



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”**



**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS
EXTRACTOS DE LA CORTEZA DE *Samanea saman* EN CEPAS DE
REFERENCIA INTERNACIONAL**

www.bdigital.ula.ve

Tesista:

Br. Carlos A. Heredia R.

CI: 26.577.959

Tutora: Dra. Rosa L. Aparicio Z.

Mérida, Mayo de 2023

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación está dedicado principalmente a mi núcleo familiar, gracias a ellos con su apoyo continuo e incondicional me dieron la fuerza física, económica y mental de estar donde estoy ahora, ayudándome siempre a alcanzar poco a poco mis metas y sueños. Seguidamente, le dedico este trabajo a la Universidad de los Andes que me permitió adquirir los conocimientos necesarios para lograr mis metas profesionales.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de los Andes por haberme aceptado, haber sido mi segundo hogar y formado como el profesional que siempre quise ser.

Al Instituto de Investigaciones “Dr Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”, a los Laboratorios de Micología y Actinomicetos por permitirme realizar la parte experimental de esta investigación.

A mi Tutora Dra. Rosa Aparicio por haberme aceptado como su tesista, por la paciencia, por su primordial ayuda para realizar este trabajo de investigación y por todo el apoyo y cariño recibido de su parte.

A las Profesores Alida Pérez, Clara Díaz, Ysbelia Obregón, Yndra Cordero y Alexander Moreno, y el Auxiliar de Laboratorio Emilio Salazar por la ayuda y el apoyo constante para que este trabajo fuese con la calidad que representa a mi querida universidad.

Al Ingeniero MSc. Jesús Velázquez de la Universidad Experimental de Guyana, por su valioso aporte al donar la corteza de la especie *Samanea saman*, para la realización de este trabajo de grado.

A mis padres, hermana y abuela que nunca dejaron de creer en mí y son la razón de mi fuerza, dedicación y constancia de mí día a día.

A mis amigos que me regalo la universidad, por su cariño, compañía, alegría, apoyo y ayudarme en los momentos en que más los necesitaba. Sin ustedes mi paso por esta universidad no hubiese sido igual.

A las madrinas de la XVI promoción de Licenciados en Bioanálisis, por todo el apoyo para que cada uno de nosotros cumpla sus sueños y metas.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
VEREDICTO	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	4
Planteamiento del problema.....	4
Justificación e Importancia de la Investigación	6
Objetivos de la investigación	8
Objetivo General.....	8
Objetivos Específicos	8
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	8
Alcances de la investigación	9
Limitaciones de la investigación	9
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	10
Trabajos previos.....	10
Antecedentes Históricos.....	12
Bases teóricas	15
Descripción de la familia Fabaceae.....	15
Composición química de la familia Fabaceae	16
Usos de la familia Fabaceae	17
Descripción del género <i>Samanea</i>	17

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Composición química del género <i>Samanea</i>	18
Usos del género del género <i>Samanea</i>	18
Descripción de <i>Samanea saman</i>	19
Distribución geográfica de <i>Samanea saman</i>	20
Composición química de <i>Samanea saman</i>	23
Usos de <i>Samanea saman</i>	24
Usos medicinales de <i>Samanea saman</i>	25
Productos Naturales.....	26
Biosíntesis de metabolitos secundarios.....	27
Compuestos alifáticos.....	28
Compuestos aromáticos	29
Flavonoides	30
Taninos.....	31
Quinonas	32
Antraquinonas	32
Cumarinas	33
Terpenos	34
Triterpenos	35
Saponinas	36
Alcaloides	37
Extractos vegetales	38
Extractos secos	39

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Extractos blandos	39
Extractos fluidos	39
Crioextractos	39
Análisis fitoquímico	41
Bacterias	43
Bacterias grampositivas	44
Bacterias grampositivas a ensayar	45
Bacterias gramnegativas.....	46
Bacterias gramnegativas a ensayar.....	46
Antibióticos.....	47
Resistencia bacteriana	48
Hongos	49
Género <i>Candida</i>	50
<i>Candida albicans</i>	51
<i>Candida krusei</i>	52
Micosis humanas	52
Antifúngicos	53
Métodos para determinar la actividad antimicrobiana.....	54
Método de dilución	54
Método de difusión	54
Definición operacional de términos	55
Biopelícula.....	55

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Droga.....	55
Eluir	55
Anamorfo	55
Teleomorfo	56
Hongo dimórfico	56
Saprophyto	56
Gemación	56
Concentración mínima inhibitoria.....	56
Inmunodeficiencia.....	57
Operacionalización de las variables	57
Sistema de hipótesis.....	59
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO.....	60
Tipo de investigación	60
Diseño de investigación	60
Población y muestra.....	61
Unidad de investigación.....	61
Selección del tamaño muestral	61
Sistema de variables	61
Instrumento de recolección de datos	62
Procedimientos de la investigación	62
Recolección del material vegetal	62

ÍNDICE GENERAL	Pág.
Obtención de los extractos de la corteza de <i>Samanea saman</i>	63
Análisis fitoquímico	63
Evaluación de la actividad antimicrobiana de la corteza de <i>Samanea saman</i>	65
Cepas de referencia internacional	66
Preparación de los Discos	66
Preparación de los Inóculos.....	66
Actividad antibacteriana.....	66
Actividad antifúngica.....	67
Diseño de análisis	68
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	69
Resultados	69
Análisis fitoquímico de <i>Samanea saman</i>	69
Actividad antimicrobiana de <i>Samanea saman</i>	73
Discusión	76
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79
Conclusiones	79
Recomendaciones	80
BIBLIOHEREMEROGRAFÍA	81

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Distintos nombres científicos de <i>Samanea saman</i>	21
Tabla 2. Algunos de los nombres comunes de <i>Samanea saman</i>	22
Tabla 3. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de la corteza de <i>Samanea saman</i>	58
Tabla 4. Operacionalización de la variable dependiente Actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de <i>Samanea saman</i>	59
Tabla 5. Características físicas de los extractos de la corteza de <i>Samanea saman</i>	69
Tabla 6. Resultados del análisis fitoquímico de los extractos de la corteza de <i>Samanea saman</i>	70

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructuras químicas de algunos flavonoides de la Familia Fabaceae	16
Figura 2. Estructuras químicas del género <i>Samanea</i>	18
Figura 3. Planta de la especie <i>Samanea saman</i>	19
Figura 4. Estructuras químicas de algunos compuestos de la especie <i>Samanea saman</i>	24
Figura 5. Estructuras químicas de algunos compuestos alifáticos presentes en especies vegetales	29
Figura 6. Algunos compuestos aromáticos presentes en especies vegetales	26
Figura 7. Estructura química de algunos flavonoides presentes en especies vegetales.....	30
Figura 8. Estructuras químicas de los taninos presentes en especies vegetales	31
Figura 9. Estructuras químicas de algunas quinonas presentes en especies vegetales	32
Figura 10. Estructuras químicas de algunas antraquinonas presentes en especies vegetales	33
Figura 11. Estructuras químicas de algunas cumarinas presentes en especies vegetales	34
Figura 12. Estructuras químicas de algunos terpenos presentes en especies vegetales	35
Figura 13. Estructuras químicas de algunos triterpenos presentes en especies vegetales	36

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 14. Estructuras químicas de algunas saponinas presentes en especies vegetales	36
Figura 15. Estructuras químicas de algunos alcaloides presentes en especies vegetales	38
Figura 16. Diferencias estructurales de la pared celular entre las bacterias grampositivas y gramnegativas.....	44
Figura 17. Geográfica de la Ciudad de Upata	62
Figura 18. Análisis fitoquímico de los extractos de la corteza de <i>Samanea saman</i>	71-72
Figura 19. Actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de <i>Samanea saman</i> frente a cepas de referencia internacional.....	74-75

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”



ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS
EXTRACTOS DE LA CORTEZA DE *Samanea saman* EN CEPAS DE
REFERENCIA INTERNACIONAL

Tesista:
Br. Carlos A. Heredia R.
CI: 26.577.959
Tutora: Dra. Rosa L. Aparicio Z

RESUMEN

La especie *Samanea saman*, es un árbol que está distribuido en la mayoría de los países, pertenece a la familia Fabaceae. Se le ha atribuido numerosos usos medicinales. La corteza fue recolectada en la ciudad de Uputa estado Bolívar. El objetivo de esta investigación fue confirmar la actividad antimicrobiana y la composición química de los extractos de la corteza de *Samanea saman* en cepas de referencia internacional. Los extractos de la corteza de hexano, acetona y etanol se prepararon mediante la técnica de extracción continua a reflujo. La composición química se determinó mediante el tamizaje fitoquímico. La actividad antimicrobiana se realizó mediante el método de difusión en agar. El resultado del tamizaje fitoquímico reveló la presencia de alcaloides, triterpenos, esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides y glucósidos cardiotónicos; la actividad antimicrobiana se evidenció frente a *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y *Candida krusei* a una concentración de 10 mg/mL y no presentó actividad sobre *Escherichia coli*. La concentración inhibitoria mínima se evaluó frente a *Candida albicans* y *Candida krusei* dando como resultado una inhibición de 9 y 8 mg/mL respectivamente. Este es el primer reporte de la actividad antimicrobiana y composición química de la Corteza *Samanea saman* del estado Bolívar-Venezuela

Palabras clave: Fabaceae, *Samanea saman*, actividad antimicrobiana.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, se han encontrado signos de infecciones por microorganismos en un gran número de fósiles de todos los periodos geológicos, por lo que no es desacertado intuir que las enfermedades infecciosas son tan antiguas como el origen de la vida misma y el ser humano, como las demás especies animales, han sufrido numerosas enfermedades infecciosas a lo largo de toda su historia evolutiva (Sánchez, 2021).

El término antibacteriano o antibiótico se refiere a cualquier sustancia química natural o semisintética que sea capaz de producir la muerte de las bacterias, o inhibir su multiplicación a pesar de que la bacteria permanezca con vida (Paredes y Roca, 2004). Su uso se ha vuelto muy común en la práctica clínica, ocasionalmente los médicos los recetan para procesos gripales o la profilaxis de una herida quirúrgica, además en muchos países aún se pueden adquirir sin prescripción médica; este uso indiscriminado de antibióticos han creado una tendencia de las bacterias a crear mecanismos de resistencia, actualmente originados y propagados por todo el mundo (Pachay, 2018).

Un antifúngico se define como un compuesto químico capaz de atacar la membrana y pared celular de los hongos al reconocer moléculas que la componen como la quitina, ergosterol y β -glucanos, provocando la muerte del hongo o la paralización de su reproducción (Arenas, 2014). En las últimas décadas ha aumentado preocupantemente la incidencia de infecciones causadas por hongos, aumentando su morbimortalidad anualmente; puesto que, desde la aparición de los antifúngicos en el siglo XX, no hubo mucho interés en profundizar en su síntesis y producción. Aunque, últimamente ha

aumentado significativamente la investigación en este tema, sobre todo desde la aparición del VIH SIDA (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Samanea saman, es un árbol de la familia Fabaceae, nativo de centro América y el norte de América del sur, actualmente distribuido en el trópico de todo el mundo. Es un árbol con muchas potencialidades y usos, además de poseer una alta adaptabilidad al clima y al suelo (Staples y Elevitch, 2006). La extracción es un proceso en el que se obtienen los principios activos provenientes de tejidos vegetales. Estos se consiguen en estado líquido, logrado a través de la utilización de solventes en procedimientos estándar, debido, a que durante dichos procedimientos el solvente difunden en el material general sólido y solubilizan los compuestos de polaridad similar (Prashant, Bimlesh, Mandeep, Gurpreet y Harleen, 2011).

Las razones que dieron origen a esta investigación están relacionadas a que históricamente el hombre siempre ha optado por el uso de plantas medicinales. Además, actualmente muchos de los fármacos contienen principios activos de origen vegetal que son de carácter irremplazable. Por otro lado, la mayor parte de la población no tiene acceso a medicamentos industrializados, optando por el uso de plantas medicinales (Fonnegra y Jiménez, 2007; Sharapin, Machado, Sousa, Rocha, Macedo y Lopes, 2000). *Samanea saman* posee una alta cantidad de sustancias bioactivas y propiedades nutritivas en sus diferentes partes, lo que lo convierte en una especie de interés farmacéutico y económico (Millián, Iglesias y Valdés, 2017). Así mismo, los métodos de extracción y tamizaje fitoquímico siempre han sido los más sencillos, económicos y confiables para realizar un análisis cualitativo de los extractos (Prashant y cols, 2011). Finalmente, el interés por la actividad antimicrobiana deriva de la posibilidad de ofrecer un tratamiento

alternativo que permita ofrecer soluciones para la creciente incidencia de infecciones causadas por bacterias y hongos.

El presente trabajo esta sistematizado por las normas de la Asociación Americana de Psicología (APA), organizada en capítulos, títulos y subtítulos. Mediante esta sistematización se podrá transmitir claramente la información necesaria para analizar los datos obtenidos en el estudio. Esta investigación será del tipo confirmatoria y en correspondencia su objetivo será confirmar la relación entre la actividad antimicrobiana y la composición química de los extractos de la corteza de *Samanea saman* en cepas de referencia internacional.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

La mayor parte de las enfermedades causadas en el humano se deben a la infección por microorganismos presentes en la flora habitual, cuando diseminan a zonas del organismo donde pueden causar un daño, generalmente en condición de inmunosupresión, aunque existen otros microorganismos de origen exógeno que al estar expuesto a ellos causaran enfermedad (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

En el caso de las bacterias anteriormente, se redujo considerablemente el número de muertes causadas en infecciones con el uso de antibióticos como tratamiento, incluso en infecciones nosocomiales, pero actualmente, es un problema de relevancia creciente en los hospitales debido a la presencia de pacientes de mayor edad y de más patologías crónicas como la diabetes mellitus, el cáncer, entre otros (Maguiña, 2016); además, el uso desmedido y amplio de los antibióticos ha provocado que las bacterias produzcan distintos mecanismos de resistencia, ocasionando infecciones más difíciles de combatir, obligando a que gradualmente se deban utilizar antibióticos más fuertes y costosos que son de uso hospitalario (Pachay, 2018).

Así mismo, el ser humano sano e inmunocompetente, generalmente posee inmunidad innata hacia las infecciones causadas por hongos, incluso hay micosis que son tan comunes como el resfriado común. Sin embargo, en situaciones donde la persona se encuentre inmunocomprometida, los hongos tanto endógenos como exógenos se pueden convertir en patógenos. Para

ello, los factores de virulencia más resaltantes corresponden a la termotolerancia, crecimiento sumergido, evitar la fagocitosis, mimetismo molecular, excreción de enzimas y la adhesión. Incluso, pueden producir alergias por la inhalación de sus esporas (Arenas, 2014).

En las últimas dos décadas los hongos se han convertido en un agente causal importante de enfermedades en el ser humano, y la lista de patógenos micóticos oportunistas y la morbimortalidad sigue aumentando cada año. Esto puede ser debido al aumento de pacientes inmunodeprimidos ya sea por el VIH, el paso de alguna enfermedad subyacente grave, quimioterapias o que se realicen numerosas técnicas invasivas (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

De igual manera, las opciones de tratamiento antifúngico han sido limitadas, a pesar de que a fines de 1980 con la introducción de los azoles y en 1990 con la nueva formulación de la anfotericina B, facilitaron el tratamiento de infecciones fúngicas. Pero, varios factores como la dificultad de diagnosticar micosis profundas, la posible disminución de la función inmune de los pacientes y la aparición de hongos resistentes son causa de preocupación, por lo que se propicia al desarrollo de nuevos antimicóticos (Bidart, 2004).

Lo anteriormente planteado expresa la necesidad del desarrollo de nuevos antibióticos y antifúngicos, dándole importancia a esta investigación debido a que no solo brinda la posibilidad de utilizar recursos naturales propios de nuestro país, sino que además puede proporcionar nuevas opciones terapéuticas a las infecciones micóticas de una forma rápida y económica. En consecuencia, de esta investigación deriva la siguiente interrogante:

¿Cuál será la relación entre la composición química y la actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman* en cepas de referencia Internacional?

Justificación e Importancia de la Investigación

El uso de plantas medicinales nació con el hombre, pues su empleo dio comienzo desde la prehistoria. En consecuencia, todas las culturas a lo largo de la historia han adquirido conocimientos de plantas u órganos vegetales. Incluso hoy en día, muchos principios activos y materias primas de los medicamentos convencionales de carácter indispensable e irremplazable son de origen vegetal. Por otra parte, los países en desarrollo contienen el 75 % de la población mundial, pero consumen menos del 15 % del mercado total de medicamentos. La mayoría de esta población no tiene acceso a medicamentos industrializados, por lo que el uso de plantas medicinales es el único recurso terapéutico disponible. Incluso en los países desarrollados la industria química farmacéutica tiene preferencia por sustancias naturales puras o sus derivados semisintéticos (Fonnegra y Jiménez, 2007; Sharapin y cols., 2000).

A su vez, *Samanea saman*, tiene un gran potencial, gracias a su alta cantidad de metabolitos secundarios en sus diferentes partes. Por lo tanto, posee propiedades nutritivas, bioactivas y medicinales, lo que lo convierte en una especie de interés farmacéutico y económico (Millián, Iglesias y Valdés, 2017).

También, existen actualmente técnicas avanzadas para determinar la naturaleza química de los metabolitos de las plantas, sin embargo se usan mucho los ensayos fitoquímicos tradicionales, debido a que es una forma confiable, económica y más sencilla de realizar un análisis cualitativo de los

extractos. Además se puede utilizar una amplia variedad de solventes que poseen baja toxicidad, acción conservante y no disocian las moléculas (Prashant y cols, 2011).

Otro aspecto importante son los métodos de actividad antimicrobiana. En el caso del método de difusión en discos es sencillo, de costo accesible, no requiere de un personal calificado para su uso y aunque cualitativo, brinda resultados confiables, lo que hace a este método útil, no sólo para los laboratorios de microbiología de instituciones altamente especializadas, sino también para laboratorios menos especializados (Llanes, Acosta, Sosa, Guzmán, Gutiérrez y Llop, 1999).

www.bdigital.ula.ve

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Confirmar la relación entre la actividad antimicrobiana y la composición química de los extractos de la corteza de *Samanea saman* en cepas de referencia internacional.

Objetivos Específicos

Obtener los extractos de la corteza de *Samanea saman* con el uso de solventes de distintas polaridades (hexano, acetona y etanol), mediante la técnica de reflujo.

Reconocer cualitativamente los metabolitos secundarios de los extractos de hexano, acetona y etanol de la corteza de *Samanea saman* mediante el análisis fitoquímico.

Determinar la actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman* mediante el método de difusión en agar con disco, en cepas de referencia internacional.

Evaluar la concentración mínima inhibitoria de los extractos de la corteza de *Samanea saman* a través del método de difusión en agar con disco, en cepas de *Candida albicans* ATCC y *Candida krusei* ATCC.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Según Hurtado (2000) los alcances y limitaciones hacen referencia al grado de aplicabilidad de la investigación. En ese sentido, los alcances implican explicar de manera precisa y clara hasta donde llegará el estudio, que tan confiable es y aspectos relevantes bajo el punto de vista

metodológico. Por otra parte, las limitaciones refieren a elementos o situaciones que impidan la óptima realización del trabajo de investigación, la obtención de los datos o expresión de los resultados propiamente.

Alcances de la investigación

Los alcances de esta investigación se relacionan con la riqueza en la información obtenida gracias a la revisión de la literatura, por lo que valió la pena realizarla. Además, la investigación permitió confirmar la relación entre la composición química y actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman* en cepas de referencia internacional, lo que podría ser abreboza de una línea nueva de medicamentos.

