

REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA  
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS  
CRUDOS Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE  
PLANTAS PERTENECIENTES A LA FAMILIA BIGNONIACEAE**

(Trabajo de Grado para optar al título de Licenciado en Bioanálisis)

**Autoras:** Jaimez G. Deisy N.  
C.I.: 18.819.140

Moreno G. Sindy I.  
C.I.: 19.096.260

**Tutora:** MSc. Villarreal Silvana

Mérida, Marzo de 2013



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, ANTIOXIDANTE DE  
EXTRACTOS CRUDOS Y COMPOSICIÓN QUÍMICA  
DEL ACEITE ESENCIAL DE PLANTAS  
PERTENECIENTES A LA FAMILIA BIGNONIACEAE  
(*Spathodea campanulata*, *Podranea ricasoliana*,  
*Tecoma stans* y *Jacaranda mimosifolia*)**



## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios todo poderoso por darnos salud y fortaleza para seguir adelante día tras día y permitirnos cumplir una meta más en nuestras vidas. Gracias señor por siempre estar presente.

A nuestros padres quienes con sus esfuerzos, palabras y acciones llenaron cada día de entusiasmo y de fuerza nuestros caminos. Gracias por todo su amor, su paciencia y su amistad.

A la ilustre Universidad de Los Andes, por abrirnos las puertas para formarnos como profesionales.

A la profesora Silvana Villarreal, por su tutoría, apoyo, dedicación y optimismo para la realización de este trabajo de investigación. Gracias Profe.

A los profesores Tulia Díaz, María Eugenia Lucena, Lorena Díaz y Luis Rojas por su valiosa colaboración en la obtención de los extractos y en la evaluación de la actividad antibacteriana y antioxidante.

Al Ingeniero Juan Carmona, por el aporte realizado en la selección e identificación taxonómica de las especies estudiadas.

Al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, por abrirnos las puertas en la obtención de los extractos y del aceite de las especies estudiadas.

A nuestros amigos y todas aquellas personas que de alguna manera nos dieron su apoyo durante la carrera.

**GRACIAS**

## **DEDICATORIA**

A DIOS por permitirme vivir y darme salud y sabiduría para alcanzar una meta más en mi vida.

A mi padre MIGUEL JAIMEZ por su confianza, esfuerzo y apoyo para hacer posible esta meta. Te quiero mucho.

A mi abuela BARBARA PEÑA por haberme dedicado parte de su vida. Te extraño nona.

A MIS TÍOS Aide, Nelly, Elisa y Alberto por los valores inculcados y por haber visto de mí en gran parte de mi vida. Los quiero Mucho.

A SINDY MORENO por ser mi compañera y amiga durante gran parte de la carrera, porque a pesar de todos los obstáculos que tuvimos, su paciencia y dedicación nos motivó a seguir adelante.

A MIS AMIGOS y demás familiares que de alguna forma u otra contribuyeron en mi formación profesional.

GRACIAS A TODOS.

**Jaimez N. Deisy**

## DEDICATORIA

DEDICO esta tesis principalmente a DIOS todo poderoso. Por ser mi creador, el motor de mi vida, por darme la dicha de vivir, por estar conmigo en cada paso que doy, fortaleciendo mi corazón e iluminando mi mente; enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la fe, ni desfallecer en el intento, dándome la oportunidad de vivir la experiencia del saber y por colocar en mi camino aquellas personas que han sido mi soporte y compañía.

A MIS PADRES: NELCY GUERRA Y RAMON MORENO gracias por su apoyo, consejo, comprensión, y ayuda en los momentos más difíciles, por apoyarme con los recursos necesarios para estudiar, me han dado lo que soy como persona a pesar de las dificultades; mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, y mi coraje para conseguir mis objetivos y por estar siempre presente en cada meta de mi vida. Esto se los dedico con mucho CARIÑO, como símbolo de gratitud por su amor incondicional que siempre me han manifestado. ¡LOS AMO!

