (2018). Extracción de Carotenos de Cáscara de Mango (*Mangifera indica*) con mezclas de Solventes y Extracción Asistida. *Bionatura I* (1): 1 – 21.
- Castillo, D.; Lanza, J y Crescente, O. 2010. Identificación preliminar de algunos constituyentes del tallo de *Paullinia fuscescens* (Sapindaceae) y actividad biológica. *Avances en Química*, 5 (1): 57-61.
- Castillo, Ó. C., Mora, G. C., & Martínez, I. R. (2021). Identificación de alcaloides en corteza de uncaria tomentosa y discusión sobre su potencial farmacológico. *InvestFarma*, 1 (1).
- Czeczuga, B. (2014). Carotenoids in some parts of certain species of lizards. American Chemical Society (ACS). *Biochemistry & Molecular Biology*, 65B (4): 755-7.
- Del Carpio-Jiménez, C., Tapia Delgado, P., & Molleda Gutierrez, R. S. (2022). Contenido de ácidos grasos, propiedades fisicoquímicas y actividad antioxidante de los aceites de *Chenopodium quinoa* Willd y *Amaranthus caudatus* extraídos por fluidos supercríticos. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 88 (1), 39-51.
- Delgado, G., & de Vivar, A. R. (2023). *Temas selectos de química de productos naturales*. UNAM, Facultad de Química.
- Díaz-Gamboa, L. F. (2020). Serpientes venenosas en la península de Yucatán: conocerlas para respetarlas. *Bioagrobiencias*, 13 (2).
- Domínguez, X. (1973). *Métodos de investigación fitoquímica*. Limusa, México.
- Espín, C. R. M., & Soria, C. A. (2022). Ácidos grasos, actividad antioxidante y antibacteriana en extractos de verdolaga (*Portulaca oleracea*) Fatty acids, antioxidant and antibacterial activity in purslane (*Portulaca oleracea*) extracts. *Brazilian Journal of Development*, 8 (1), 6175-6192.
- Flores, O. y García, U. (2013). Biodiversidad de reptiles en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 84: 1-73.
- Flores, A. G., Martínez, R. M., & Ortiz, C. M. (2020). Riesgos del conocimiento tradicional de anfibios y reptiles de la Sierra de Montenegro. *Inventio*, 16 (38), 1-8.
- Gómez-Piña, J. J. (2020). Función de la vitamina D en la prevención de enfermedades. *Medicina Interna de México*, 36 (1), 68-76.
- Guerra, G. J., & Vélchez, A. R. (2023). *Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica*. Aula Magna.

Hernández Guance, S. N., Marino, L., Isern, D. M., Coria, I. D., & Irurzun, I. M. (2019). Flavonoides: aplicaciones medicinales e industriales. *Invenio*, 22.

Herrera-Fuentes, I. A., Quimis-Ponce, K. L., Sorroza-Rojas, N. A., García-Larreta, F. S., Mariscal-Santi, W., & Mariscal-García, R. E. (2017). Determinación de Taninos y Cumarinas presente en la planta tres filos. *Polo del Conocimiento*, 2 (7), 500-522.

Jiménez Canale, J., Velázquez Contreras, E. F., & Sarabia Sainz, J. A. (2022). El potencial farmacológico de venenos de serpientes de Sonora, México. *Epistemus (Sonora)*, 16 (33), 84-92.

Krmpotic, C. M., Loza, C. M., Zarza, R., Barbeito, C. G., & Parada, V. (2022). Sistema sensorial. *Libros de Cátedra*.

Madubunyi, I. I. (1995). Antimicrobial activities of the constituents of *Garcinia kola* seeds. *International journal of pharmacognosy*, 33(3), 232-237.

Marcano, D., & Hasegawa, M. (2018). Fitoquímica orgánica. UCV. Litopar. Caracas.

Martínez Martínez, A. (2020). Química de productos naturales.

Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 57(2), 109-117.

Meyer, B.; Ferrigni, N.; Putman, J.; Jacobsen, L.; Nichols, D. y McLaughling, J. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 45 (1): 31-34.

Moreno, S. M., Crescente, O., Malaver, B. H., Hernández, J. V., Muñoz, M., & Oliveros, M. J. (2019). Composición y actividad biológica de los extractos de *Ulomoides dermestoides* (Tenebrionidae) procesados bajo diferentes condiciones en Cumaná, estado Sucre. *FACSALUD-UNEMI*, 3(5), 03-16.

Murillo, E. y Méndez, J. 2007. Guía metodológica para la detección rápida de algunos metabolitos secundarios. Departamento de Química Facultad de Ciencias. Universidad de Tolima. Colombia.

Nahuat Cervera, P. E., Estrada Riaño, I. A., Peraza Romero, F., Uitzil Collí, M. O., Basora Dorantes, R. A., & Buenfil Morales, S. D. L. Á. (2021). Conocimiento y aprovechamiento tradicional de vertebrados silvestres en la comunidad maya de Zavala, municipio de Sotuta, Yucatán, México. *Estudios de cultura maya*, 57, 275-304.

Ñaccha-Urbano, J. J. (2021). Efecto de la masticación de *Erythroxylum coca* Lamarck (Coca) sobre los niveles de colesterol y triglicérido sérico en personas altoandinas. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 12 (1), 64-76.

Patiño, M., Nieto-Ramirez, I. J., Chegwin-Angarita, C., & Torres-Rojas, E. (2020). Actividad biocontroladora in vitro de macrohongos contra diferentes hongos fitopatógenos. *Acta Biológica Colombiana*, 25 (2), 265-279.

Pereira, C., & Valero, F. (2009). La comunidad indígena de El Paramito: creencias y prácticas en torno a la salud y la enfermedad. *Fermentum. Revista Venezolana de Sociología y Antropología*, 19 (56), 497-517.

Pérez, A. R. G., Rivero, V. K. F., González, Y. V. M., & Dávila, M. A. J. (2022). Impacto Económico y Social de productos naturales elaborados para prevenir y tratar enfermedades en tiempos de pandemia por coronavirus. Convención Internacional de Salud, *Cuba Salud*: 1-7.

Pomilio, A. B. (2012). Investigación en Química de Productos Naturales en Argentina: vinculación con la Bioquímica. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 46 (1), 73-82.

Rangel, G. B., Barberena, E. C., García, I. E. D., Zamora, E. H., Becerra, C. M., Cruz, L. F. S., ... & Alarcón, J. S. (2016). Memorias CONGRESO NACIONAL DE GENÉTICA 2016, Sociedad Mexicana de Genética. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 32.

Rovira, R. F., & Pons, I. F. (2022). Calcio, fósforo y magnesio. *Tratado de nutrición*, 2, 217.

Roca, V. (2017). Adición a la fauna de parásitos de reptiles saurios de la península ibérica. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 28 (2), 17-19.

Rodés Reyes, S., Peña Fuentes, D., & Hermosilla Espinosa, R. (2015). Tamizaje fitoquímico de extractos y tinturas al 20% de la raíz y corteza de *Dichrostachys cinerea* L.(Marabú). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20 (2), 156-166.

Rodríguez, L. R., Córdor Cuyubamba, E., & Reyna Pinedo, V. (2022). Aislamiento de la rotenona e identificación de esteroides en las hojas de Yawar Panga (*Aristolochia cf. Cauliflora* Ule. o *Aristolochia Didyma*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 88 (1), 25-38.

Vega-Robledo, G. B., & Rico-Rosillo, M. G. (2019). Tejido adiposo: función inmune y alteraciones inducidas por obesidad. *Revista alergia México*, 66 (3), 340-353.