Limitaciones de la investigación

Una de las limitaciones es con respecto al transporte de la muestra desde el Estado Bolívar hasta el Estado Mérida, donde serán procesadas. Otras pueden ser las fallas constantes del suministro de energía eléctrica, agua, en dificultad con el transporte público, limitaciones técnicas por la escasez y altos costos de reactivos y del material para elaborar la parte experimental, así como la adquisición del agar Müeller Hinton con el que se analizará la actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman*.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Moreno, Ramírez y Cedeño (2021), publicaron un trabajo de investigación llamado: Evaluación del efecto antagónico de una biopelícula con extractos de *Samanea saman* frente a *Colletotrichum gloeosporioides* responsable de la antracnosis en mango. El objetivo de esta investigación fue analizar el efecto antagónico de una biopelícula con extractos de *Samanea saman* frente a *Colletotrichum gloeosporioides*, obteniendo los datos mediante extractos etanólicos (EE) e hidroetanólicos (EHE) de corteza y metanólicos (EM) del fruto de *Samanea saman* y luego fueron evaluados *in vitro* mediante el método de difusión en pozo frente al hongo patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*, además se determinó cualitativamente la presencia o ausencia de metabolitos secundarios de interés antagónico para el hongo, dando como resultado que solo el extracto metanólico mostró una actividad inhibitoria mínima significativa (140 $\mu\text{L}/\text{mL}$) en crudo, con una inhibición del 50 % del crecimiento (IC_{50}) a 81,85 $\mu\text{L}/\text{mL}$, pero al aumentar su concentración a 200 $\mu\text{L}/\text{mL}$, se consiguió una respuesta inhibitoria considerablemente mayor. En el tamizaje fitoquímico del extracto metanólico, hubo presencia de alcaloides, glucósidos, esteroides, terpenoides, saponinas, taninos y resinas. Así mismo en el extracto etanólico mostró únicamente presencia de esteroides, terpenoides y saponinas, y en el extracto hidroetanólico esteroides, saponinas y resinas. Como conclusión, el extracto metanólico del fruto de *Samanea saman* obtuvo los mayores compuestos de interés para inhibir el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Por otra parte, Hait, Kashyap, Deepak y Patel (2020), realizaron un trabajo de investigación titulado: Aislamiento de componentes bioactivos de la flor de *Samanea saman*. El objetivo de esta investigación fue analizar los compuestos bioactivos de los extractos de las flores de *Samanea saman*, para ello se secaron las flores a la sombra y se molieron hasta formar un polvo grueso, luego se obtuvieron los extractos con diferentes solventes como el éter, cloroformo, acetato de etilo, acetona, metanol, etanol y agua empleando la técnica de extracción de Soxhlet, después se recuperaron los solventes para la concentración de los extractos mediante el uso de un rotavapor; para el análisis fitoquímico cualitativo se emplearon métodos estándares para los distintos metabolitos secundarios. Se reveló la presencia de flavonoides, saponinas, terpenos, taninos, carbohidratos, glucósidos y compuestos fenólicos en los extractos, concluyendo que los metabolitos secundarios de las flores de *Samanea saman* indican un potencial de esta planta como fuente de medicinal y de interés farmacéutico para futuras investigaciones.

Finalmente, Thein, Khaing y Myint (2019), realizaron un trabajo de investigación que se tituló: Investigación de compuestos bioactivos de la corteza de *Samanea saman* (Jacq.) Merr (Thinbaw - Kokko). El objetivo de esta investigación fue analizar la composición química y la capacidad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman* (Jacq.) Merr, para lograrlo, se obtuvieron los extractos con etanol al 95 % a través del método de percolación, para realizarle distintos ensayos fitoquímicos y para la actividad antimicrobiana, se obtuvieron extractos con *n*-hexano, cloroformo, acetona, acetato de etilo, etanol y agua, utilizando el método de difusión en pozos de agar sobre las cepas de referencia de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus pumilus*, *Candida albicans* y *Escherichia coli*. Se reveló que los extractos con etanol al 95 %

tenían la presencia de alcaloides, terpenos, esteroides, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, glucósidos y taninos, además de la ausencia de flavonoides. Por otro lado, se obtuvo que el extracto con cloroformo dio una alta actividad inhibitoria en el crecimiento de las seis cepas evaluadas, con halos de inhibición de 20 – 28 mm respectivamente. Como conclusión, los extractos de la corteza de *Samanea saman* (Jacq.) Merr poseen una rica variedad de compuestos de secundarios, además de tener una alta capacidad de inhibir el crecimiento microbiano.

Antecedentes Históricos

A través del tiempo, todas las culturas han adquirido conocimientos acerca de las plantas y sus partes para el uso medicinal, aun en los documentos más antiguos, hechos aproximadamente hace 6000 años, describen su uso. Las antiguas culturas de los valles Tigris y Éufrates desarrollaron interés en conocer y transmitir las propiedades curativas de las plantas, generando en la cultura egipcia una verdadera escuela de medicina independiente de las creencias religiosas. Hasta el siglo XVIII se conocía las propiedades y modo de aplicación de las plantas para uso medicinal, aunque se desconocían sus principios activos, pero con la aparición de las teorías de la evolución y herencia genética, además del uso del microscopio y el nacimiento de ciencias como la fitoquímica, se logró el reconocimiento y aislamiento de muchos de los principios activos de las plantas medicinales. Abriendo así la posibilidad de sintetizar en un laboratorio dichos principios activos para su uso posterior en la creación de medicamentos químicos (Fonnegra y Jiménez, 2007).

A través del origen de la humanidad, esta ha sido azotada por muchas epidemias y pandemias durante siglos, donde al principio se consideraba que eran causadas por espíritus malignos indignados, creando la llamada teoría

teúrgica de la enfermedad; luego, para los años 460-370 a.C. Hipócrates suplantó esta teoría con la teoría miasmática, en la que la enfermedad se relacionaba con el suelo, agua o el aire y que los cambios de temperatura, humedad y los vientos jugaban un papel esencial; pero fue realmente en el renacimiento donde la ciencia permitió que se dieran los avances para empezar a comprender sobre el origen y contagio de las enfermedades (Divo, 1977).

En el siglo XVII, se logró descubrir los microorganismos gracias a invención de los microscopios, donde destaca Anton van Leeuwenhoek (1632-1723), quien creó un lente tallado y pulido capaz de amplificar el campo aproximadamente 200 veces, gracias a ello, fue la primera persona en observar microorganismos, protozoos en agua de los canales y zanjas, y bacterias en el agua de lluvia estancada, llamando a los microorganismos como “animáculos”, además descubrió que las bacterias tratadas con vinagre o calentadas a altas temperaturas morían inmediatamente (Carpenter, 1979). Casi 100 años después, Otto Müller organizó las bacterias en géneros u especies, después en 1840 Friedrich Henle propuso criterios para demostrar que los microorganismos eran los responsables de algunas enfermedades en el ser humano, creando la “teoría de los gérmenes”; posteriormente, en las décadas de 1870 y 1880 Robert Koch y Louis Pasteur confirmaron esta teoría gracias al empleo de elegantes experimentos, demostraban que los microorganismos eran responsables de enfermedades como el carbunco, la rabia, el cólera y la tuberculosis (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Asimismo, los hongos han convivido con nosotros desde siempre sin percatarnos y su influencia ha sido muy notoria en la farmacéutica, química y medicina. Inclusive, forma parte de la historia de las religiones y se han creado muchos mitos y leyendas en base a ellos. Los yacimientos donde se

ha podido recolectar muestras de hongos son pocos, debido a que son organismos muy sensibles a los cambios. Sin embargo, se han podido plantear hipótesis de su utilidad debido a que existen representaciones graficas en pinturas rupestres, cerámicas, murales o esculturas. Por lo tanto, se sabe que la relación entre hongos y humanos remonta desde el mesolítico, debido a datos y análisis en Endigen, Alemania. Allí, durante una excavación se consiguieron restos del conocido hongo *Fomes fomentarius*, que resultan de hace 11.555 ± 100 años atrás (Becerra, 2004).

El inicio del descubrimiento de los antimicrobianos comenzó en el siglo XX con Paul Ehrlich quien descubrió el primer antibiótico, un compuesto efectivo contra *Treponema pallidum*, agente causal de la sífilis; después en 1928 Alexander Fleming descubrió la penicilina producida por el hongo *Penicillium notatum*, en 1935 se descubrió sulfanilamida por Gerhard Domagk y el descubrimiento de la estreptomocina por Selman Waksman en 1943 (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Del mismo modo, Los primeros antifúngicos aparecieron alrededor del año 1900 con el uso del yoduro potásico en el tratamiento contra la esporotricosis. El primer agente con actividad antifúngica, la griseofulvina, que fue aislado en 1939, seguido del primer antiiazol en 1944 y el primer polieno antifúngico en 1949. Pero, no fue hasta 1958 que la griseofulvina estuvo disponible para uso clínico en forma de clormidazol, y luego en 1960 aparece la anfotericina B, que aun en la actualidad, es este el antimicótico “Gold estandar” para el tratamiento de micosis sistémicas graves. Pero, la anfotericina B es altamente nefrotóxico, de hecho el 30 % de los pacientes luego de su uso sufrían posteriormente enfermedades renales crónicas. Luego, en general, se desarrollaron más antifúngicos de uso tópico y sistémico, hasta que en la década de los 90 aparecieron los triazoles, el

primer antifúngico oral de amplio espectro. En conclusión, la creación de antimicóticos a través de la historia fue bajo y lento, debido a que fue opacado por el desarrollo de antimicrobianos desde el descubrimiento de la penicilina. Pero, eso cambió luego de la aparición del VIH sida, debido a aumento la ocurrencia de enfermedades fúngicas graves (Sheeran, Hitchcock y Sibley, 1999; Allevato, Negroni y Galimberti, 2007).

Anteriormente, *Samanea saman* para el año 1800 fue descrito inicialmente con material sudamericano por Jacquin, llamándolo *Mimosa saman*, y a partir de allí fue transferido el género por diferentes autores a *Pithecolobium*, *Calliandra*, *Albizzia* y *Enterolobium* respectivamente debido a sus diferentes puntos de vista con respecto a sus características físicas, posteriormente el nombre de *Pithecolobium saman* consiguió ser el más aceptado para aquel entonces (Merrill, 1916).

www.bdigital.ula.ve

Bases teóricas

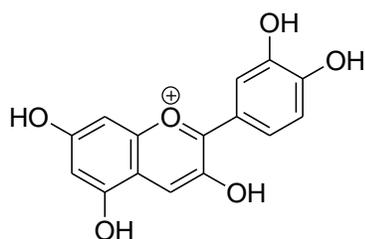
Descripción de la familia Fabaceae

Conocidas también como leguminosas, engloba 700 géneros y 20000 especies de todas formas y tamaños, siendo la tercera familia de plantas más amplia del mundo detrás de las orquídeas (Orchidaceae) y las Asteráceas (Asteraceae). Además, abarca una amplia distribución geográfica, desde bosques tropicales hasta desiertos, y de tierras bajas hasta las montañas más altas, incluso existen especies acuáticas (Doyle y Luckow, 2003). La característica principal que distingue a las legumbres es la producción de un fruto llamado legumbre, cuyas semillas se consumen en seco. En la botánica, se conoce como legumbre a una vaina seca, dehiscente, pluriseminada, que en su madurez se abre en dos líneas correspondientes a la sutura y al nervio central (Llamas y Acedo, 2016).

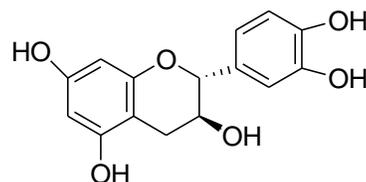
Composición química de la familia Fabaceae

Las leguminosas se caracterizan por contener en sus granos un alto contenido proteico, donde su fracción más abundante son las globulinas, relativamente pobres en aminoácidos azufrados, pero con contenidos de lisina superior a lo de los granos de los cereales. También, contienen hidratos de carbono como el almidón, un bajo contenido lipídico, galactooligosacaridos, minerales como el calcio, hierro y zinc, y además, un elevado contenido de fibra (Alonso, Rovira, Vegas y Pedrosa, 2010). Esta familia se le han encontrado aceites esenciales en flores, frutos (Pereira, Oliveira, Martins, Cruvinel y Sousa, 2020) y hojas (Matulevich, Castrillón, Chivita y Flores, 2017). Se han aislado a partir de extractos de la pulpa, hojas, semillas y raíces, compuestos bioactivos como las procianidinas (1) y catequina (2) (figura 1), que pertenecen a los flavonoides; también se ha reportado la presencia de alcaloides, taninos, fenoles, triterpenos, ácidos grasos, saponinas y esteroides (Komakech, Yong-goo, Motlalepula y Youngmin, 2019). Incluso, los extractos metanólicos y acuosos de material vegetal secado al aire, poseen además, esteroides y quinonas (Rosado, Brito, Mena, Quintero y Flores, 2000).

Figura 1. Estructuras químicas de algunos flavonoides de la Familia Fabaceae.



Procianidinas (1)



Catequina (2)

Tomada y modificada de Komakech, y cols., 2019.

Usos de la familia Fabaceae

Anteriormente, en el paleolítico ya el hombre y los animales hacían uso de esta familia debido a que sus semillas y frutos son muy nutritivos. Actualmente, se utilizan como forraje o especie pascícola. Sus raíces albergan relación con bacterias fijadoras de nitrógeno, lo que les permite crecer y desarrollarse en suelos sin muchos nutrientes, además fertilizan el suelo, permitiendo así el cultivo posterior de otras especies de plantas (Llamas y Acedo, 2016). Económicamente, las leguminosas son la segunda familia más importante para el cultivo después de la familia Poaceae, representa el 27 % de la producción agrícola mundial, correspondiente al 33 % de la proteína consumida por los seres humanos; incluso los pastos y las leguminosas forrajeras son parte vital de la dieta de los animales (Koenen, Vos, Atchison, Simón, Schrire, de Sousa, de Queiroz y Hughes, 2013). Distintas fuentes han reflejado que el uso medicinal de esta familia es muy variado, se le atribuyen propiedades para detener la diarrea, control de la diabetes, abrir el apetito (Degen y González, 2014), aliviar el dolor estomacal, desinflamante hepático, renal e intestinal, vermífugo (Galán y Sánchez, 2013), actividad antibacteriana, antifúngica, analgésica, antipirética y efecto citotóxico (Pino, Prieto, Pérez y Molina, 2004), actividad antiinflamatoria y analgésica (Komakech y cols, 2019).

Descripción del género *Samanea*

Previamente conocida con el género *Albizia*, son nativas del neotrópico, y especies como *Samanea tubulosa* son endémicas en América del Norte y del Sur, además, otras especies como *Samanea saman* y *Samanea inopinata* son oriundas de la cuenca del Amazonas y zonas andinas. En general, se distribuyen ampliamente, desde México hasta Perú y

Brasil, también han sido introducidas en Australia, África, sur y suroeste de Asia e islas del Pacífico (Paula, 2014).

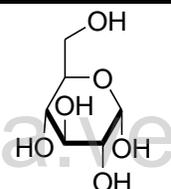
Composición química del género *Samanea*

Las diferentes especies del género *Samanea* se le han encontrado en extractos de diferentes partes, compuestos como esteroides, alcaloides, fenoles, flavonoides, flavonas, saponinas, taninos, terpenoides, glucósidos cardiacos, ácido gálico (3), iridoides, carbohidratos como glucosa (4) y sacarosa, ácidos grasos y fitoesteroles (figura 2) (Paula, 2014).

Figura 2. Estructuras químicas del género *Samanea*.



Ácido gálico (3)



Glucosa (4)

Tomada y modificada de Paula, 2014.

Usos del género del género *Samanea*

Poseen un potencial paisajístico debido a sus llamativas flores, pudiéndose plantar en plazas, parques y jardines. Amplios usos en la medicina tradicional en cuanto a estreñimiento, diarrea, dolor de cabeza, garganta y estómago. Madera densa y duradera, apta para construcciones. Las propiedades antibacterianas, antioxidantes, citotóxicas y antiulcerogénicas son las más estudiadas en este género, donde se ha encontrado buena actividad, dándoles un alto potencial fármaco-biológico (Paula, 2014).

Descripción de *Samanea saman*

Es un árbol que generalmente alcanza los 15–25 m, con una corona grande y ancha característica en forma de paraguas de 30 m de diámetro, de tronco corto y robusto de 1–2 m aproximadamente. Se adapta a una amplia variedad de suelos, las sequías y niveles de pH y crece moderadamente rápido, entre 0,75 y 1,5 m/año. Sus hojas son de color verde brillante, compuestas, alternadas, bipinnadas (3 a 9 pares), con 6 a 16 folletos en forma diamantada, de 2 - 4 cm de largo y 1 - 2 cm de ancho, y se pliegan durante la noche. Está compuesta por vainas maduras, que son de color marrón oscuro, rectas o ligeramente curvadas, de 10 - 20 cm de largo y 15 - 19 mm de largo, están llenas de una pulpa marrón dulce y comestible, indehisciente y contiene 10 - 20 semillas de forma oblongo-elipsoide, lisas, de 8 - 11,5 mm de largo, 5 - 7,5 mm de ancho y ligeramente aplanadas (Staples y Elevitch, 2006; Schmidt, 2008). En arboles maduros la corteza oscila entre color gris parduzco y gris oscuro, ásperas y agrietadas longitudinalmente, que se desprende en piezas escamosas irregulares o rectangulares (figura 3) (Maldonado, 1998).

Taxonomía

Dominio: Eukaryota.

Reino: Plantae.

Filum: Tracheophyta.

Clase: Magnoliidae.

Orden: Fabales.

Familia: Fabaceae.

Subfamilia: Mimosoideae.

Género: *Samanea*.

Especie: *Samanea saman*

(Benavides, 2017).

Figura 3. Planta de la especie *Samanea saman*



Tomada y modificada de Staples y Elevitch, 2006.

Distribución geográfica de *Samanea saman*

Samanea saman es nativo de la parte norte de Suramérica, Centroamérica y las islas del Caribe, aunque ahora está distribuido en la mayoría de los países, sobre todo en el trópico (Schmidt, 2008). Es parte de los bosques perennifolios, estacionalmente secos y particularmente de la sabana (Cisneros, 2018). Fue distribuido ampliamente en el mundo debido a sus diversos usos, en general es utilizado como árbol de sombra para parques, patios escolares, carreteras y sembradíos de café, cacao y nuez moscada. En América Central, se utilizaba su madera para hacer ruedas de las carretas de bueyes y en la isla de Hawái fue la base de la industria maderera después de la segunda guerra mundial (Staples y Elevitch, 2006), también, en Venezuela, *Samanea saman* ha traído un gran porcentaje de ingresos al país, siendo una de las especies maderables más importantes (Moret, Ortiz, Pérez, Quijada y Jerez, 2007). Además, en América Latina se utiliza la pulpa de las vainas para hacer una bebida dulce, su corteza y hojas para curar la diarrea en Filipinas, las semillas se mastican para el dolor de garganta en las Antillas, entre otros usos. En las tablas 1 y 2 se mencionan los nombres científicos y comunes de la especie *Samanea saman* (Staples y Elevitch, 2006).

Tabla 1. Distintos nombres científicos de *Samanea saman*

Nombre Científico Preferido
<i>Samanea saman</i> (Jacq.) Merr
Otros Nombres Científicos
<i>Albizia saman</i> (Jacq.) F. Muell.
<i>Calliandra saman</i> (Jacq.) prain ex King
<i>Enterolobium saman</i> (Jacq.) Kuntze
<i>Inga saman</i> (Jacq.) Willd.
<i>Mimosa saman</i> Jacq.
<i>Pithecellobium saman</i> (Jacq.) Benth.
<i>Zygia saman</i> (Jacq.) A. Lyons

Tomada y modificada de CABI, 2020.