A mi hermana: SILENE MORENO *por estar conmigo y apoyarme siempre, la quiero mucho.*

A MIS COMPAÑERA DE TESIS: NATHALY JAIMES Porque a pesar de los momentos difíciles que tuvimos pudimos salir adelante con nuestro trabajo, por su paciencia, comprensión y cariño. Por haber logrado juntas este triunfo y por ser muy buena amiga.

A MI TUTORA: SILVANA VILLARREAL, por su tutoría, por su apoyo y dedicación en el proyecto, comprensión, paciencia, excelente tutora que siempre estuvo pendiente en cada parte experimental y en la realización de dicha investigación.

A todos MIS AMIGOS y demás familiares que de alguna forma u otra contribuyeron en mi formación como profesional.

**Sindy Moreno**

## ÍNDICE GENERAL

pp.

LISTA DE ESQUEMAS.	
LISTA DE CUADROS.	
LISTA DE TABLAS.	
LISTA DE FIGURAS.	
LISTA DE GRAFICOS.	
RESUMEN.	
INTRODUCCIÓN.	
CAPÍTULOS	
I. Planteamiento del Problema.....	1
Justificación de la Investigación.....	5
Objetivos de la Investigación.	
Objetivo General.....	7
Objetivos Específicos.....	7
II. Marco Teórico Referencial.	
Actividad Antibacteriana.....	9
Concentración Mínima Inhibitoria.....	9
Cepas Gram Positivas.....	9
Género <i>Staphylococcus</i> .....	9
Género <i>Enterococcus</i> .....	10
Cepas Gram Negativas.....	10
Género <i>Escherichia</i> .....	11
Género <i>Klebsiella</i> .....	11
Género <i>Pseudomonas</i> .....	11
Actividad Antioxidante.....	12
Composición Química.....	12
Moléculas Activas en el Ámbito Medicinal e Industrial.	
Fenoles.....	13
Cumarinas.....	13
Alcaloides.....	15
Antocianosidos.....	15

Flavonoides.....	17
Taninos.....	18
Quinonas.....	19
Saponinas.....	19
Triterpenos.....	19
Esteroides.....	20
Glicósidos.....	22
Extractos Crudos.....	22
Obtención de los Extractos Crudos.	
Maceración.....	24
Percolación.....	24
Consistencia de los Extractos.....	25
Extractos Blandos.....	25
Extractos Firmes.....	25
Extractos Secos.....	25
Extractos Fluidos.....	25
Características de los Extractos.....	25
Aceite Esencial.....	26
Características Botánicas de la Familia Bignoniaceae.....	27
Características Botánicas del Género <i>Spathodea</i> Beauv.....	30
Características Botánicas de la Especie <i>Spathodea campanulata</i> .....	30
Usos de la <i>Spathodea campanulata</i> Beauv.....	31
Características Botánicas del Género <i>Podranea</i> Sprague.....	32
Características Botánicas de la Especie <i>Podranea ricasoliana</i> .....	33
Usos de <i>Podranea ricasoliana</i> (Tanfani) Sprague.....	34
Características Botánicas del Género <i>Tecoma</i> Juss.....	34
Características Botánicas de la Especie <i>Tecoma stans</i> (L).....	34
Usos de <i>Tecoma stans</i> (L).....	35
Características Botánicas del Género <i>Jacaranda</i> Juss.....	36

Características Botánicas de la Especie <i>Jacaranda mimosifolia</i> .....	37
Usos de <i>Jacaranda mimosifolia</i> D. Don.....	37
Hipótesis.....	38
Operacionalización de las Variables.....	39
III. Marco Metodológico.....	41
Población y Muestra.....	41
Procedimientos de la Investigación.	
Preparación de los Extractos Crudos de las Especies Vegetales.....	44
Prueba de Susceptibilidad Antibacteriana.....	44
Método de Difusión en Agar con Discos.	
Impregnación de los Discos.....	44
Preparación del Inoculo Bacteriano.....	45
Análisis Microbiológico.....	45
Método de Microdilución en Placa.....	46
Dilución de los Extractos.....	47
Preparación del Preinoculo Bacteriano.....	47
Preparación de las Diluciones.....	48
Microdilución en Placa.....	48
Incubación.....	48
Actividad Antibacteriana del Extracto de Diclorometano de las Flores de <i>S. campanulata</i> .....	49
Identificación de Flavonoides.....	50
Test de Actividad Secuestrante de Radicales Libres (DPPH).....	50
Obtención de los Aceites Esenciales por Hidrodestilación.....	52
Técnica para la Caracterización de los Compuestos en el Aceite Esencial.	
Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masa.	52
Calculo de los Índices de Kováts.....	54
IV. Resultados y Discusión.	