Tabla 2. Algunos de los nombres comunes de *Samanea saman*

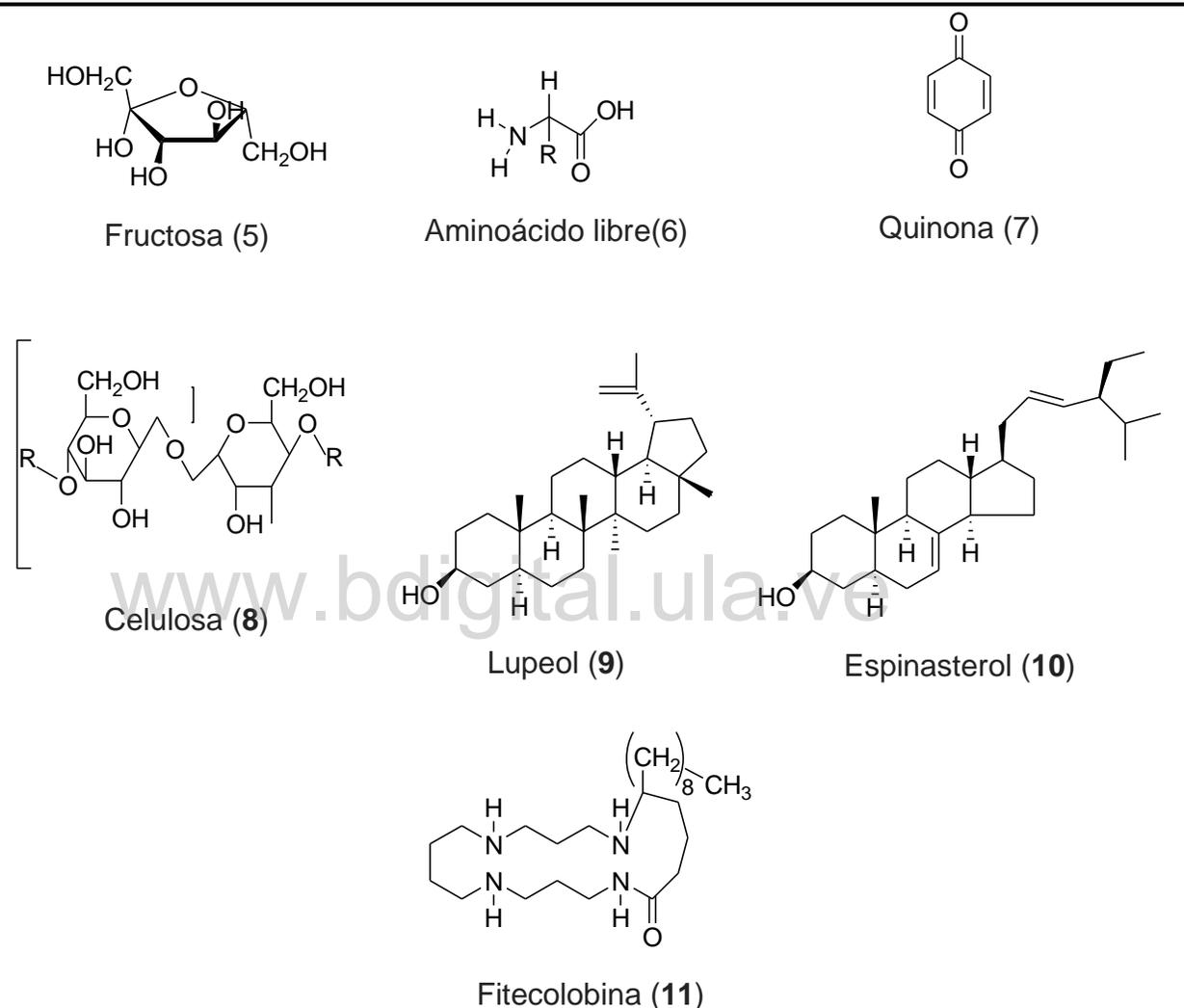
País	Nombre Común
Colombia	Campano; genízaro; samaguare
Cuba	Algarrobo; algarrobo del país
Francia	Abre de pluie
República Dominicana	Guanegoul
Alemania	Regenbaum
Granada	Coco tamarind; cow tamarind
Guyana	French tamarind
Haití	Guanegoul; samán
India	Belati-siris; guango; majhamaram; thoongh moonjii
Indonesia	Dutch tamarind; kihujan; mungur; slubin; trembesi
Italia	Albero delle pioggia
Jamaica	Guango
Perú	Huacamayo chico
Tailandia	Monkey pod
Estados unidos	Giant thibet; licorice
Puerto Rico	Crow bean tree; dormilón; giant thibet; guango
Países Bajos	Regemboom
Venezuela	Campano; carabelí; coují, lara; uero; samán

Tomada y modificada de CABI, 2020.

Composición química de *Samanea saman*

Entre las sustancias que componen los metabolitos hallados en la corteza, flores, frutos verdes y secos, y forraje verde y seco de *Samanea saman*, se encuentran los taninos, saponinas, carbohidratos como la fructosa (5), flavonoides, mucilago, cumarinas, aminoácidos libres (6), fenoles, quinonas (7) y alcaloides (Millián, Iglesias y Valdés, 2017). A su vez, el forraje verde contiene hemicelulosa (8) ($17,5 \pm 3,7$ %), celulosa ($10,5 \pm 2,5$ %), lignina ($11,1 \pm 1,8$ %), proteína bruta ($20,1 \pm 1,5$ %), extracto etéreo o grasa bruta ($5,3 \pm 0,8$ %), calcio ($1,3 \pm 0,2$ %), fenoles y taninos (Ojeda, Barroso, Obispo, Gil y Cegarra, 2012). También, en las vainas se relató que existen 34,37 % de fibra detergente neutro, 25,06 % de fibra detergente ácido, 16,08 % de proteína cruda y ácidos grasos volátiles (Hernández, Sánchez, Torres, Herrera, Rojas, Reyes y Mendoza, 2018). En el forraje, fruto y semillas se han encontrado desde 16,1 % a 27,5 % de proteínas crudas, 29,6 % a 46,3 % de fibra detergente neutro, 23,2 % a 33,2 % de fibra detergente ácida y 0,6 % a 1,0 % de extracto etéreo o grasa bruta (Palma y González, 2018). Las cenizas pueden contener 2,84 % de fósforo, 11,33 % de potasio, 1,93 % de magnesio y 21,19 % de calcio (Bonilla y Córdoba, 2021). Además se han encontrado el lupeol (9), α -espinasterol (10) y el fitecolobina (11) (figura 4) (Vinodhini y Rajeswari, 2018).

Figura 4. Estructuras químicas de algunos compuestos de la especie *Samanea saman*



Tomado y modificado de Millian, Iglesia, Valdés, 2017; Ojeda y cols., 2012.

Usos de *Samanea saman*

El samán es utilizado principalmente como árbol de ornamental de sombra para sitios públicos, jardines y plantaciones de café, nuez moscada, vainilla y cacao (Staples y Elevitch, 2006), e incluso para los potreros donde

hay animales de interés productivo, además les sirven como alimento alternativo en épocas de sequía, gracias a que produce una considerable biomasa comestible, constituida por cantidades de proteína bruta superiores al 20 %, lípidos, carbohidratos solubles y minerales en su forraje y frutos (Delgado, Hera, Cairo y Orta, 2014). Así mismo, se ha comprobado que las vacas que consumen sus frutos molidos aumentan su peso, producción de leche y presenta un efecto positivo en el porcentaje de preñez (Roncallo, Torres y Sierra, 1999). Sirve de refugio y alimento para animales salvajes; en América Latina inclusive el humano consume directamente la pulpa dulce sus vainas o se elabora con ella un jugo dulce. En Hawái sus semillas son utilizadas para la fabricación de collares y artesanías, y se puede producir miel del néctar de sus flores, aunque no es un producto comercial (Staples y Elevitch, 2006). La madera es dura, duradera y fácil de trabajar, por lo tanto es buen material para la construcción de armarios, implementos para el hogar y de construcción (Schmidt, 2008). Así mismo, en Filipinas es utilizada para la tornería y las fibras de la madera se usan para hacer papel (Staples y Elevitch, 2006).

Por otro lado, las raíces del samán poseen una relación simbiótica con bacterias de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* que ayudan a la fijación de nitrógeno en el suelo, fertilizándolo y favoreciendo el crecimiento de nuevas plantas (Staples y Elevitch, 2006), también las raíces están relacionadas con 10 especies del género *Pseudomonas* que son capaces de disminuir la contaminación del suelo con petróleo crudo, debido a que pueden degradar los hidrocarburos (Mayz y Manzy, 2017).

Usos medicinales de *Samanea saman*

Al samán se le ha atribuido numerosas funciones para fines medicinales, en correspondencia a sus variados compuestos químicos

aislados de las distintas partes del mismo. Staples y Elevitch (2006), exponen que se le confieren diversos remedios caseros como el uso de la corteza hervida para curar el estreñimiento, consumir la corteza y las hojas frescas para controlar la diarrea, masticar las semillas para aliviar el dolor de garganta y las raíces se hierven y se usan como baño caliente para el cáncer de estómago. Además, se conoce que poseen propiedades antimicrobianas, y sus extractos con diversos solventes de las hojas secas caídas, flores y tallos arrojaron ser efectivos (Arulpriya, Lalitha y Hemalatha, 2010), así como también los extractos con etanol y acuosos de las vainas (Kennard y Eden, 2016). Se le suma también que los extractos con alcohol de las hojas inhiben el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* (Duke, 1983). Los extractos con alcohol al 70 % poseen actividad antioxidante, hepatoprotectora, nefroprotectora y gastroprotectora (Thusharkumar, 2011).

www.bdigitalula.ve **Productos Naturales**

También conocidos como metabolitos secundarios, son productos químicos del metabolismo de los seres vivos que aparentemente no tienen una función, a diferencia de los metabolitos primarios o productos bioquímicos que presentan una utilidad específica y definida (Marcano y Hasegawa, 2018). También son llamados compuestos químicos celulares. Los metabolitos primarios son todos aquellos esenciales para el funcionamiento de toda materia viva, componen su estructura y son responsables de todas las reacciones que sustentan el estado vital, crecimiento, desarrollo y reproducción del individuo. Lo comprenden los glúcidos, carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Ringuélet y Viña, 2013).

Por otro lado, los metabolitos secundarios no son estrictamente vitales en los tejidos ni directamente involucrados en el crecimiento, desarrollo y

obtención de energía, incluso a menudo son productos de desecho del metabolismo. A pesar de ello, muchos de ellos son utilizados por las plantas para interactuar con el medio que la rodea (Ringuelet y Viña, 2013). Ellos, participan directamente en defensa y supervivencia de los organismos vivos. Se estima que varios cientos de miles de productos naturales y biomoléculas han sido aisladas y caracterizadas a base de plantas, hongos, organismos marinos, líquenes, entre otros. Así mismo, únicamente de plantas se han aislado y caracterizado más de 100 mil metabolitos secundarios, y se estima que hay muchas más aún por descubrir (Delgado, 2005). Se pueden clasificar de acuerdo a sus estructuras, su bioformación, fuente de producción o acción biológica. Pero, hay moléculas que al ser polifuncionales, moléculas que tienen distintas funciones a pesar de que se originan simultáneamente o que dos compuestos tengan la misma función, se hace difícil ubicarlas en un determinado grupo químico, por lo que, es más acertado clasificarlas según su biosíntesis (Marcano y Hasegawa, 2018).

Biosíntesis de metabolitos secundarios

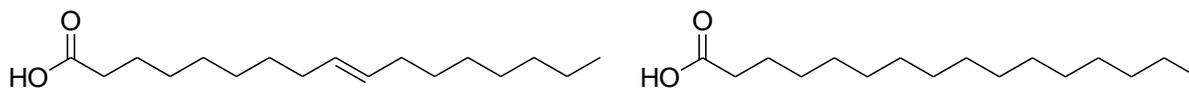
La formación de los metabolitos secundarios en la naturaleza tiene lugar a partir de los metabolitos primarios (Gutiérrez y Estévez, 2009). Su formación es un proceso endotérmico que requiere de luz solar, que comienza con la fotosíntesis, realizada por las plantas superiores, algas y algunas bacterias. Las rutas biogenéticas para los vegetales superiores están muy bien definidas en la mayoría de los casos, al contrario que en las algas y ciertos vegetales inferiores donde existe una gran cantidad de compuestos nitrogenados, oxigenados y azufrados difíciles de ubicar dentro de determinadas rutas biogenéticas. Algunos fitoquímicos pueden formarse por distintas vías y siguiendo el criterio biogenético, como el grupo de los alcaloides que tienen varios orígenes (Marcano y Hasegawa, 2018).

Se conoce que la concentración de ciertos metabolitos aumenta cuando el vegetal se expone a condiciones de estrés. Así mismo, en el laboratorio se trata de imitar dichas condiciones producidas por el sistema enzimático, llevando al organismo vivo a un estado de estrés y así generar ciertos esqueletos no abundantes y a veces específicos, para la especie bajo estudio. La formación de metabolitos primarios y secundarios ocurren a través de reacciones enzimáticas (Marcano y Hasegawa, 2018). Los metabolitos secundarios más importantes extraídos de las plantas son:

Compuestos alifáticos

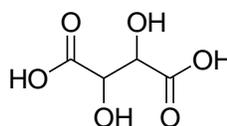
Son estructuras bastante sencillas en comparación a la mayoría de los demás metabolitos secundarios. Se agrupan en: ácidos grasos, como por ejemplo el ácido oleico (**12**) y ácido palmítico (**13**); y sus derivados, los poliácetilenos, como el ácido tartárico (**14**) (figura 5); prostaglandinas y sus análogos, acetogeninas alifáticas, entre otros. Gran parte de ellos presentan estructuras cíclicas poco ramificadas, formadas por condensaciones sucesivas de unidades de acetato-malonato. Esta combinación lineal es iniciada por el acetilcoenzima-A y propagado por malonilcoenzima-A, originando compuestos formados por $2n$ -átomos de carbono como: ácido oleico, ácido palmítico y ácido tartárico (Marcano y Hasegawa, 2018).

Figura 5. Estructuras químicas de algunos compuestos alifáticos presentes en especies vegetales.



Ácido oleico (12)

Ácido palmítico (13)



Ácido tartárico (14)

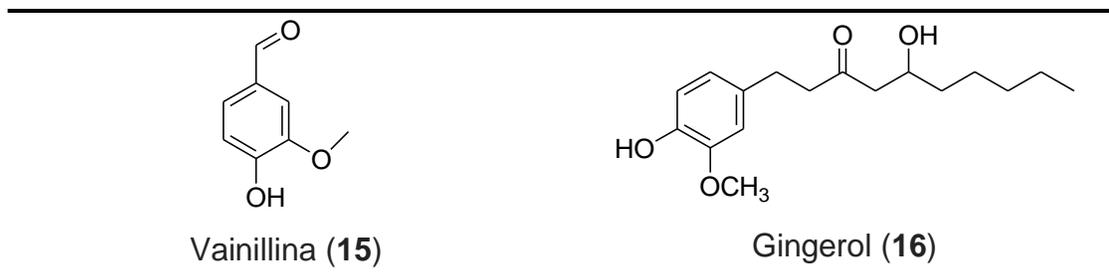
Tomada y modificada de Marcano y Hasegawa, 2018.

www.bdigital.ula.ve

Compuestos aromáticos

También llamados compuestos fenólicos, son un grupo muy diverso, caracterizado por presentar en su estructura uno o más grupos hidroxilo (-OH), de reacción ácida, unidos a un anillo aromático. En el presente, cerca de 10.000 compuestos fenólicos diferentes han sido aislados en la naturaleza, en su mayoría de plantas, como la vainilla (15) o el gingerol (16) (figura 6) (Ringuelet y Viña, 2013). Incluyen derivados simples de benceno, anillos bencénicos condensados, monómeros, dímeros y polímeros de alto peso molecular. Hay dos vías principales de biosíntesis en la naturaleza: la vía del acetato-malonato, y la del ácido shikímico (Marcano y Hasegawa, 2018).

Figura 6. Algunos compuestos aromáticos presentes en especies vegetales.

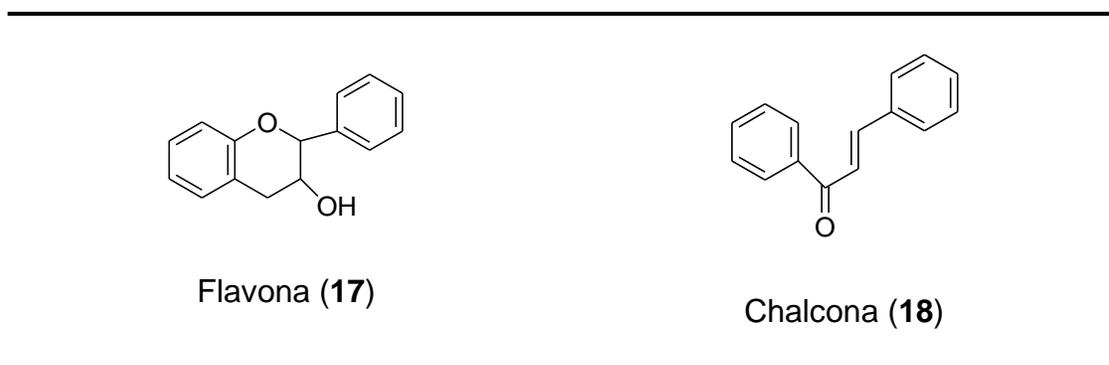


Tomada y modificada de Ringuélet y Viña, 2013.

Flavonoides

Es muy común aislarlos, se encuentran en casi cualquier vegetal superior. Tienen muchas funciones, en las que destacan como antioxidantes y secuestradores de radicales libres, antimicrobianos y antinutricionales, fotoreceptores, protectores contra la luz UV, agentes quelantes de metales, darle color a la planta, entre otros. Su estructura general comprende un anillo A, derivado de la cadena del policétido, y un anillo B, derivado del ácido shikímico, como por ejemplo, existen las flavonas (17), catequinas (2), chalconas (18) (figura 7), entre otros (Marcano y Hasegawa, 2018).

Figura 7. Estructura química de algunos flavonoides presentes en especies vegetales

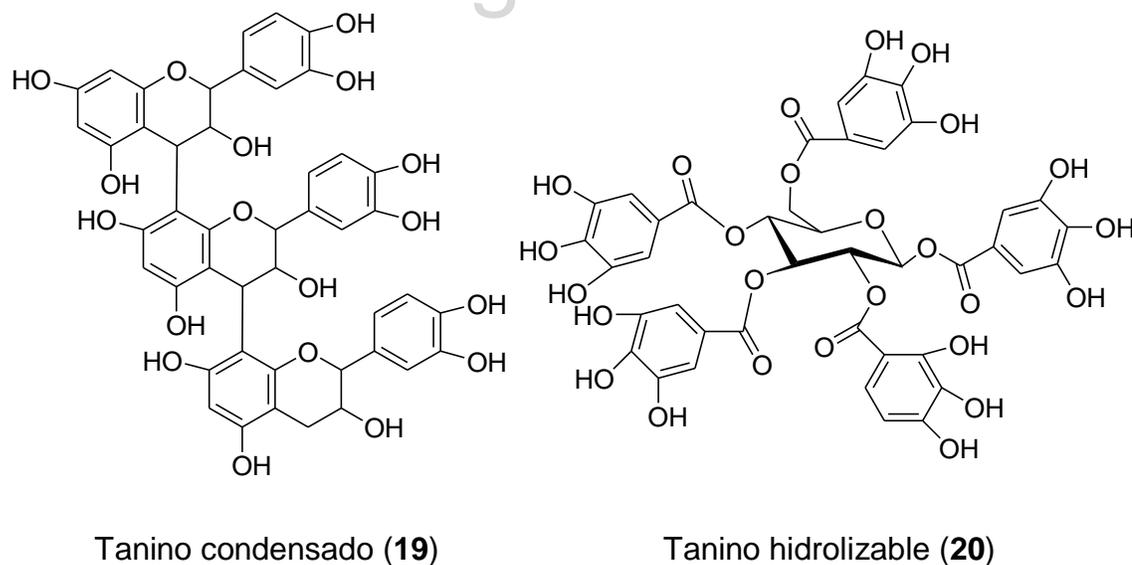


Tomada y modificada de Marcano y Hasegawa, 2018.

Taninos

Son una variedad de polifenoles vegetales de 500 a 3.000 Daltons, utilizados principalmente en el proceso de curtiembre, donde la piel de los animales se transforma en cuero, gracias a que se lleva a cabo la unión de las proteínas de la piel y los taninos. Son comunes en altas concentraciones en la corteza y leño de algunos árboles y agallas vegetales. Tienen propiedades antioxidantes, antimicrobianas, en altas concentraciones, evitan que los frutos de las plantas maduren antes que las semillas sean viables, entre otras funciones. Se agrupan principalmente en taninos condensados (19) e hidrolizables (20) (figura 8) (Ringuelet y Viña, 2013).

Figura 8. Estructuras químicas de los taninos presentes en especies vegetales.

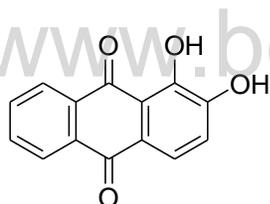


Tomada y modificada de Ringuelet y Viña, 2013.

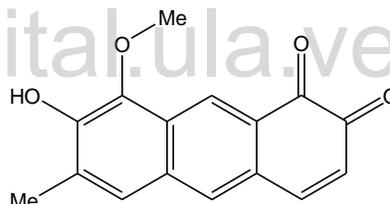
Quinonas

Forman parte como núcleo principal de una estructura, o formando parte de moléculas complejas aromáticas o aromáticas-alifáticas y a veces dimericas. Son un grupo importante de pigmentos vegetales y animales, como alizarina (**21**) y el hallocromo (**22**) (figura 9). Algunas quinonas son usadas desde la antigüedad, el ejemplo más antiguo la alizarina, usada para teñir telas desde hace más de 2000 años. Su origen biosintético proviene del ácido acético en microorganismos, y a partir del ácido shikímico en vegetales superiores (Marcano y Hasegawa, 2018).

Figura 9. Estructura químicas de algunas quinonas presentes en especies vegetales.



Alizarina (**21**)



Hallochromo (**22**)

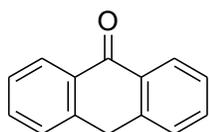
Tomada y modificada de Marcano y Hasegawa, 2018.

Antraquinonas

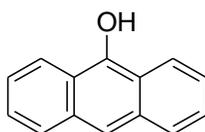
Están localizadas principalmente en plantas superiores, aunque también se han encontrado en insectos y microorganismos, incluso también se pueden aislar sus derivados reducidos como antronas (**23**) y antranoles (**24**). Tienen como precursor el ácido acético, además algunas antraquinonas como el crisofanol (**25**), tienen efectos laxantes, otras incluso pueden usarse

para teñir telas y para la cuantificación colorimétrica de carbohidratos (figura 10) (Marcano y Hasegawa, 2018).

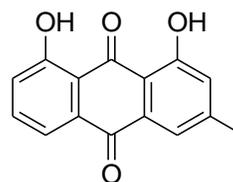
Figura 10. Estructuras químicas de algunas antraquinonas presentes en especies vegetales.



Antrona (**23**)



Antranoles (**24**)



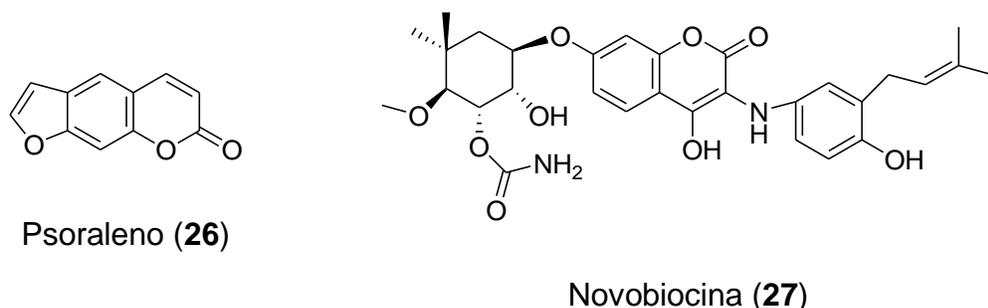
Crisofanol (**25**)

Tomada y modificada de Marcano y Hasegawa, 2018.

www.bdigital.ula.ve Cumaringas

Son las α -pironas generadas por la lactonización del ácido o-cumárico, están ampliamente distribuidas en el reino vegetal. Es utilizado como aromatizante en confitería, antiasmáticos, un ejemplo de ello es el psoraleno (**26**), e incluso sirven de antibióticos, como lo es la novobiocina (**27**) (figura 11) (Marcano y Hasegawa, 2018).

Figura 11. Estructuras químicas de algunas cumarinas presentes en especies vegetales.

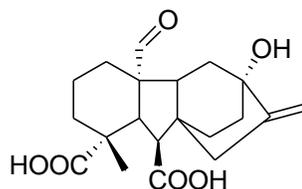


Tomada y modificada de Marcano y Hasegawa, 2018.

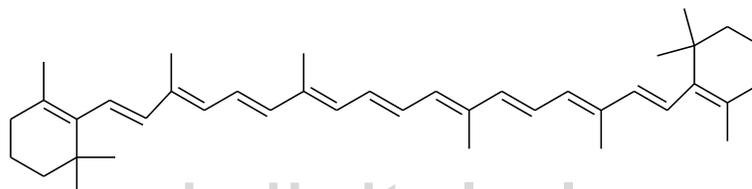
Terpenos

Son el grupo de metabolitos secundarios más abundantes (más de 40.000 moléculas diferentes). La ruta biosintética de estos metabolitos da lugar también a metabolitos primarios, importantes para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Sus estructuras y funciones son muy variadas, abarcan hormonas, como las giberelinas (**28**), ácido absísico y citoquininas; también en la fotosíntesis incluyen carotenoides (**29**) (figura 12), clorofilas y plastoquinonas; ubiquinonas, en la respiración y esteroides, que son de gran importancia en las estructuras de membranas. Suelen ser insolubles en agua, y todos derivan de la unión de unidades de isopreno, clasificándose entre ellos por la cantidad de isoprenos que tengan en su estructura. Se sintetizan a partir de metabolitos primarios a través de la ruta del ácido mevalónico o la ruta del metileritriol fosfato (Ávalos y Pérez, 2009).

Figura 12. Estructuras químicas de algunos terpenos presentes en especies vegetales.



Giberilinas (**28**)



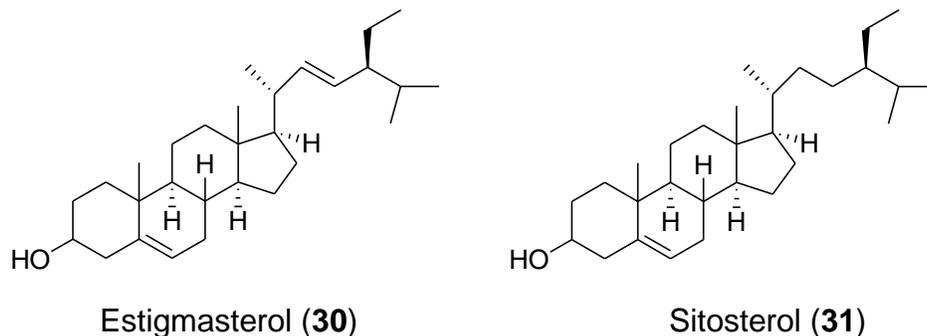
Carotenoides (**29**)

Tomada y modificada de Ávalos y Pérez, 2009.

Triterpenos

Son derivados del escualeno, y entre ellos se encuentran los esteroides y los esterol. Contienen en su estructura una cadena lineal de 30 carbonos de la que derivan todos los triterpenos cíclicos. El esterol más importante de los animales es el colesterol, aunque está presente también en plantas, pero en trazas; mientras que los esteroides más abundantes en las plantas son el estigmasterol (**30**) y el sitosterol (**31**) (figura 13). La principal función de los esterol en las plantas es formar parte de las membranas y determinar su viscosidad y estabilidad, por otro lado, los limonoides le dan un sabor amargo, que funciona como repelente de insectos (Ávalos y Pérez, 2009).

Figura 13. Estructuras químicas de algunos triterpenos presentes en especies vegetales.

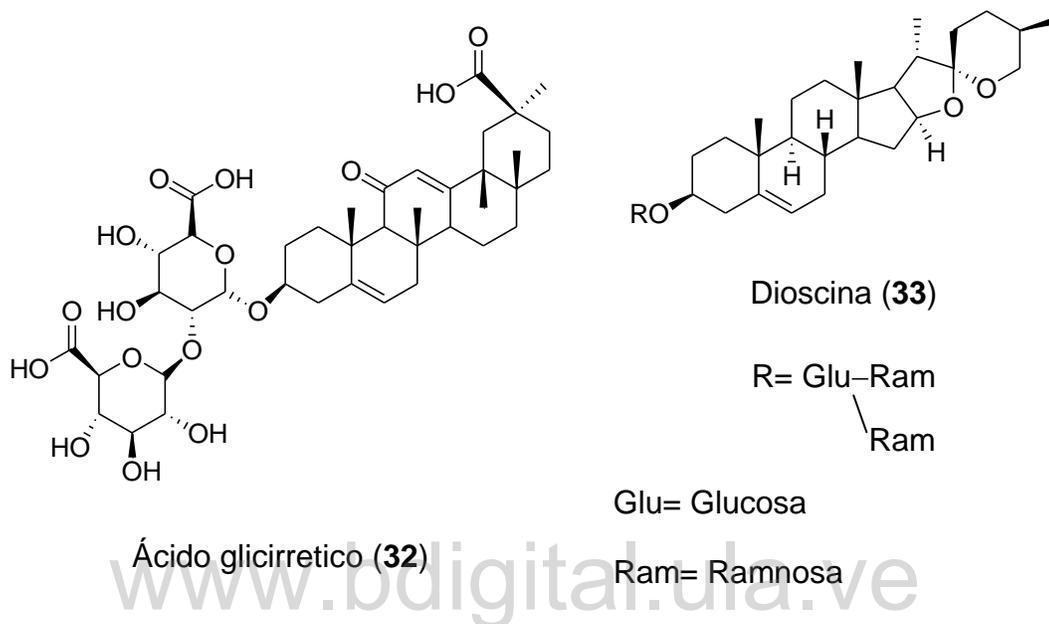


Tomada y modificada de Ávalos y Pérez, 2009.

Saponinas

Son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, que pertenecen a un grupo de sustancias glicosiladas que se disuelven en agua y poseen la propiedad de formar espuma al agitar la solución. Existen las saponinas clásicas, que están conformadas por azúcares y una aglicona, saponinas triterpenoidales, donde se menciona el ácido glicirrético (32) y saponinas esteroidales, como la dioscina (33) (figura 14). Son utilizadas para la preparación de detergentes no alcalinos, fármacos, agentes espumantes y veneno para peces (Marcano y Hasegawa, 2018).

Figura 14. Estructuras químicas de algunas saponinas presentes en especies vegetales.



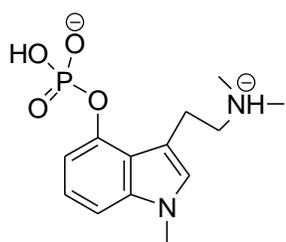
Tomada y modificada de Ávalos y Pérez, 2009.

Alcaloides

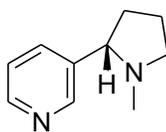
Reciben este nombre los compuestos nitrogenados heterocíclicos (Aricapa, 2009). Son aislados tradicionalmente de plantas vasculares, pero se han encontrado en animales, insectos y microorganismos. Contienen en su estructura uno o más átomos de nitrógeno, a menudo formando parte de un anillo heterocíclico. Son derivados biosintéticos de los aminoácidos, entre 100 y 900 Daltons de peso, donde sus núcleos nitrogenados, son generalmente sencillos, como la psilocibina (34), que tiene al triptófano como precursor. Según su composición elemental, se clasifican en ternarios o cuaternarios, en caso de la nicotina (35) y cafeína (36) (figura 15) por ejemplo; pero además, se pueden clasificar según su estructura molecular y ruta biosintética, en alcaloides verdaderos, protoalcaloides y

pseudoalcaloides. Tienen actividad farmacológica, medicinal, agroquímica y absorbente de los rayos UV (Ringuelet y Viña, 2013).

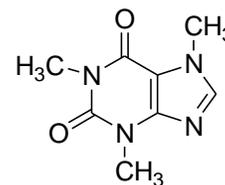
Figura 15. Estructuras químicas de algunos alcaloides presentes en especies vegetales.



Psilocibina (34)



Nicotina (35)



Cafeína (36)

Tomada y modificada de Ringuelet y Viña, 2013.

www.bdigital.ula.ve

Extractos vegetales

El término de extracción se refiere, a la separación de sustancias biológicamente activas de las plantas a partir de materiales inertes o inactivos de la misma, mediante el uso de un disolvente y método de extracción adecuado, donde generalmente se obtiene el extracto (solución extraída de un disolvente) y el residuo o bagazo (Valcárcel y Gómez, 1988). Se debe tomar en cuenta la analogía estructural existente entre la sustancia que se desea extraer y el disolvente a utilizar, así como la polaridad tanto del analito a extraer, como del disolvente a emplear, dado a que de ello depende la solubilidad entre ambos, en base a eso, los solventes se clasifican en polares, medianamente polares y apolares (Ringuelet y Viña, 2013). Los extractos tienen consistencia sólida, líquida e intermedia, derivadas normalmente de material vegetal desecado, obtenidos al evaporar parcial o

totalmente el disolvente en los líquidos extractivos de origen vegetal (Carrión y García, 2010).

Según Carrión y García (2010), se pueden clasificar los extractos según su consistencia y concentración del principio activo, en:

- **Extractos secos:** Son de consistencia seca y fácilmente pulverizables, se obtienen por evaporación del disolvente y desecación del residuo, y no presentan más del 5 % de humedad. Presentan una mayor de concentración del principio activo que de la droga original, además son muy estables y fáciles de manipular (Carrión y García, 2010).
- **Extractos blandos:** Poseen una consistencia semisólida y una concentración del principio activo superior al de la droga original, son poco estables y difíciles de manipular. Usualmente se extraen con agua o mezclas hidroalcohólicas (Carrión y García, 2010).
- **Extractos fluidos:** Obtenido generalmente por percolación, contienen una concentración determinada de etanol, y son preparados donde la droga forma parte una o dos veces del total del extracto fluido; tomando en cuenta que la droga seca forma parte del 85 % del 100 % de las partes de la planta fresca (Voigt, 1982).
- **Crioextractos:** Se obtiene por molienda de la droga vegetal desecada correctamente, sometida a congelación (-196 °C) con el uso de nitrógeno líquido, forma en que los principios activos no se ven alterados por el calor desprendido en el proceso de molienda, ya que dependiendo de la droga vegetal puede llegar hasta 70 °C (Castillo y Martínez, 2007). Son extractos muy costosos, pero útiles en la

obtención de proteínas y enzimas de ciertas especies (Carrión y García, 2010). A continuación, se mencionan algunos métodos de extracción (Albornoz, 1980):

- **Maceración:** Consiste en remojar la droga cruda fragmentada en el solvente, con la finalidad de que penetre la estructura celular y disuelva las sustancias. El material se agita de forma esporádica mínimamente por dos días, y hasta una semana, luego el líquido se decanta, filtra y se exprime el residuo.
- **Lixiviación:** Se trata de colocar el material pulverizado en un percolador, pasando continuamente solvente a través de él, donde dicho solvente, al pasar sucesivamente por las capas del material, empujado por su propio peso, más la presión de la columna líquida, logra que él se sature de los principios solubles del material.
- **Digestión:** También es una forma de maceración, pero el material se le aplica calor moderado, aumentando así el poder del disolvente. Para que el solvente pueda reutilizarse nuevamente, se le adapta un condensador al balón donde se efectúa la digestión.
- **Infusión:** Las partes tiernas de la planta (hojas, flores, sumidades floridas) se extraen vertiéndole agua caliente sin llegar a ebullición en un recipiente bien cerrado, alrededor de treinta minutos.
- **Decocción:** Usada para el material duro (cortezas, raíces o tallos), se somete el material a ebullición con agua en un recipiente adecuado para que no se derrame.
- **Destilación:** Se trata de evaporar una sustancia y recuperarla por condensación en estado líquido. Varía la ebullición del agua según si

el material es fresco o seco. Generalmente se usa por arrastre con vapor, macerando previamente el material en agua y colocándolo en un balón, e inyectando a través de esta masa, una corriente de vapor; el agua condensada contiene la sustancia arrastrada, separándolas por decantación.

- **Extracción continúa:** Se trata de, extraer con un disolvente que disuelve uno o más componentes del material vegetal, en aparatos diseñados especialmente para ello, como el Soxhlet y extractores líquido-líquido. El Soxhlet es el más frecuentemente utilizado, donde se coloca la sustancia o droga cruda en un cartucho, y en el balón el disolvente a calentar a ebullición. El vapor del disolvente se condensa y cae encima de la sustancia en el cartucho, y cuando cae cierta cantidad suficiente de disolvente más materiales disueltos en los tubos comunicantes, se sifonea por un tubo, cayendo nuevamente en el balón en ebullición. Este proceso se repite cíclicamente hasta agotar el material que se esté extrayendo.

Análisis fitoquímico

La fitoquímica comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal, y la metodología a seguir depende de los objetivos que se quieren lograr. Inicialmente, se escoge el material a seleccionar, que dependerá del interés particular hacia cierta parte o partes de una planta en específico, y se buscará un determinado químico o actividad biológica en el mismo. En base a ello, se elegirá método de extracción y el “kit de pruebas” más adecuado, aplicado a pruebas de campo y en el laboratorio (Marcano y Hasegawa, 2018).

Para la determinación de metabolitos secundarios, se llevaron a cabo pruebas, sujeto a la estructura química y solubilidad de los mismos, entre las que encuentran:

- **Ensayo de Liebermann-Burchard (Terpenos y/o Esteroides):** Los terpenos y esteroides poseen un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo β y en la posición 5-6, estructura que permite identificarlos. Se estima positividad para la prueba cuando aparecen coloraciones roja (triterpenos), verde o azul (esteroides) (Martínez, Valencia y Jiménez, 2004).
- **Ensayo de Shinoda (Flavonoides):** Los flavonoides presentes en el extracto dan una coloración rojiza cuando se tratan con ácido clorhídrico concentrado y virutas de magnesio por 15 minutos (Albornoz, 2001).
- **Ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner (Alcaloides):** La mayoría de los alcaloides forman precipitados con soluciones de varios ácidos de metales pesados. En medio ácido, se le agrega mercurio-yoduro de potasio (reactivo de Mayer), yoduro de bismuto (reactivo de Dragendorff) o yodo-yoduro de potasio (reactivo de Wagner). La aparición de precipitados es indicativa de positividad para la prueba (Domínguez, 1979).
- **Ensayo con FeCl_3 (Compuestos fenólicos):** Los compuestos fenólicos tienen la capacidad de reaccionar con el cloruro férrico, produciéndose un precipitado azul oscuro, verde o azul-verdoso (Albornoz, 1980).