Actividad Antibacteriana de los Extractos Crudos de las Especies <i>Spathodea campanulata</i> , <i>Podranea ricasoliana</i> , <i>Jacaranda mimosifolia</i> y <i>Tecoma stans</i> .....	56
Actividad Antibacteriana del Extracto de Diclorometano de las Flores de la Especie <i>Spathodea campanulata</i> .....	59
Extracción del Aceite Esencial de las Flores de <i>S. campanulata</i> .....	62
Actividad Antioxidante Expresada por la Actividad Secuestrante de DPPH del Extracto de Diclorometano de la <i>Spathodea campanulata</i> .....	66
V. Conclusiones y Recomendaciones.	
Conclusiones.....	69
Recomendaciones.....	71
Resultados Académicos Durante la Realización de este Trabajo de Investigación.....	72
Definición de Términos.	
Glosario Botánico.....	73
Glosario Médico.....	77
VI. Referencias.....	78

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema	pp.
1 Rutas Biosintéticas.....	14
2 Clasificación Taxonómica de la Familia Bignoniaceae.....	28
3 Procedimiento para la Evaluación de la Actividad Antibacteriana.....	47
4 Obtención de los Aceites Esenciales.....	54
5 Camino Metodológico Usado en la Investigación.....	55

## LISTA DE CUADROS

Cuadro	pp.
1 Compuestos Fenólicos Aislados de <i>S. campanulata</i> Beauv.....	15
2 Compuestos Alcaloides Aislados de la <i>Tecoma stans</i> .....	16
3 Compuesto Flavonoide Aislado de la <i>S. campanulata</i> .....	18
4 Compuesto Flavonoide Aislado de la <i>Tecoma stans</i> .....	18
5 Triterpenos Aislados de la <i>S. campanulata</i> Beauv.....	20
6 Esteroide Aislado de la <i>S. campanulata</i> Beauv.....	21
7 Compuestos Glicósidos Aislados de la <i>S. campanulata</i> Beauv.....	23

## LISTA DE TABLAS

Tabla		pp.
1	Distribución Geográfica de las Especies Estudiadas de la Familia Bignoniaceae.....	29
2	Operacionalización de las Variables.....	39
3	Microorganismos y Compuestos de Referencia que se Usaron en la Prueba de Susceptibilidad Antibacteriana.....	46
4	Microorganismos y Antibióticos Usados en la Actividad antibacteriana por el Método de Difusión en Agar con Disco del Extracto de Diclorometano de las Flores de <i>S. campanulata</i> ...	50
5	Actividad Antibacteriana de los Extractos Crudos de las Especies Frente a Cepas de Referencia a una Concentración de 1 g/mL.....	57
6	Actividad Antibacteriana del Extracto de Diclorometano de las Flores de la <i>S. campanulata</i> .....	60
7	Actividad Antibacteriana de las Diluciones del Extracto de las Flores de la Especie <i>S. campanulata</i> .....	61
8	Componentes del Aceite Esencial de las Flores de la Especie <i>Spathodea campanulata</i> .....	63
9	Actividad Antioxidante del Extracto de Diclorometano de las Flores de la <i>S. campanulata</i> .....	67