- **Ensayo de gelatina al 1 % (Taninos):** Se basa en el poder de los taninos para precipitar proteínas, haciéndose la reacción más sensible por la salificación (*salting out*) de complejo proteína-tanino (Albornoz, 1980). Un extracto con NaOH al 10 % se trata con gotas de solución de gelatina 1 %. Si hay un precipitado, se está en presencia de taninos (Albornoz, 2001).
- **Ensayo con hidróxido de amonio (Cumarias):** Las cumarinas que se disuelven en álcalis, tienden a dar una fluorescencia azul en presencia de luz ultravioleta. Además, las cumarinas con un grupo OH fenólicos pueden copularse con sales de diazonio derivadas del ácido sulfanílico, la *p*-nitroanilina o el reactivo de Emerson, dando compuestos coloreados (Albornoz, 1980).
- **Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5 % (Quinonas):** Las quinonas, cuando se solubilizan en álcalis, producen coloraciones que van desde el anaranjado al rojo, o color violeta (Albornoz, 1980).
- **Prueba de Altura y estabilidad de espuma (Saponinas):** En el extracto acuoso se agita vigorosamente. Si ocurre la aparición de espuma, se comprueba la presencia de saponinas (Albornoz, 2001).

Bacterias

Las bacterias son células pequeñas, miden aproximadamente 1 μm de diámetro, por lo que se necesita el empleo de un microscopio para poder observarlas. Son miembros de las células procariotas, carecen de núcleo y organelas, su cromosoma es una molécula única circular de doble cadena de ADN, tienen ribosomas más pequeños que las células eucariotas, en su mayoría tienen en la pared celular constituida por peptidoglucanos que las

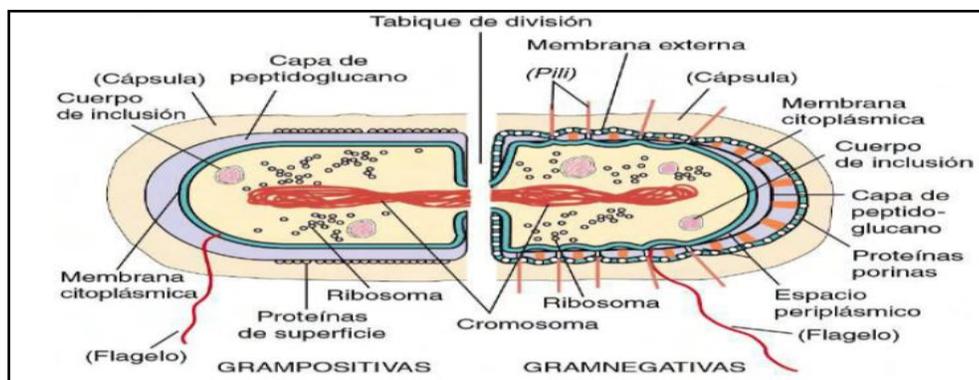
rodea protegiéndolas del entorno y se reproducen asexualmente por fisión binaria (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013). Las bacterias son prácticamente incoloras, las principales formas que adoptan las son esferas, bastones, bastones doblados o curvos, y en forma de espiral (Ryan y Ray, 2010).

Las bacterias se pueden clasificar según su aspecto macroscópico, aspecto microscópico, por su crecimiento y rutas metabólicas características, por su antigenicidad y por su genotipo. Respecto a su aspecto microscópico, se pueden clasificar por su forma, tamaño y coloración de Gram que adopte la bacteria; dicha coloración permite clasificarlas en (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013):

Bacterias grampositivas

Estas bacterias tienen pared celular con ácido teicoico y lipoproteicoico, pero principalmente una capa gruesa de peptidoglucanos (figura 16), por lo que allí el precipitado de cristal violeta queda atrapado a modo de malla entrelazada que rodea toda la célula, adoptando una coloración morada (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Figura 16. Diferencias estructurales de la pared celular entre las bacterias grampositivas y gramnegativas.



Tomada y modificada de Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013.

Bacterias grampositivas a ensayar

Staphylococcus aureus

Son cocos grampositivos, inmóviles y generalmente se agrupan en formas irregulares; es el estafilococo patógeno más importante en el ser humano y es causante de forúnculos, abscesos, infección en heridas, neumonía, el síndrome de shock tóxico causado por la producción de toxinas, entre otras enfermedades. Existen cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) y otras resistentes a la vancomicina, siendo uno de los patógenos más peligrosos y resistentes a antibióticos conocidos (Willey, Shewood y Woolverton, 2008).

Enterococcus faecalis

Son cocos grampositivos que generalmente se disponen en pares y en cadenas cortas (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013), es un habitante de la microbiota habitual del tracto intestinal de los humanos y la mayoría de los animales, pero se comporta como un patógeno oportunista (Willey, Shewood y Woolverton, 2008), de hecho es la especie de enterococo más frecuente en infecciones, dentro de un 85 a 90 % de los casos, y es una causa frecuente de infecciones nosocomiales, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos; se transmiten principalmente por contacto del personal hospitalario hacia los pacientes, causando infecciones del tracto urinario, en heridas, el sistema biliar o en la sangre, pudiendo causar meningitis, bacteremia en recién nacidos y endocarditis en adultos; son un problema importante debido a que pueden ser muy resistentes a los antibióticos (Brooks, Morse, Carroll, Mietzner y Butel, 2010).

Bacterias gramnegativas

Poseen una capa delgada de peptidoglucanos en el espacio periplásmico, por esta razón no retienen el precipitado de cristal violeta en la decoloración, adoptando así un color rosado-rojo la safranina, que es el colorante de contraste. La pared celular de estas bacterias tienen además una membrana externa compuesta por lipopolisacáridos, fosfolípidos, y proteínas (figura 16) (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013)

Bacterias gramnegativas a ensayar

Escherichia coli

Es un bacilo gramnegativo de la microbiota habitual del intestino, contribuye con su función y nutrición normal, y es la especie más frecuente (Brooks y cols, 2010), siendo la más estudiada del género *Escherichia*, está asociado a múltiples enfermedades, donde la mayoría de las infecciones producidas como ITU, meningitis y sepsis son causadas por cepas endógenas, aunque también producen en mayor medida gastroenteritis, pero por cepas de origen exógeno, causadas al menos por cinco grupos diferentes que son: *E. coli* enteropatógena, *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enterotoxigénica y *E. coli* enteroagregativa; donde *E. coli* enterohemorrágica es una causa importante de colitis hemorrágica y síndrome hemolítico urémico en EE.UU (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Klebsiella pneumoniae

Es un bacilo gramnegativo presente en el sistema respiratorio y en las heces de casi el 5 % de las personas sanas, produce alrededor del 1 % de las neumonías bacterianas (Brooks y cols, 2010), donde generalmente causan la necrosis de los espacios alveolares, la formación de cavidades y la

obtención de esputos hemoptoicos. Además, *Klebsiella pneumoniae* puede causar ITU, infecciones de heridas y tejidos blandos (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Pseudomonas aeruginosa

Se trata de bacilos gramnegativos no fermentadores móviles que pueden producir pigmentos hidrosolubles de color verde azulado, tienen una amplia distribución en la naturaleza y en los hospitales, sobre todo está presente en medios húmedos, y forma parte de la microbiota de la piel y de la flora intestinal normal. Esta especie solo es patógena cuando ocurre disbiosis de la flora normal, en condiciones de inmunosupresión, en lesiones de la piel y las mucosas, o en la utilización de catéteres intravenosos o sondas urinarias contaminadas (Brooks y cols, 2010). Esta especie posee muchos factores de virulencia, posee resistencia intrínseca a muchos antibióticos y es capaz de mutar durante el tratamiento para volverse aún más resistente; produce enfermedades que incluyen infecciones respiratorias, en la piel y tejidos blandos, urinarias, oculares, auditivas, y también endocarditis y bacteriemia (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Antibióticos

Son un grupo de compuestos orgánicos naturales o sintéticos que inhiben el crecimiento o destruyen las bacterias, generalmente a concentraciones bajas del mismo (Brooks y cols, 2010). Desde que Alexander Fleming descubrió la penicilina, se han descubierto distintos antibióticos naturales que pueden dañar a las bacterias por distintas maneras; según su función se encuentran los inhibidores de la síntesis de la pared celular como los son las penicilinas, cefalosporinas, vancomicina y bacitracina; los inhibidores de la síntesis proteica, que logran su función al

unirse a los ribosomas donde están los aminoglucósidos, tetraciclinas, macrólidos y el cloranfenicol; los agonistas metabólicos que compiten por el sitio de unión las enzimas clave, bloqueando así el funcionamiento de las vías metabólicas como las sulfonamidas y el trimetoprim; y finalmente, los inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos, actuando sobre la ADN o ARN polimerasa y la ADN helicasa bloqueando la transcripción y replicación respectivamente, donde se encuentran las quinolonas (Willey, Shewood y Woolverton, 2008).

Resistencia bacteriana

A menudo las bacterias se vuelven resistentes por diversos mecanismos. Más de un mecanismo puede ser efectivo para inhibir la acción de un mismo antibiótico, incluso se puede adquirir resistencia solamente con evitar la entrada del fármaco como por ejemplo la gran cantidad de ácidos micólicos que tienen las micobacterias para no permitir el paso de antibióticos hidrosolubles; uno de los mecanismos empleados es la creación de bombas de eflujo que expulsan el fármaco al exterior de la célula una vez este haya entrado; otro mecanismo es la modificación química del antibiótico para inactivarlo, como por ejemplo las enzimas penicilinasas que hidrolizan el anillo betalactámico de la penicilina; también pueden modificar el sitio diana del antibiótico evitando que este se una a su sitio de acción, como la modificación de la estructura de los ribosomas; por último, las bacterias pueden generar resistencia utilizando una vía alternativa para sortear la secuencia inhibida por el agente o aumentar la producción del metabolito diana, así evitan el bloqueo de sus rutas metabólicas (Willey, Shewood y Woolverton, 2008).

Los genes de la resistencia pueden estar en el genoma bacteriano, en, transposones, integrones y plásmidos, estos últimos los pueden utilizar para

transmitir los mecanismos de resistencia a otras bacterias adyacentes. Estas mutaciones en el cromosoma bacteriano no ocurren con mucha frecuencia, aunque el uso inapropiado de los antibióticos ha aumentado la aparición de cepas resistentes, por ejemplo en 1946 todas las cepas de *Staphylococcus* eran sensibles a la penicilina, hoy en día la mayoría de las cepas hospitalarias son resistentes a la penicilina G, y algunas empiezan a ser resistentes a la meticilina y/o gentamicina, por lo que solo pueden ser tratadas con vancomicina (Willey, Shewood y Woolverton, 2008).

Hongos

Pertenecientes al reino Fungí, son microorganismos eucariotas diferentes a los demás debido a que poseen una pared celular rígida formada por quitina y glucano. Además, en la membrana celular, el colesterol es reemplazado por ergosterol como principal componente esterólico. A su vez, todos los hongos son organismos saprofitos, comensales, simbioses o parásitos, que pueden ser unicelulares o multicelulares. En su gran mayoría, los hongos tienen respiración aerobia, pero existen algunos que son anaerobios facultativos (fermentativos), y anaerobios estrictos. La forma más sencilla de clasificarlos es por un lado en levaduras, cuando son unicelulares, y se reproducen por gemación o fisión binaria. Por otro lado, en mohos, que son multicelulares y están formados por estructuras tubulares filiformes llamadas hifas. Además, estas tienen la capacidad de alargarse hacia los extremos a través de un proceso llamado extensión apical. Las hifas pueden ser cenocíticas o tabicadas, y pueden unirse para formar una especie de tapete llamado micelio. Son descritas generalmente como filamentosas, vellosas o lanosas. Cuando crecen en agar u otras superficies sólidas, los mohos producen las denominadas hifas vegetativas e hifas aéreas, estas últimas pueden producir estructuras especializadas llamados conidios

(elementos de reproducción asexual), producidas por un proceso blástico (de gemación) o tático, en donde se fragmentan en segmentos para dar lugar a células individuales llamados artroconidios. Los conidios son transportadas por el aire y permiten la diseminación del hongo (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Se calculan que existen alrededor de 200.000 especies, pero se cree que son más de un millón y medio, donde solo alrededor de 400 son patógenos en mamíferos, vegetales, insectos o de otros hongos, y unos pocos de hongos se comportan como oportunistas. Los hongos pueden ser macroscópicos, también conocidos como setas o champiñones; o microscópicos. Los hongos poseen las propiedades fundamentales de la materia viva: irritabilidad, conductividad, contractilidad y capacidad de reproducción; tienen como característica común la ausencia de clorofila, por lo que no pueden hacer fotosíntesis, en cambio deben nutrirse de materia orgánica ya elaborada (heterótrofos) (Arenas, 2014).

Género *Candida*

Las especies del género *Candida* son levaduras que representan a los patógenos fúngicos oportunistas más frecuentes. En la mayoría de los casos, pueden desarrollarse como un colonizador benigno, donde únicamente causan infección grave en una deficiencia en la inmunidad del hospedero (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013). En su estado anamorfo pertenece a la subdivisión Deuteromycota, y en su estado teleomorfo puede ser Ascomycota. Esta levadura es capaz de producir filamentos; en sentido amplio, es un hongo dimórfico. *Candida* vive en equilibrio con otros microorganismos del cuerpo humano y coexiste como comensal, pero cuando este equilibrio se pierde, se torna patógena y causa infecciones mucocutánea. Las formas profundas y sistémicas son poco comunes. Se

presentan en el 80 a 90 % en personas con SIDA y predominan en boca y esófago. Se han descrito más de 200 especies, pero las que actúan como principales patógenos son: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* y su teleomorfo *Issatchenkia orientalis*; *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. pseudotropicalis*, *C. zeylanoides*, *C. rugosa*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, y *C. lusitaniae* (Arenas, 2014). Se conoce actualmente, que estos microorganismos colonizan la mucosa digestiva y pasan al torrente circulatorio mediante un proceso de translocación gastrointestinal o a través de los catéteres vasculares contaminados, interaccionan con las defensas del hospedador y abandonan el compartimiento intravascular para invadir tejidos profusos en otros órganos, como el hígado, bazo, riñón, corazón y cerebro. Entre las características de este género que contribuyen a su potencial patógeno se mencionan: la capacidad de adherirse a los tejidos, el dimorfismo, la hidrofobicidad de su superficie celular, la producción de proteinasas y el cambio de fenotipo (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Candida albicans

Es la especie más importante de estas levaduras, es el más frecuente y virulento en infecciones del género. Forma parte de la microbiota habitual de las vías gastrointestinales, piel, mucosa bucal y vagina (Arenas, 2014). Es un hongo dimórfico, causante de micosis oportunistas, es decir, que no es patógena en individuos sanos, pero es capaz de multiplicarse muy rápido y causar candidiasis. Ningún otro hongo patógeno es capaz de producir un espectro tan amplio de patologías en el ser humano, en su gran mayoría afectan la piel y las mucosas, debido a que es un hongo aerobio estricto, y además prevalece cuando la piel se mantiene húmeda o está dañada. Puede producir un cuadro clínico en recién nacidos, llamado candidiasis oral o muguet, se debe a la contaminación del tracto respiratorio del recién nacido

cuando este pasa por el canal de parto, sobre todo si la vagina estaba densamente poblada por este microorganismo, formando numerosas manchas blancas en la boca y en la lengua (Prescott, Harley y Klein, 2003).

Candida krusei

Se ubica como un microorganismo comensal de la cavidad bucal y que aparece en personas inmunosuprimidas, causa el 5,2 % de las infecciones causadas por especies no *albicans* del género. La mayoría de las especies de *Candida*, son susceptibles al fluconazol, pero *Candida krusei* y *Candida glabrata* tienen una resistencia intrínseca a este antifúngico, aunque si es susceptible a la cicloheximida, al voriconazol y a la caspofungina. *Candida krusei* solo es capaz de asimilar y fermentar un carbohidrato, que es la glucosa (Arenas, 2014).

www.bdigital.ula.ve

Micosis humanas

De todas las especies fúngicas que existen, aproximadamente 100 son potencialmente patógenas para los seres humanos, y de éstas, únicamente unas pocas son responsables de las infecciones fúngicas de mayor importancia clínica. Estas se clasifican según el sitio del cuerpo donde ocurra, si se limitan a la epidermis se les llama cutáneas; subcutáneas si atraviesan la piel y sistémicas si se adentran y diseminan por los órganos internos. Las micosis sistémicas se dividen por un lado en aquellas causadas por hongos verdaderamente patógenos, que infectan individuos sanos, y por otro lado, están las micosis oportunistas que aparecen en individuos predispuestos como por enfermedades debilitantes o inmunodeficiencias. Por otra parte, sus productos metabólicos son capaces de producir intoxicaciones, además las esporas son agentes alérgenos para los seres humanos (Harvey, Champe y Fisher, 2008).

Antifúngicos

Son compuestos que atacan directamente las células fúngicas al reconocer específicamente las moléculas particulares como el ergosterol, quitina y β -glucanos, ubicados en la membrana y pared celular. Pueden ser fungistáticos o fungicidas, dependiendo si inhiben el crecimiento del hongo o si producen la lisis del mismo. Su mecanismo de acción es variado, por ejemplo, pueden actuar sobre la síntesis de proteínas de microtubulos e inhibir la reproducción celular de los dermatofitos, como la griseofulvina; inhibir la reproducción celular, como la 5-fluorocitosina; afectar el ergosterol de la membrana fúngica, como lo son polienos, anfotericina B y nistatina; o los imidazoles o triazoles, que tienen actividad primaria en el sistema enzimático de citocromo P450, involucrado en la síntesis de ergosterol de la membrana celular, entre otros (Arenas, 2014).

El problema actual, sobre el uso de antifúngicos, es el aumento de infecciones sistémicas, el uso de inmunosupresores y agentes citotóxicos, el aumento de casos de HIV-SIDA, las infecciones por hongos emergentes, la posible resistencia a los azoles y la poca disponibilidad de pruebas de sensibilidad. Para las micosis superficiales, se emplean antimicóticos de primera línea terapéutica, gracias a que son eficaces y de bajo potencial de efectos colaterales (Arenas, 2014).

Los antifúngicos se pueden clasificar en agentes físicos, agentes químicos y los antimicóticos producidos por microorganismos. Entre los agentes físicos existe la radiación UV y X, la temperatura, ultrasonido, entre otros; por otro lado, los agentes químicos se dividen en antifúngicos antiguos y los modernos; donde los antiguos se clasifican en sistémicos, como por ejemplo las sulfonamidas, sulfonas, diamidinas aromáticas, pentamidina, entre otros; y también se clasifican en tópicos, como los metalespesados,

halógenos, alcoholes, álcalis, bicarbonato de sodio, entre otros. Los antifúngicos modernos solo están conformados por los imidazoles, alilaminas y la 5-fluorocitosina. Y, finalmente, los antifúngicos producidos por microorganismos, pueden provenir de hongos, como la griseofulvina; por actinomicetos, como la anfotericina B; y los producidos por mixobacteriales, por ejemplo la anbruticina (Arenas, 2014).

Métodos para determinar la actividad antimicrobiana

Son pruebas utilizadas para determinar el tratamiento correcto frente a patógenos específicos, evaluar la eficacia antimicrobiana de agentes que se deseen evaluar, y estimar la dosis terapéutica adecuada (Willey, Shewood y Woolverton, 2008). Se mide a través de dos métodos principales (Brooks y cols, 2010):

Método de dilución

En este método se incorporan concentraciones escalonadas del antimicrobiano a evaluar en un medio líquido o sólido, luego son inoculados con el microorganismo de prueba y se lleva a incubación. Estas pruebas permiten obtener las concentraciones mínimas inhibitorias y/o para exterminar el microorganismo por parte del agente empleado. Las pruebas de sensibilidad por dilución en agar son lentas y se limitan a circunstancias especiales, es preferible el uso de pruebas de dilución en caldo para diversos fármacos en placas de microdilución, ya que simplifica y optimiza considerablemente el método (Brooks y cols, 2010).

Método de difusión

La más utilizada es la prueba de difusión en disco, donde se coloca en un disco de papel filtro concentraciones conocidas del agente que se quiere

evaluar para colocarse sobre la superficie de un medio sólido en la que se ha sembrado previamente el microorganismo de prueba y se lleva a incubación; después se mide el diámetro de la zona alrededor del disco donde no hubo crecimiento del microorganismo para ser comparada con el halo de inhibición obtenida de un fármaco estándar (Brooks y cols, 2010).

Definición operacional de términos

Biopelícula

Es un ecosistema microbiano organizado y bien estructurado, constituido por una o varias especies microbianas unidas a una superficie viva o inerte (Elías, 2021).

Droga

Es toda sustancia de origen natural o sintético, que es susceptible a ser transformada en un medicamento, y puede tener o no propiedades terapéuticas (Albornoz, 2001).

Eluir

Extraer, con el uso de un líquido apropiado, determinada sustancia encontrada un medio solido (RAE, 2021).

Anamorfo

Forma del hongo que produce esporas asexuadas. Solo se producen por mitosis (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Teleomorfo

Forma del hongo que produce esporas sexuadas. Se producen por meiosis, precedida por la fusión del protoplasma y el núcleo de dos células fúngicas compatibles (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Hongo dimórfico

Propiedad de algunos hongos patógenos de crecer en forma de moho en condiciones normales saprofíticas, y en forma de levadura cuando parasitan un organismo a 37 °C (Divo, 1977).

Saprofito

Microorganismos que se alimentan de la materia orgánica muerta (Harvey, Champe y Fisher, 2008).

Gemación

Es un método de reproducción de las levaduras en la que la célula progenitora o “madre” desprende una porción de ella para dar origen a una célula descendiente o “hija” (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2013).

Concentración mínima inhibitoria

Es la mínima concentración de un antimicrobiano para inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de haber sido incubado a 37 grados centígrados durante 24 horas (Horna, Silva, Vicente y Tamariz, 2005).

Inmunodeficiencia

Es cuando el sistema inmune falla o no protege al hospedador contra agentes causantes de alguna enfermedad, debido a alguna razón genética o adquirida lo largo de la vida (Kindt, Goldsby y Osborne, 2007).

Operacionalización de las variables

Hernández, Fernández, y Baptista (2010), afirmaron que una variable es una propiedad que puede variar y cuya variación es susceptible de medirse. Por lo tanto, en el siguiente punto se establecen las variables a desarrollar en el proyecto de investigación (Tabla 3 y 4):

www.bdigital.ula.ve

Tabla 3. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de la corteza de *Samanea saman*

1. Variable	2. Tipo de variable	3. Definición Conceptual ¿Qué es?
Composición química de los extractos de la corteza de <i>Samanea saman</i> .	Independiente Cualitativa Discreta	Las clases de átomos o moléculas que contenga cualquier materia es lo que determina la composición química de la materia (Brown, LeMay, Bursten y Burdge, 2004).
4. Definición operacional ¿Cómo se mide?	5. Dimensiones	6. Indicador
Tamizaje fitoquímico: Pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación	Presencia o ausencia de: - Alcaloides - Triterpenos - Saponinas - Fenoles - Taninos -Cumarinas - Quinonas y/o Antraquinonas -Glicósidos cardiotónicos -Flavonoides -Sesquiterpenlactonas	- Alcaloides: Precipitado - Triterpenos: Color azul - Saponinas: Espuma - Flavonoides: Color naranja - Fenoles: Color azul/negro - Taninos: Precipitado - Quinonas: Color rojo - Cumarina: Fluorescencia UV - Glicósidos Cardiotónicos: Anillo marrón - Sesquiterpenlactonas: Pérdida del color

Fuente: Heredia y Aparicio, 2023

Tabla 4. Operacionalización de la variable dependiente Actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman*

1. Variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual
Actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de <i>Samanea saman</i>	Dependiente Cualitativa Discreta	Capacidad de una sustancia química o física de matar a un microorganismo y/o detener su crecimiento/multiplicación (Brooks, Morse, Carroll, Mietzner y Butel, 2010).
4. Definición Operacional	5. Dimensiones	6. Indicadores
La actividad antimicrobiana se puede medir a través del método de difusión en agar (Kirby-Bauer).	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sensible ▪ Resistente 	Halo de inhibición en milímetros (mm)

Fuente: Heredia y Aparicio, 2023.

Sistema de hipótesis

En investigaciones anteriores del género *Samanea* han reportado que poseen diferentes actividades biológicas, por lo que es de esperar que los extractos de la corteza de *Samanea saman* tengan actividad antimicrobiana contra cepas de referencia internacional.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de investigación

Hurtado en el año 2010 expone que su selección está íntimamente relacionada con el objetivo general, proveniente del enunciado holopraxico. Además, se toma en cuenta las variables y como están relacionadas entre sí, que tanto intervendrá el autor y los resultados que se desean obtener. En consecuencia, existen 10 tipos de investigaciones, siendo exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. Entre ellas existe la investigación confirmatoria, que tiene como finalidad confirmar que se cumpla la hipótesis. Por ende, en esta investigación se confirma la relación entre la composición química de los extractos de la corteza de *Samanea saman* y la actividad antimicrobiana en cepas de referencia internacional. Por lo que, considerando lo anteriormente expuesto, se define esta investigación como confirmatoria.

Diseño de investigación

Está definido en base al procedimiento por el cual se recolectaron los datos, abarcando los aspectos operativos o experimentales de la investigación. Igualmente, está relacionado con el cómo, cuándo, cuánto y dónde se recolectaron los datos de investigación (Hurtado 2010). En tal sentido, este trabajo de investigación tiene un diseño de campo y de laboratorio, contemporáneo, transversal y bivariable respectivamente. Es de

campo y de laboratorio debido a que la muestra fue recolectada de fuentes vivas y procesadas en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. También, es contemporáneo, transversal y bivariado debido a que los datos se obtienen en la actualidad, solamente se recolecta la muestra una vez y posee tanto una variable dependiente como independiente.

Población y muestra

Unidad de investigación

La unidad de investigación está representada por la especie *Samanea saman*.

Selección del tamaño muestral

La muestra se define como un subconjunto representativo y finito que proviene de la población (Arias, 2006). La “n” muestral está representada por 3000 gramos frescos de la corteza de *Samanea saman*, tomando en cuenta que la humedad forma parte del peso total de la muestra, el cual disminuye luego del secado. El tipo de muestra es no probabilística debido a que se desconocen los elementos que contiene la población y que integraran la muestra (Arias, 2006).

Sistema de variables

Lo conforma la variable independiente: Composición química de los extractos de la corteza de *Samanea saman*; y la variable dependiente: La actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman*.

Instrumento de recolección de datos

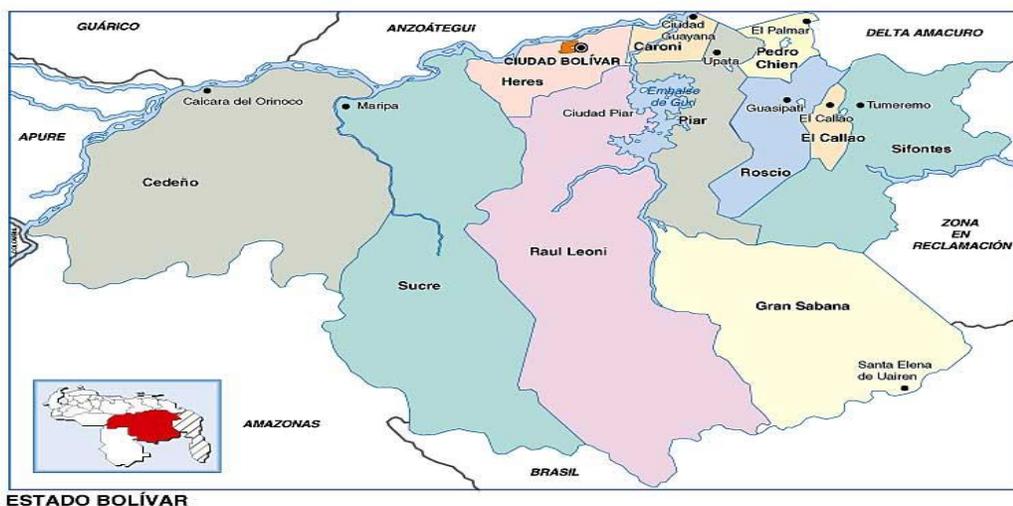
Los resultados de la investigación están recolectados mediante el uso de tablas. Además, de fotografías referentes a las distintas reacciones observadas durante el tamizaje fitoquímico.

Procedimientos de la investigación

Recolección del material vegetal

La muestra de la corteza de *Samanea saman* fue colectada en los alrededores de la Ciudad de Upata, al nor-este del Edo. Bolívar (7° 96´ N y 62° 31´ O), a una altura promedio de 350 m.s.n.m. (figura 17) .La muestra fue donada por el Prof. Jesús Velásquez (Laboratorio de Anatomía de la Madera. Universidad Nacional Experimental de Guayana UNEG). La corteza (3000 g) se retiró en la base del árbol a una altura no mayor de 1 m sobre el nivel del suelo. Posteriormente se colocó en la estufa a 40 °C hasta completa sequedad (2500 g).

Figura 17. Ubicación geográfica de la Ciudad de Upata



Tomada y modificada de Berroterán, 2003.

Obtención de los extractos de la corteza de *Samanea saman*

El material vegetal seco (2500 g), fue molido utilizando un equipo especial de carpintería, luego se tomaron 200 g y se realizó un proceso de extracción (reflujo) usando como solventes hexano, acetona y etanol; en cada caso, se filtró y el solvente se evaporó hasta completar la sequedad en un rotavapor, obteniendo así los extractos de hexano, acetona y etanol. Se realizó en el Laboratorio A del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la asesoría de la Dra. Rosa Aparicio

Análisis fitoquímico

Para determinar la presencia de fitoquímicos en los extractos de la corteza de *Samanea saman* se efectuó una serie de pruebas químicas cualitativas para lograr la identificación de los mismos. Entre estas pruebas se encuentran:

- **Ensayo de Liebermann-Burchard (Terpenos y/o Esteroides):** para el desarrollo de esta prueba, en dos tubos de ensayos limpios, secos y debidamente identificados, se tomó pequeñas cantidades de los extractos previamente llevados a sequedad, y se adicionaron 0,5 mL de solución clorofórmica anhidra, para luego añadir 0,5 mL de anhídrido acético y cuidadosamente por la pared del tubo una gota de ácido sulfúrico concentrado. Se considera positiva la prueba si aparecen coloraciones rojas, verdes o azuladas (Domínguez, 1979).
- **Ensayo de Shinoda (Flavonoides):** se procede a tomar 1,0 mL del extracto, se añadió algunas limaduras de magnesio (Mg), luego se adicionó cuidadosamente por la pared del tubo unas gotas de HCL concentrado. Si hay aparición de coloraciones naranja o violeta, se considera la prueba como positiva (Domínguez, 1979).

- **Ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner (Alcaloides):** Se tomó una alícuota del extracto seco (100,0 mg) y se le añadió en 5-10 mL de HCL al 10 %, se coloca en ultrasonido y luego se calienta en baño de María por 5 minutos, se enfrió y se filtró. Posteriormente se dividió el filtrado en 3 tubos (1,0 mL) de ensayo para cada reactivo. Se adicionó en el respectivo tubo el reactivo de Mayer, Wagner o Dragendorff, la aparición de un precipitado o turbidez indica la presencia de alcaloides (Domínguez, 1979).
- **Ensayo con FeCl₃ (Compuestos fenólicos):** la muestra se disolvió en agua y se le añaden unas gotas de solución de cloruro de hierro (III) diluido. La formación de una coloración roja, azul, verde, o púrpura indica la presencia de fenoles (Domínguez, 1979).
- **Ensayo de gelatina al 1 % (Taninos):** se disolvió la muestra en agua y se adicionó 2 gotas de reactivo de gelatina. Si hay la formación de un precipitado blanco indica la presencia de taninos (Domínguez, 1979).
- **Ensayo con hidróxido de amonio (Cumarinas):** Se concentró una porción del extracto y se le adicionó 0,5 mL de etanol y dos gotas de hidróxido de amonio concentrado. Se considera positiva la prueba si se presenta una fluorescencia azul-violeta bajo la luz UV (Domínguez, 1979).
- **Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5 % (Quinonas):** En un tubo de ensayo se colocó 10 mg de la muestra, 0,2 mL de etanol y 0,4 mL de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5 %. Si se observa que hay formación de coloración roja, indica la positividad de la prueba (Domínguez, 1979).
- **Prueba de altura y estabilidad de espuma (Saponinas):** En cada tubo de ensayo se colocó 1,0 mL de cada extracto, luego se agitó vigorosamente y se observa si hay presencia de espuma a la altura de los ojos. Se considera positiva la prueba si la espuma alcanza una altura de 8 a 10 mm y se mantiene por 30 minutos (Domínguez, 1979).

- **Prueba de glicósidos cardiotónicos:** Se reparó en un tubo de 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado; en otro tubo colocar el extracto con 2,5 mL de agua, adicionar 1 mL de ácido acético glacial y adicionar una gota de tricloruro férrico, se mezcló y se adicionó al tubo con ácido sulfúrico previamente preparado. La presencia de un anillo marrón es indica positividad del ensayo (Domínguez, Monroy y Hernández, 2017).
- **Prueba de lactonas sesquiterpénicas:** Se colocó 2 mg del extracto con una solución de hidróxido de sodio al 10 %, un color amarillo o naranja que se pierde al adicionar una gota de ácido clorhídrico indica la presencia del anillo lactónico (Domínguez, Monroy y Hernández, 2017).

Evaluación de la actividad antimicrobiana de la corteza de *Samanea saman*

La investigación se realizó por el método de difusión en agar con discos descrita por Velasco, Rojas, Salazar, Rodríguez, Díaz, Morales y Rondón (2007), frente cepas de referencia internacional. En los laboratorios de Micología “Dr Corrado Capretti” y de Actinomicetos “Dr. José A. Serrano R.” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la asesoría de los Profesores Clara Díaz, Yndra Cordero, Ysbelia Obregon, Alexander Moreno y el Auxiliar de Laboratorio Emilio Salazar.

Cepas de referencia internacional

- **Bacterianas:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- **Fúngicas:** *Candida albicans* ATCC 14053 y *Candida krusei* ATCC 6258.

Preparación de los discos

Los discos son papel de filtro de 2 mm de grosor por 6 mm de diámetro, se organizaron en placas de Petri y se esterilizaron bajo luz ultravioleta (LUV) durante 90 minutos previos al ensayo. Luego, se impregnaron con 10 µL del extracto antes del ensayo antibacteriano y 20 µL del extracto para el ensayo antifúngico. Se incubaron los discos a 4 °C por 4 horas previamente a la inoculación.

Preparación de los Inóculos

Los inóculos se prepararon a partir de un cultivo fresco de 24 h, luego en un tubo con solución salina, las cepas de referencia internacional se llevaron a una turbidez correspondiente al del patrón de McFarland N° 0,5 ($3 \times 10^{6-8}$ UFC/mL, UFC: unidades formadoras de colonias) (bacterias) y patrón de McFarland N° 1,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) (levaduras) (Narváez, Gómez, Martínez, 2008).

Actividad antibacteriana

Preparación de las placas de Petri

Se utilizó 20 mL de agar Müller-Hinton (HIMEDIA®) (Clinical and Laboratory Standards Institute [NCCLS], 2004). Posteriormente las placas se dejaron solidificar a temperatura ambiente, luego se realizó el control de esterilidad y se conservaron a 4 °C hasta su uso.

Inoculación

Una vez preparado el inóculo de cada cepa bacteriana de referencia, se realizó un hisopado en forma de colchón sobre el agar Müller-Hinton. Luego se colocaron en la superficie del agar inoculado, los discos de papel

de filtro previamente impregnados con el extracto, además, se ubicaron los discos de los antibióticos de referencia para cada cepa como controles positivos.

Determinación de la actividad antibacteriana

El agar Müller-Hinton previamente inoculado se llevó a incubación en una estufa por 24 horas a 37 °C en presencia de oxígeno. Más adelante, se midieron los halos de inhibición alrededor de los discos, expresando los datos en mm.

Actividad antifúngica

Preparación de las placas de Petri e inoculación

Se agregaron 20 mL agar Müller-Hinton modificado (HIMEDIA®) suplementado con 2 % p/v de glucosa y azul de metileno (0,05 µg/mL) y se les añadió el inóculo preparado anteriormente de cada cepa fúngica de referencia, se mezcló y se dejó solidificar 15 min a temperatura ambiente, luego se le colocaron en la superficie del agar los discos impregnados con el extracto (20 µL) y los antifúngicos de referencia como controles positivos y DMSO como control negativo (Martín, Péman y Rubio, 2001).

Determinación de la actividad antifúngica

El agar Müller-Hinton modificado previamente inoculado se incubó en una estufa por 24 - 48 horas a 37 °C en presencia de oxígeno. Posteriormente, se procedió a la medición de los halos de inhibición alrededor de los discos, expresando los datos en mm.

Diseño de análisis

Los datos que se recolectaron en la presente investigación fueron analizados desde un punto de vista cuantitativo Palella y Martins (2010), refirieron que un enfoque cuantitativo se debe cuando los datos se expresan en números y su análisis a través de operaciones matemáticas, siendo estudiadas las características que se midan según su naturaleza cuantitativa o cualitativa. En tal sentido, las características cuantitativas de este trabajo fueron discretas, y a su vez tendrán una escala de medida de intervalo y de razón. Por otro lado, las características cualitativas tienen una escala de medida nominal y ordinal.

El universo de esta investigación está representado por plantas dentro de la familia Fabaceae. Así mismo, la población está representada por la especie vegetal *Samanea saman*. Para finalizar, la muestra de este trabajo de investigación fue la corteza de *Samanea saman*.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

De los extractos de hexano, acetona y etanol con la corteza de *Samanea saman* mediante el método de extracción a reflujo, se obtuvieron las siguientes características físicas (Tabla 5):

Tabla 5. Características físicas de los extractos de la corteza de *Samanea saman*

CARACTERÍSTICAS	Extractos Corteza		
	Hexano	Acetona	Etanol
Aspecto	Viscoso	Viscoso	Viscoso
Color	Rojo	Rojo	Rojo
Olor	Característico	Característico	Característico
Peso del material seco	200 g	200 g	200 g
Peso del extracto	0,38 g	0,93 g	4,41 g
Rendimiento	0,19 %	0,465 %	2,205 %

Fuente: Heredia y Aparicio, 2023.