## LISTA DE FIGURAS

Figura		pp.
1	Ejemplar de la Especie Botánica <i>Spathodea campanulata</i> ....	41
2	Ejemplar de la Especie Botánica <i>Podranea ricasoliana</i> .....	42
3	Ejemplar de la Especie Botánica <i>Tecoma stans</i> .....	43
4	Ejemplar de la Especie Botánica <i>Jacaranda mimosifolia</i> .....	43
5	Muestras Inoculadas con las Cepas de Referencia por el Método de Microdilución en Placa.....	49
6	Crecimiento de la Cepa <i>S. aureus</i> en los Extractos Crudos de las Especies <i>S. campanulata</i> , <i>P. ricasoliana</i> , <i>T. stans</i> y <i>J. mimosifolia</i> .....	58
7	Crecimiento de la Cepa <i>Escherichia coli</i> en los Extractos Crudos de las especies <i>S. campanulata</i> , <i>P. ricasoliana</i> , <i>T. stans</i> y <i>J. mimosifolia</i> .....	59
8	Corrida y Revelado de los Compuestos Presentes en el Extracto de Diclorometano de las Flores de la <i>S. campanulata</i> .....	61
9	Actividad Antibacteriana de las Flores de la <i>S. campanulata</i> contra <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	62
10	Cromatograma del Aceite Esencial de la <i>S. campanulata</i> .....	64
11	Cromatograma de los Compuestos mayoritarios del Aceite Esencial de la <i>S. campanulata</i> .....	65
12	Actividad Antioxidante por DPPH del Extracto de Diclorometano de las Flores de la <i>S. campanulata</i> .....	67

## LISTA DE GRAFICOS

<b>Grafico</b>		<b>pp.</b>
1	Actividad Secuestrante de Radicales Libres Expresada como Porcentaje de Inhibición de DPPH del Extracto de Diclorometano de las Flores de <i>la S. campanulata</i> .....	68

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS  
CRUDOS Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE  
PLANTAS PERTENECIENTES A LA FAMILIA BIGNONIACEAE  
(Trabajo de Grado)

Autoras: Jaimez G. Deisy N.  
Moreno G. Sindy I.  
Tutora: MSc. Villarreal R. Silvana  
Fecha: Marzo, 2013

## RESUMEN

Existen muchas enfermedades causadas por complejos bacterianos y a pesar de la amplia disponibilidad de antibióticos para el tratamiento de estas, en ocasiones la sintomatología no desaparece, por un fenómeno creciente y que preocupa a la comunidad médica denominada resistencia bacteriana. Frente a esta problemática, se destaca el importante papel que han desempeñado las plantas como fuente de reveladora actividad farmacoterapéutica, en tal sentido los géneros pertenecientes a la familia botánica Bignoniaceae se les han descrito actividad antibacteriana. Por lo anteriormente descrito en la presente investigación se evaluó la actividad antibacteriana de cuatro (4) especies pertenecientes a la familia Bignoniaceae, entre estas tenemos *Spathodea campanulata*, *Podranea ricasoliana*, *Tecoma stans* y *Jacaranda mimosifolia* presentes en el estado Mérida – Venezuela, para demostrar la capacidad inhibitoria que ejercen éstas sustancias obtenidas de las plantas contra cinco (5) cepas de referencia (bacterias Gram positivas y Gram negativas). De las cuatro especies vegetales estudiadas solo el extracto de las flores de *S. campanulata* presentó actividad frente a *Staphylococcus aureus* a una concentración de 0,5 g/mL usando el método de Kirby-Bauer. Del extracto de las flores se identificaron flavonoides usando el revelador NEU, se evaluó la actividad antioxidante usando el método DPPH, el extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* reveló una buena actividad antioxidante con una  $CI_{50}$  de 940  $\mu\text{g/mL}$ . De las flores de dicha especie se obtuvo un rendimiento de 0,1mL (0,005%) de aceite, en el cromatograma se presentaron 30 componentes los cuales representan el 96,49% de la mezcla, siendo los mayoritarios: benzoato de bencilo (17,54%), geranil acetona +  $\alpha$ -humaleno (12,74%),  $\beta$ -cariofileno (9,47%), farnesil acetona (5,97%), aromadendreno (4,32%),  $\alpha$ -gurjuneno (3,90%) y tricosano (3,74%).