Análisis fitoquímico de *Samanea saman*

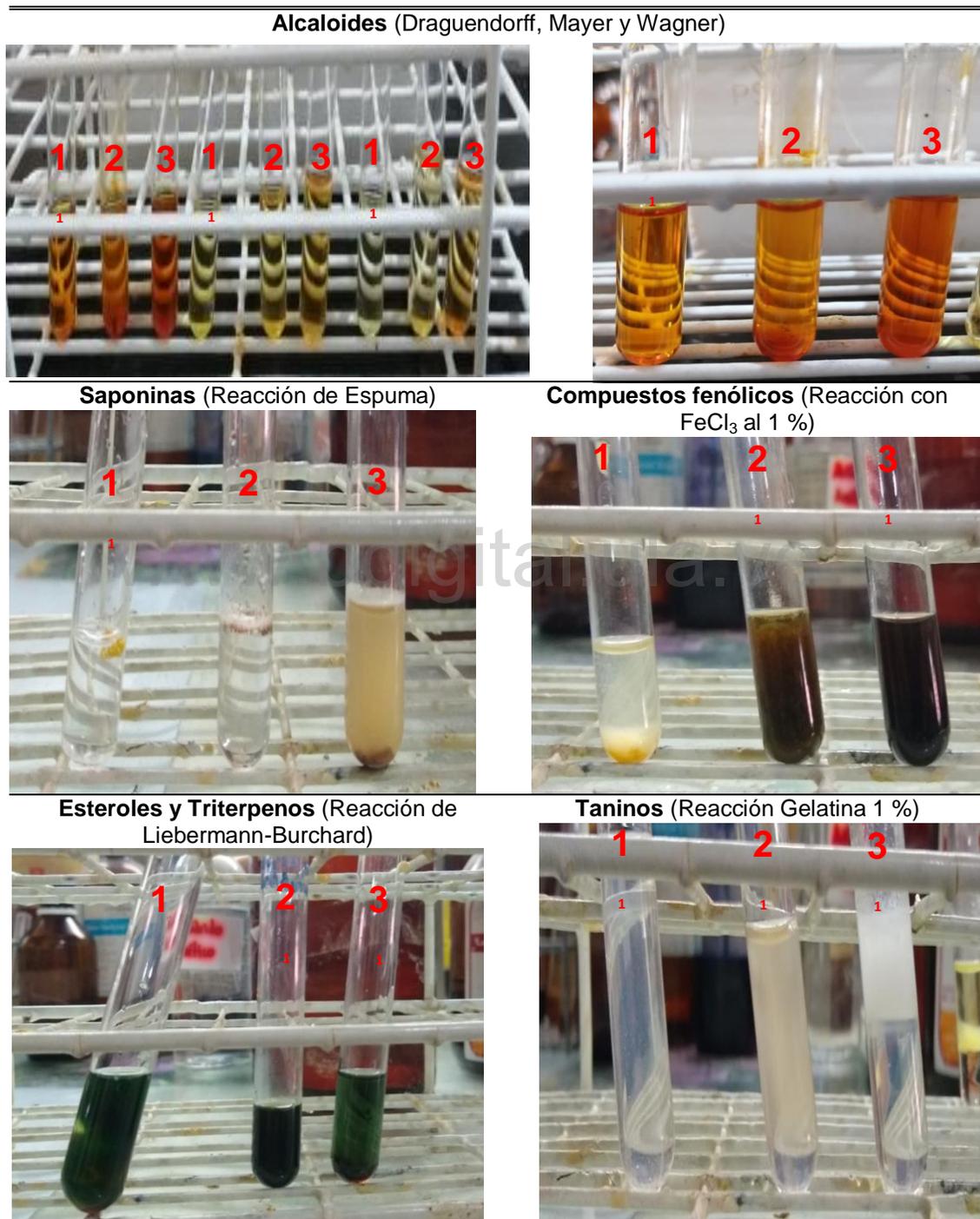
El análisis de fitoquímico de los extractos de hexano, acetona y etanol de la corteza de *Samanea saman* se realizó mediante pruebas químicas cualitativas, que para determinar la presencia de metabolitos secundarios se agregaron diferentes reactivos químicos observándose reacciones de coloración, precipitación, fluorescencia y producción de espuma. Los resultados se resumen a continuación (tabla 6) (figura 18).

Tabla 6. Resultados del análisis fitoquímico de los extractos de la corteza de *Samanea saman*

Metabolito	Prueba	Extracto de hexano	Extracto de Acetona	Extracto Etanol
Alcaloides	Mayer	-	-	-
	Dragendorff	-	+	+
	Wagner	-	-	-
Esteroles y Triterpenos	Reacción de Liebermann-Burchard	(Verde) +++	(Verde) +++	(Rojo) +++
Saponinas	Reacción de Espuma	-	-	-
Compuestos fenólicos	Reacción con FeCl ₃ al 1 %	-	(Negro) ++	(Negro) +++
Taninos	Reacción Gelatina 10 %	-	-	-
Flavonoides	Reacción de Shinoda	-	(Naranja) ++	(Rosa) +
Quinonas y/o Antraquinonas	Reacción con NH ₄ OH	-	-	-
	Reacción con H ₂ SO ₄	-	-	-
Cumarinas	Reacción con NH ₄ OH conc.	-	-	-
Glicósidos cardiotónicos	Reacción de Keller-Kilan	-	(Negro) +	(Negro) +
Lactonas sesquiterpénicas	Reacción de Baljet	-	(Naranja) +	(Naranja) +

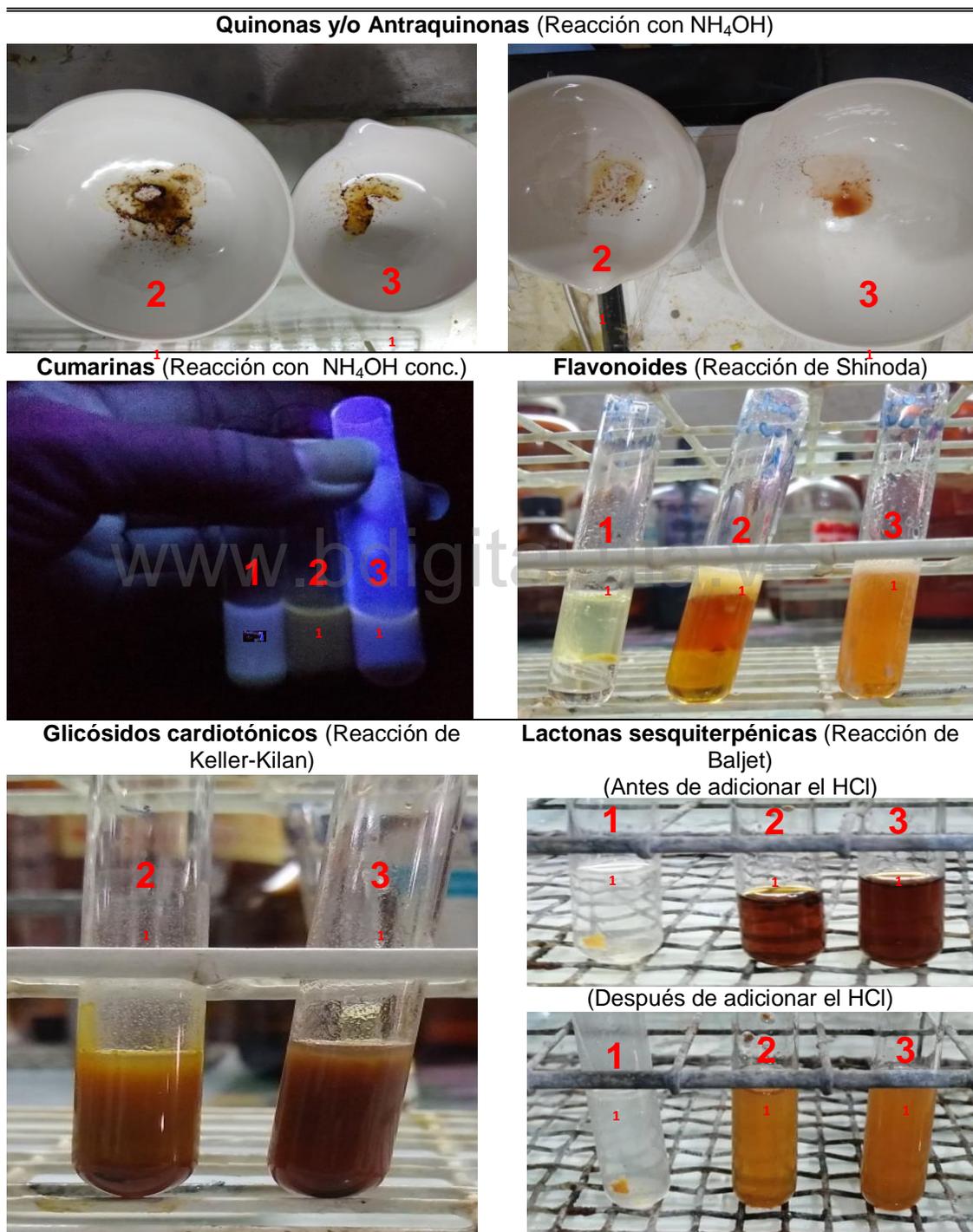
+++ Muy abundante; ++ Abundante; + Poco abundante; - Negativo.

Figura 18. Análisis fitoquímico de los extractos de la corteza de *Samanea saman*



1: extracto de hexano; 2: extracto de acetona; 3: extracto de etanol.

Figura 18. Análisis fitoquímico de los extractos de la corteza de *Samanea saman* (Continuación).



1: extracto de hexano; 2: extracto de acetona; 3: extracto de etanol.

Actividad antimicrobiana de *Samanea saman*

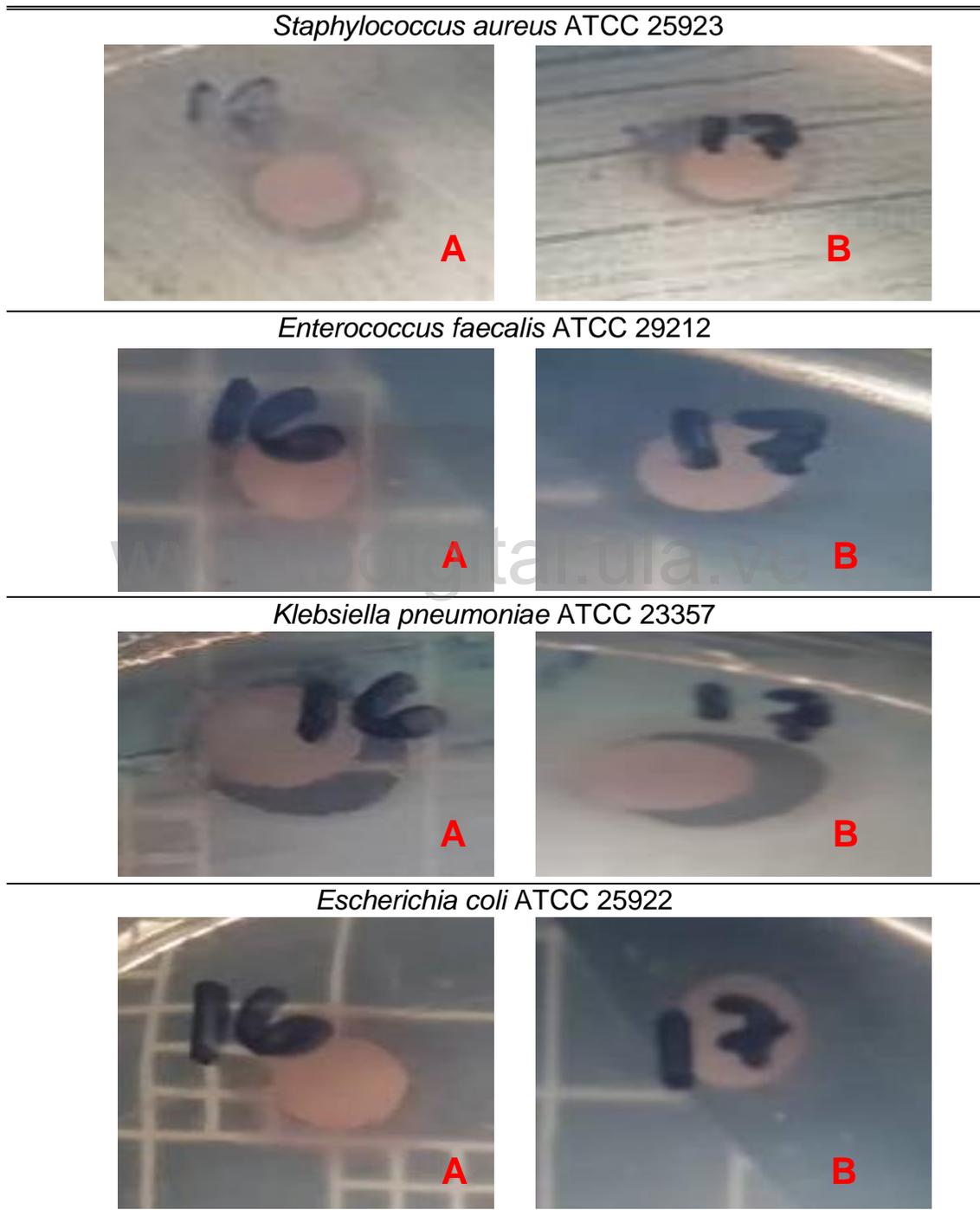
Se midió la actividad antimicrobiana de los extractos de hexano, acetona y etanol de la corteza de *Samanea saman* en las cepas de referencia internacional a través del método de difusión en agar con discos, utilizando agar Müeller-Hinton (HIMEDIA®) para la actividad antibacteriana y Müeller-Hinton modificado (HIMEDIA®) para la actividad antifúngica con los procedimientos descritos anteriormente para cada uno, obteniendo así los siguientes resultados (tabla 7) (Figura 19):

Tabla 7. Resultados de la actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman* frente a cepas de referencia internacional.

Microorganismos	Halo de Inhibición (mm)								CMI (mg/mL)
	Extracto (10 mg/mL)		Antibióticos			Antifúngicos			
	SSCAc	SSCEt	PIP	AMP	ERI	FLO	VOR	DMSO	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8	9	-	-	26*				ND
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	7	7	-	17*	-				ND
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	9	9	18*	-	-				ND
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	21*	-	-				ND
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	7	7	32*	-	-				ND
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	8	-				50*		-	9
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	8	-					20*	-	8

Leyenda: **SSCAc**: *Samanea saman* corteza acetona; **SSCEt**: *Samanea saman* corteza etanol; **PIP**: Piperacilina® 100 µg; **AMP**: Ampicilina® 10 µg; **ERI**: Eritromicina® 15 µg; **FLO**: Fluconazol® 25 µg; **VOR**: Voriconazol® 25 µg; **DMSO**: Dimetilsulfóxido; **mm**: Milímetros; **ND**: No determinado.

Figura 19. Actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman* frente a cepas de referencia internacional.



A: extracto de acetona; **B:** extracto de etanol.

Figura 19. Actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza de *Samanea saman* frente a cepas de referencia internacional (Continuación).

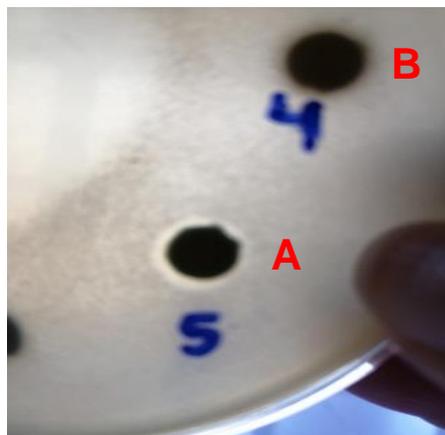
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853



Candida albicans ATCC 14053



Candida krusei ATCC 6258



A: extracto de acetona; **B:** extracto de etanol; **C:** control de crecimiento.

Discusión

En este trabajo de investigación se obtuvo como resultado del análisis fitoquímico que los extractos de la corteza de *Samanea saman* poseen alcaloides, esteroides, triterpenos, compuestos fenólicos, flavonoides, glucósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas, siendo los extractos de acetona y etanol los que más incorporaron metabolitos secundarios (tabla 6). Estos resultados son similares y fueron comparados con los realizados anteriormente por: Thein y cols (2019), donde en este trabajo previo obtuvieron mediante percolación con etanol casi los mismos metabolitos secundarios, por excepción de tener la ausencia de flavonoides y de no investigar la presencia de lactonas sesquiterpénicas, quinonas y cumarinas; también el trabajo previo de Moreno y cols (2021), reportaron a través del método de extracción de Soxhlet a reflujo con extractos etanólicos e hidroetanólicos pocos metabolitos secundarios, solamente terpenos, esteroides, saponinas y resinas; incluso, es parecido a los resultados de Domínguez, Monroy y Hernández (2017), que a través de maceración con éter, alcohol y agua encontraron la presencia de taninos, carbohidratos, flavonoides, saponinas, mucilago, cumarinas, fenoles y alcaloides, donde se obtuvo más fitoquímicos que en el actual trabajo de investigación, pero con la ausencia de glicósidos cardiotónicos, esteroides y triterpenos.

De igual manera, se pueden comparar los resultados obtenidos de otras partes de especie *Samanea saman*, como es el caso del trabajo previo de Moreno y cols (2021), que a través de la extracción de Soxhlet a reflujo con extractos metanólicos del fruto de *Samanea saman* consiguieron más fitoquímicos a comparación con la corteza, a pesar de no encontrar flavonoides; otro trabajo previo utilizó el mismo método, pero utilizando las flores como muestra, y éter, cloroformo, acetato de etilo, acetona, etanol,

metanol y agua como solventes para la extracción, encontrando los mismos compuestos secundarios en el presente trabajo de investigación, difiriendo en la ausencia de alcaloides y esteroides, y por el hecho de si presentar saponinas (Hait, Kashyap, Deepak y Patel 2020); incluso en las hojas Thippeswamy, Praveen, Mohana y Manjunath (2011) consiguieron mediante maceración con agua y extracción de Soxhlet con éter de petróleo, tolueno, cloroformo, metanol y etanol los mismos fitoquímicos que en la corteza de esta investigación más la aparición de saponinas, carbohidratos, taninos y quinonas; también las vainas obtuvieron los mismos metabolitos secundarios, solo se diferencian en la ausencia de flavonoides y la presencia de resinas saponinas y taninos (Kennard y Eden, 2016).

La composición química de la corteza de *Samanea saman* es similar en los diferentes países y a las distintas partes de esta planta donde se han realizado estudios, pero la presencia o ausencia de diferentes metabolitos secundarios se debe en gran medida a que se usaron diferentes solventes en algunos casos, donde al tener polaridades distintas pudo afectar los resultados, además de las distintas condiciones geográficas donde se encontraban estas plantas.

En cuanto a la actividad antimicrobiana, los extractos de acetona y etanol de la corteza de *Samanea saman* fueron analizados para medir su actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar con discos a una concentración de 10 mg/mL, logrando la inhibición del crecimiento de *S. aureus* (8 mm con acetona y 9 mm con etanol), *E. faecalis* (7 mm ambos extractos), *K. pneumoniae* (9 mm ambos extractos), *P. aeruginosa* (7 mm ambos extractos), *C. albicans* (8 mm con acetona, y una concentración mínima inhibitoria de 9 mg/mL) y *C. krusei* (8 mm con acetona y una concentración mínima inhibitoria de 8 mg/mL) (tabla 7), son comparables con

el trabajo previo de Thein y cols (2019) reportando que los extractos usando percolación con *n*-hexano, cloroformo, acetona, acetato de etilo y etanol mostraron actividad antimicrobiana contra las cepas de referencia internacional analizadas, estando presente *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*, siendo el extracto con cloroformo el que produjo los halos de inhibición más grandes (20 - 28 mm de diámetro); por otro lado, Ferdous, Imam y Ahmed (2010) lograron la inhibición del crecimiento de 13 bacterias y 3 hongos, donde se encontraban *S. aureus* (7 mm), *E. coli* (8 mm), *P. aeruginosa* (10 mm) y *C. albicans* (7 mm), utilizaron una fracción de extracto de tetracloruro de carbono proveniente de un extracto con metanol previamente obtenido por maceración para estos resultados; de igual manera, utilizando las mismas 13 especies bacterianas y 3 fúngicas, pero utilizando la fracción soluble en tetracloruro de carbono de un extracto metanólico de la planta entera obtenido por maceración, y agregando 300 µg/disco, se demostró la inhibición del crecimiento de todas las especies microbianas, incluso *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans* tomaron las mismas longitudes de halos de inhibición anteriormente expuestos (Ferdous, Hossain, Rahman, Hossain, Kair y Rashid, 2010).