## INTRODUCCIÓN

Las plantas son capaces de producir cientos de compuestos de alta diversidad y distinta funcionalidad. Las propiedades medicinales de las plantas pueden provenir de cualquiera de sus partes (hoja, tallos, corteza, raíces, flores o semillas), que producen sustancias químicas llamadas metabolitos secundarios o principios activos, estos tienen la capacidad de producir efectos fisiológicos que pueden ser benéficos o tóxicos de acuerdo al principio activo de que se trate.

Desde tiempos muy remotos las plantas han cumplido un papel muy importante en el área terapéutica gracias a las múltiples propiedades que ellas poseen, por esta razón a ido tomando importancia su estudio y el desarrollo de técnicas analíticas que permitan la determinación e identificación de las sustancias o principios activos contenidos en las especies vegetales.

La búsqueda de nuevos fármacos de origen vegetal, ha ocupado el interés de farmacognostas y fitoquímicos por muchas décadas. Estos se han enfocado en la búsqueda de sustancias de probada actividad farmacológica sobre trastornos cardíacos, digestivos, cáncer, artritis, psicosis, infecciones. Estudios estadísticos muestran que alrededor de las dos terceras partes de la población mundial se medica con drogas crudas, esto es, con las denominadas comúnmente “yerbas curativas”. Es la naturaleza la que proporciona el punto de partida para los futuros medicamentos.

El Grupo de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes ha venido desarrollando una línea de investigación que pretende estudiar la flora de la región Andina desde un punto de vista fitoquímico y biológico. Existen numerosas familias de plantas conocidas como árboles, arbustos, hierbas y lianas,

algunas son reconocidas como plantas ornamentales debido especialmente por sus vistosas flores, por la producción de frutos, su utilidad en trabajos diarios, en la producción de utensilios caseros y especialmente por el potencial activo que posean en la prevención y tratamiento de enfermedades.

Entre una de las familias reconocidas del reino vegetal se encuentra la Familia Bignoniaceae, los miembros de esta familia se caracterizan por ser árboles, arbustos o trepadoras leñosas y raras veces herbáceas. Está formada por un gran número de géneros y especies que se encuentran distribuidos en varios lugares del mundo.

En Venezuela la Familia Bignoniaceae se distribuye aproximadamente en 30 géneros y 157 especies. Algunos son importantes árboles madereros, otros como por ejemplo el fruto de *Crescentia* es usado como utensilio casero. Algunos son usados en la producción de artesanía liviana y árboles de ornato como es el caso del género *Spathodea*.

Algunas especies de esta familia representan una valiosa fuente de compuestos naturales con actividad antitumoral, antibacteriana, siendo esta última un problema de salud pública, ya que en los últimos años las bacterias Gram positivas multiresistentes, han dificultado el tratamiento de ciertas infecciones intrahospitalarias y han reducido las opciones terapéuticas.

Debido a lo anteriormente descrito, en la presente investigación se planteó determinar la actividad antibacteriana, antioxidante de extractos crudos y composición química del aceite esencial de las especies *Spathodea campanulata*, *Tecoma stans*, *Jacaranda mimosifolia* y *Podranea ricasoliana*, pertenecientes a la familia Bignoniaceae.

## CAPITULO I

### Planteamiento del Problema

En 1980 Albornoz plantea que las plantas se han utilizado desde siglos como agentes terapéuticos productoras de sustancias que se emplean como digestivos, febrífugos, antiinflamatorios, colorantes, analgésicos, estimulantes, condimentos, sedantes, perfumes, entre otros. En las últimas décadas, se ha intensificado la investigación científica para extraer y separar sustancias con propiedades biológicas o terapéuticas. Muchas clases o categorías de sustancias naturales, productos del metabolismo vegetal, se han clasificado según su origen, carácter químico, similitud estructural molecular o su acción farmacológica. Entre estas se han reportado: proteínas, vitaminas, carbohidratos, aceites, terpenos, esteroides, alcaloides, flavonoides, fenoles, éteres, saponinas, lactonas, fenilpropanoides, amarolidos, péptidos, nitroderivados.