Finalmente, se evidenció que los extractos de acetona y etanol de la corteza de *Samanea saman* no presentaron actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*, y a su vez el extracto etanólico no inhibió el crecimiento de *C. albicans* y *C. krusei*, donde a pesar de que ambos extractos arrojaron los mismos resultados en el análisis fitoquímico, el extracto de etanol no debe tener la concentración necesaria de el/los metabolito/s responsable/s de dicha actividad. Se llegó a la conclusión que la corteza de *Samanea saman* si posee actividad antimicrobiana, incluso si la especie es obtenida en otro país.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El análisis fitoquímico de los extractos de la corteza de *Samanea saman* reveló la presencia de esteroides en el extracto de hexano, mientras que en el de acetona y etanol hubo la presencia de alcaloides (Dragendorff), esteroides, triterpenos, compuestos fenólicos, flavonoides, glucósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas.

Los extractos de acetona y etanol de la corteza de *Samanea saman* a una concentración de 10 mg/mL mostraron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* (8 mm y 9 mm), *E. faecalis* (7 mm), *K. pneumoniae* (9 mm) y *P. aeruginosa* (7 mm), aunque no hubo inhibición del crecimiento sobre *Escherichia coli*.

Solamente el extracto con acetona mostró actividad antifúngica sobre *Candida albicans* (8 mm) y *Candida krusei* (8 mm) obteniendo una concentración mínima inhibitoria de 9 mg/mL para *Candida albicans* y 8 mg/mL para *Candida krusei*.

La corteza de *Samanea saman* contiene distintos metabolitos secundarios de interés, además de una amplia actividad antimicrobiana, siendo una especie vegetal de interés farmacéutico.

Este es el primer reporte de la actividad antimicrobiana y composición química de la Corteza *Samanea saman* del estado Bolívar-Venezuela.

Recomendaciones

Realizar el análisis fitoquímico más profundo con otros solventes a fin de apreciar posibles nuevos metabolitos secundarios presentes.

Aislar y evaluar la actividad antimicrobiana de cada metabolito secundario encontrado para determinar el responsable de dicha actividad.

Aplicar diferentes concentraciones de los extractos sobre las cepas bacterianas de referencia internacional con el objetivo de determinar la concentración mínima de los extractos y si las concentraciones más elevadas amplían el diámetro del halo de inhibición.

Determinar la actividad antifúngica de los extractos en mohos, ya que anteriormente la corteza de esta planta ha permitido ver la inhibición de su crecimiento.

BIBLIOHEREMEROGRAFÍA:

- Albornoz A. (1980). Sustancias y Drogas Extraídas de Plantas. Universidad Central de Venezuela. Caracas-Venezuela.
- Albornoz A. (2001). Medicina Tradicional Herbaria. Caracas-Venezuela: Instituto Farmacoterápico Latino S.A.
- Allevato A., Negroni R. y Galimberti R. (2007). Antifúngicos ayer, hoy y mañana. Actualizaciones Terapéuticas Dermatológicas, 30(8): 1-12.
- Alonso B., Rovira R., Vegas C. y Pedrosa M. (2010). Papel de las leguminosas en la alimentación actual. Actividad Dietética, 14(2): 72-76.
- Arenas R. (2014). Micología Medica Ilustrada. México: Mc Graw Hill Education.
- Arias F. (2006). El Proyecto de Investigación. Introducción a la metodología científica. Caracas, Venezuela: Editorial Episteme, C.A.
- Aricapa D. (2009). Actividad Antimicrobiana de Plantas Sobre Microorganismos Cariogénicos. (Tesis de grado). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá Colombia.
- Arulpriya P., Lalitha P. y Hemalatha S. (2010). Antimicrobial Testing of the Extracts on *Samanea saman* (Jacq.) Merr. Der Pharma Chemica, 2(6): 78-83.
- Ávalos A. y Pérez E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Filosofía Vegetal, 2(3): 119-145.
- Becerra D. (2004). Micología Norteafricana. De la Prehistoria al Mundo Antiguo. Vegueta. Anuario de la Facultad de Geografía e Historia, 1(8): 19-34.
- Benavides C. (2017). *Samanea saman*. Salida de Campo III Semestre. Recuperado de:

<https://diversidadbiologica1upn.wordpress.com/2017/06/02/samanea-saman/>

- Berroterán J. (2003). Ordenamiento Territorial de la Reserva Forestal Imataca y sus Áreas Adyacentes (Bases del Plan de Ordenamiento). Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales, Dirección General de Planificación y Ordenación del Ambiente Dirección General del Recurso Forestal.
- Bidart T. (2004). Rol de voriconazol y caspofungina en terapia antifúngica. *Revista Chilena de Infectología*, 21(1): S13-S19.
- Bonilla J. y Córdoba E. (2021). Evaluación de la Composición Química de las Cenizas de Samán (*Samanea saman*) y Algarrobo (*Ceratonia siliqua*) para Aprovechamiento como Potasa. (Tesis de Grado). Universidad Agraria del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrarias. Guayaquil-Ecuador.
- Brooks G., Morse S., Carroll K., Mietzner T. y Butel J. (2010). Jawetz, Melnick, Aldelberg *Microbiología Médica* (25ª edición). México: Editorial Mc Graw Hill Interamericana.
- Brown T., LeMay E., Bursten B. y Burdge J. (2004). Introducción: materia y medición. *Química la Ciencia Central*. México: Prentice Hall Inc.
- CABI. 2020. Invasive Species Compendium. *Albizia saman*. Recuperado de: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/4026#toDistributionMaps>
- Carpenter P. (1979). *Microbiología* (4ª edición). México: Nueva Editorial Interamericana.
- Carrión A. y García C. (2010). Preparación de Extractos Vegetales: Determinación de eficiencia de Metodica (tesis de grado). Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Cuenca-Ecuador.
- Castillo E, y Martínez S. (2007). *Manual de Fitoterapia*. Elsevier. España.

- Cisneros P. (2018). *Samanea saman* (Jacq.) Merr. Recursos arbóreos y arbustivos tropicales para una ganadería bovina sustentable. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Pedro_Cisneros-Sanguillan/publication/333117874_Samanea_saman_Jacq_Merr/links/5cdc519492851c4eaba35d51/Samanea-saman-Jacq-Merr.pdf
- Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS). (2004). Performance Standards of Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement, 35(3).
- Delgado D. Hera R. Cairo J. y Orta Y. (2014). *Samanea saman*, árbol multipropósito con potencialidades como alimento alternativo para animales de interés productivo. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 48(3): 205-212.
- Delgado G. (2005). Los Productos Naturales Orgánicos: su diversidad estructural y origen químico. Revista ciencia. Recuperado de https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/56_2/productos_naturales.pdf
- Degen R. y González Y. (2014). Plantas Medicinales Utilizadas en las Comunidades de Itá Azul y San Gervasio (Paraguay). Revista de Fitoterapia, 14(2): 153-166.
- Divo A. (1977). Microbiología Médica: Bacteriología, Inmunología, Virología y Micología (3ª edición). México: Editorial Interamericana.
- Domínguez M., Monroy I. y Hernández V. (2017). Caracterización Fitoquímica de *Samanea saman* (Jacq) Merr. (Algarrobo). Revista Cubana de Ciencias Forestales, 5(1): 49-61.
- Domínguez X. (1979). Métodos de Investigación Fitoquímica. México. Editorial Limusa.
- Doyle J. y Luckow M. (2003). The Rest of the Iceberg. Legume Diversity and Evolution in a Phylogenetic Context. Plant Physiology, 131(1): 900-910.

- Duke J. (1983). *Samanea saman* (Jacq.) Merr. Handbook of Energy Crops. Recuperado de https://hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Samanea_saman.html
- Elías J. (2021). Manejo no Operatorio de la Lesión Inicial de la Caries Dental: Una Revisión de Literatura. (Tesis de pregrado). Universidad Iberoamericana. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela de Odontología: Santo Domingo – República Dominicana.
- Ferdous A., Imam M. y Ahmed T. (2010). Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Samanea saman* (Jacq.) Merr. Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences, 3(1): 11-17.
- Ferdous F., Hossain M., Rahman M. K., Hossain M. A., Kair S. y Rashid M. (2010). Chemical and Biological Investigations of *Samanea saman* (Jacq.) Merr. Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences, 9(2): 69-73.
- Fonnegra R. y Jiménez S. (2007). Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia. Colombia: Universidad de Antioquia.
- Galán A. y Sánchez I. (2013). Principios de Botánica Farmacéutica. Cajamarca, Perú. Editorial UPAGU.
- Gutiérrez A. y Estévez A. (2009). Relevancia de los Productos Naturales en el Descubrimiento de Nuevos Fármacos en el S. XXI. Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales, 103(2): 409-419.
- Hait M., Kashyap N., Deepak J. y Patel A. (2020). Seclusion of Bioactive Components from Flower of *Samanea saman*. Plant Archives, 20(2): 4581-4584.
- Harvey R., Champe P. y Fisher B. (2008). Microbiología. España: Wolters Kluwer.
- Hernández J., Sánchez P., Torres N., Herrera J., Rojas A., Reyes I. y Mendoza M. (2018). Composición química y degradaciones *in vitro* de

- vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 9(1): 105-120.
- Hernández, S., Fernández, C., y Baptista, L. (2010). *Metodología de la investigación* (5ª edición). México: Editorial Mc Graw Hill education.
- Horna G., Silva M., Vicente W. y Tamariz J. (2005). Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida de Ciprofloxacina en Bacterias Uropatógenas Aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Revista Médica Herediana*, 16(1): 39-45.
- Hurtado de Barrera J. (2000). *Metodología de la Investigación Holística Guía para la comprensión holística de la ciencia*. (3ª edición). Ediciones Quirón S.A. Cooperativa Editorial Magisterio: Bogotá, Colombia. Ciea-Sypal: Caracas, Venezuela.
- Hurtado de Barrera J. (2010). *Metodología de la Investigación Holística Guía para la comprensión holística de la ciencia*. (4ª edición). Ediciones Quirón S.A. Cooperativa Editorial Magisterio: Bogotá, Colombia. Ciea-Sypal: Caracas, Venezuela.
- Kennard J. y Eden D. (2016). Qualitative Phytochemical Analysis and Microbial Inhibitory Activities of Pacific Rain Tree (*Samanea saman* (Jacq.) Merr.) Pods. *Advancements in Life Sciences - International Quarterly Journal of Biological Sciences*, 3(4): 125-129.
- Kindt T., Goldsby R. y Osborne B. (2007). *Inmunología de Kuby* (6ª edición). México: McGraw-Hill.
- Koenen E., Vos B., Atchison G., Simón M., Schrire B., de Sousa E., de Queiroz L. y Hughes C. (2013). Exploring the Tempo of Species Diversification in Legumes. *South African Journal of Botany*, 89: 19-30.
- Komakech R., Yong-goo K., Motlalepula G. y Youngmin K. (2019). Anti-inflammatory and analgesic potential on *Tamarindus indica* Linn. (Fabaceae): a narrative review. *Integrative Medicine Research*, 8(3): 181-186.

- Llamas F. y Acedo C. (2016). Las leguminosas (Leguminosae o Fabaceae): una síntesis de las clasificaciones, taxonomía y filogenia de la familia a lo largo del tiempo. *AmbioCiencias – Revista de Divulgación Científica*, 14: 5-18.
- Llanes R., Acosta J., Sosa J., Guzmán D., Gutiérrez O. y Llop A. (1999). Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* por difusión con discos. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 51(2): 116-119.
- Maguiña C. (2016). Infecciones Nosocomiales. *Acta Médica Peruana*, 33(3): 175-177.
- Maldonado S. (1998). Manual de dentrología para 146 especies forestales de litoral atlántico de Honduras. 2da Ed. Editorial la ceiba. Honduras.
- Marcano D. y Hasegawa M. (2018). Fitoquímica Orgánica. Caracas-U.C.V: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.
- Martín E., Péman F. y Rubio M. (2001). Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica (1ª edición). Editorial: Revista Iberoamericana de Micología – Asociación Española de Micología. Bilbao – España.
- Martínez A., Valencia, G y Jiménez, M. (2004). Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fotoquímica. Departamento de farmacia. Universidad de Antioquía, Medellín. Colombia.
- Matulevich J., Castrillón W., Chivita L. y Flores E. (2017). Caracterización química del aceite esencial de hojas de la especie vegetal *Senna reticulata* (Fabaceae). *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 13(2): 123-127.
- Mayz J. y Manzy L. (2017). Bacterias hidrocarburo clásticas del género *Pseudomonas* en la rizosfera de *Samanea saman* (Jacq.) Merr. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(1): 29-37.

- Merril E. (1916). The Systematic Position of the "Rain tree", *Phitecolombium Saman*. Journal of the Washington Academy of Sciences, 6(2): 42-48.
- Millián J., Iglesias O. y Valdés H. (2017). Caracterización fitoquímica de *Samanea Saman* (Jacq.) Merr. (algarrobo). Revista Cubana de Ciencias Forestales, 5(1): 49-61.
- Moreno M., Ramírez L. y Cedeño E. (2021). Evaluación del efecto antagónico de una biopelícula con extractos de *Samanea saman* frente a *Colletotrichum gloeosporioides* responsable de la antracnosis en mango. Revista Bionatura, 6(1): 1466-1472.
- Moret A., Ortiz A., Pérez Y., Quijada M. y Jerez M. (2007). Ecuaciones de Volumen para Árboles de Samán (*Samanea saman* (Jacq.) Merr.), Provenientes de Potreros en el Municipio Maquiches de Perijá, Estado Zulia, Venezuela. Revista Forestal Venezolana, 51(1): 87-96.
- Murray P., Rosenthal K. y Pfaller M. (2013). Microbiología Médica. Barcelona-España: Elsevier.
- Narváez S., Gómez L., Martínez, M. (2008). Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos aislados a partir de sedimentos del Caribe colombiano. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR. 37(1). 61-75.
- Ojeda A., Barroso J., Obispo N., Gil J. y Cegarra R. (2012). Composición química, producción de gas *in vitro* y astringencia en el forraje de *Samanea saman* (Jacq.) Merrill. Pastos y Forrajes, 35(2): 205-218.
- Pachay J. (2018). Las Infecciones Bacterianas y su Resistencia a los Antibióticos. Caso de Estudio: Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreces Colmont Solca", Portoviejo. Universidad y Sociedad, 10(5): 219-223.
- Parella S. y Martins F. (2010). Metodología para un estudio cuantitativo. (3ª edición). Editorial Fedupel. Caracas – Venezuela.

- Palma J. y González C. (2018). Recursos arbóreos y arbustivos tropicales para una ganadería bovina sustentable. Universidad de Colima – México.
- Paredes F. y Roca J. (2004). Acción de los Antibióticos: Perspectiva de la Medicación Antimicrobiana. *Offarm: Farmacia y Sociedad*, 23(3): 116-124.
- Paula A. (2014). Ethnopharmacological aspects of the genus *Samanea merril* (Fabaceae). *Journal of Medicinal Plant Research*, 8(26): 924-927.
- Pereira A., Oliveira J., Martins A., Cruvinel W. y Sousa C. (2020). Evaluación química, fisicoquímicas y actividad antifúngica de los aceites esenciales de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). *Revista Cubana de Farmacia*, 53(3): 1-17.
- Pino S. Prieto S. Pérez M. y Molina J. (2004). Género *Erythrina*: Fuente de Metabolitos Secundarios con Actividad Biológica. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 23(2): 252-258.
- Prashant T., Bimlesh K., Mandeep K., Gurpreet K. y Harleen K. (2011). Phytochemical screening and Extraction. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1): 98-106.
- Prescott L., Harley J. y Klein D. (2003). Microbiología. (4ª edición). España: Editorial Mc Graw Hill Interamericana.
- RAE (2021). Eluir. Extraído de: <https://dle.rae.es/eluir>
- Ryan K. y Ray G. (2010). Sherris Microbiología Médica (5ª edición). México: Editorial Mc Graw Hill.
- Ringuelet J. y Viña S. (2013). Productos naturales vegetales. Editorial Edulp. Buenos Aires-Argentina.
- Roncallo F., Torres V. y Sierra M. (1999). Producción de vacas de doble propósito suplementadas con frutos de Algarrobbillo (*Phitecellobium saman*) durante las lluvias. Corporación Colombiana de Investigación

- Agropecuaria (AGROSAVIA) Biblioteca Agropecuaria de Colombia, (BAC). Recuperado de: <http://www.fao.org/3/Y4435S/y4435s0m.htm>
- Rosado M., Brito W., Mena G., Quintero E. y Flores J. (2000). Antimicrobial activity of Fabaceae species used in Yucatan traditional medicine. *Fitoterapia*. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00200-8](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00200-8)
- Sánchez M. (2021). Historia y Futuro de las Pandemias. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 32(1): 7-13.
- Schmidt L. (2008). *Samanea saman* (Jacquin) Merril. Forest & Landscape Denmark. Seed & Leaflet. Recuperado de https://curis.ku.dk/ws/files/20572920/143_net.pdf
- Sharapin N., Machado L., Sousa E., Rocha E., Macedo E. y Lopes J. (2000). Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Colombia: Editorial Convenio Andrés Bello.
- Sheeran D., Hitchcock C. y Sibley C. (1999). Current and Emerging Azole Antifungal Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, (1):40-79.
- Staples G. y Elevitch C. (2006). *Samanea saman* (rain tree). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Recuperado de pdfs.semanticscholar.org/87eb/b80b683105b927c9b9a37cf441fe219a7cc7.pdf
- Thein Y., Khaing K. y Myint K. (2019). Investigation of Bioactive Compounds from The Bark of *Samanea saman* (Jacq) Merr. (Thinbaw - Kokko). *International Journal of Scientific Engineering and Technology Research*, 8(1), 284-287.
- Thippeswamy S., Praveen P., Mohana D. y Manjunath K. (2011). Antimicrobial Evaluation and Phytochemical Analysis of Known Medical Plant *Samanea saman* (Jacq.) Merr. Against Some Human and Plant Pathogenic Bacteria and Fungi. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(2): 443-452.

- Thusharkumar, P. (2011). Evaluation os bark of *Samanea saman* (Jacq.) Merr of antioxidant and organ protective properties. Rajiv Gandhi University of Health Sciencies, Karnataca. Recuperado de: <https://52.172.27.147:8080/jspui/bitstream/123456789/5391/1/Pandya.pdf>
- Valcárcel M. y Gómez A. (1988). Técnicas analíticas de separación. (1ª Edición). Editorial Reverte. Barcelona – España.
- Velasco J., Rojas J., Salazar P., Rodríguez M., Díaz T., Morales A. y Rondón M. (2007). Antibacterial activity of the essential oil of *Lippia oreganoides* against multiresistant bacterial strains of nosocomial origin. *Natural Products Communication*, 2(1):85-88.
- Vinodhini S., y Rajeswari D. (2018). Review on Ethnomedical Uses, Pharmacological Activity and Phytochemical Constituents of *Samanea saman*(jacq.) Merr. *Rain Tree. Pharmacogn J.*, 10(2): 202-209.
- Voigt R. (1982). Tratado de tecnología Farmacéutica. Editorial Acriba. España.
- Willey J., Shewood L, y Woolverton C. (2008). Prescott, Harley y Klein Microbiología (7ª Edición). Madrid-España: Editorial Mc Graw Hill Interamericana.