Entre una de las familias reconocidas del reino vegetal se encuentra la Familia Bignoniaceae, los miembros de esta familia se caracterizan por ser árboles, arbustos o trepadoras leñosas y raras veces herbáceas. Está formada por un gran número de géneros y especies que se encuentran distribuidos en varios lugares del mundo (Alwyn, 1982).

Por otra parte Gachet & Schühly (2009) señalan que la familia Bignoniaceae es común de los trópicos de Sudamérica, en la que se incluyen aproximadamente 112 géneros con 725 especies. Esta familia toma importancia por sus especies maderables y por otras utilizadas como ornamentales, entre los más importantes tenemos: *Spathodea*, *Tecoma*, *Jacaranda*, *Tabebuia*, *Podranea*.

Dentro de este marco Mokche *et al.*, (2008) indican que en Venezuela la familia Bignoniaceae se distribuye aproximadamente en 30 géneros y 157 especies. Gachet & Schühly (2009) también indican que algunas especies representan una valiosa fuente para la producción de compuestos químicos como naftoquinonas del tipo de lapachol, glucósidos iridoides, alcaloides, flavonas, triterpenos, polifenoles, taninos y aceites de semilla, que tienen muchas actividades farmacológicas como: antiinflamatoria, antimicrobiana, antifungal, antiviral, antiparásitaria, antiprotozoal y anticáncerigena.

Por otra parte Pianaro *et al.*, (2007) señalan que el estudio químico de las cascarras de raíces de *Spathodea campanulata* (Bignoniaceae) permitió aislar un Iridóide glucósido (ajugol) y dos derivados fenólicos (ácido *p*-hidroxibenzóico y metil *p*-hidroxibenzoato), los cuales mostraron actividad biológica contra el hongo *Cladosporium herbarum*. El ácido *p*-hidroxibenzóico, muestra actividad antibacteriana contra las Gram positivas. Además son utilizados como agentes antimicrobianos, empleados en alimentos y la preservación de drogas en varios países, principalmente contra los hongos. Ayyappa *et al.*, (2009) para la revista Ethnobotanical Leaflets, hace referencia al estudio de la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos acuoso y de metanol de esta especie contra bacterias patógenas por el método de difusión en agar con discos, demostrando una significativa actividad contra *Streptococcus agalactiae*, seguida por *Escherichia coli*, *Streptococcus coagulasa* positivo y *Staphylococcus aureus*.

Por su parte Ofori *et al.*, (2009) evaluó la actividad antibacteriana de los extractos acuoso, etanólico, metanólico y éter de petróleo de la corteza y tallo de *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae). Los organismos microbianos utilizados para el estudio fueron bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), bacterias

Gram negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) y la levadura *Candida albicans*, obteniéndose que el extracto de metanol mostró la mejor actividad antibacteriana y antifúngica, mientras que los extractos de éter de petróleo y acuoso presentaron poca actividad.

En 1994 Binutu *et al.*, realizaron estudios de actividad antimicrobiana de extractos de metanol de las hojas y corteza del tallo de *Jacaranda mimosifolia* D, *Tecoma stans* Linn., *Tabebuia rosea* (Bertol) DC., y *Crescentia cujete* Linn., utilizaron una amplia gama de bacterias Gram positivas y Gram negativas y hongos. La mayoría de las especies mostraron una variable actividad de amplio espectro, en comparación a los antimicrobianos, además observaron que el extracto de metanol de las hojas de *Tecoma stans* fue eficaz frente a *Candida albicans*.

Estudios realizados por Azzawi *et al.*, (2012) determinaron que el extracto alcohólico de la especie *Tecoma stans*, posee actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, mientras que el extracto acuoso no posee actividad contra los microorganismos en cuestión. Anteriormente en el 2006 Rojas *et al.*, evaluaron la actividad antimicrobiana y la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos de etanol, hexano y agua de la especie *Jacaranda mimosifolia*, contra cinco bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*), y una levadura (*Candida albicans*). Los extractos acuosos de *J. mimosifolia*, mostraron una mayor actividad contra *Bacillus cereus* y *Escherichia coli*. Del mismo modo, los extractos de etanol fueron activos frente a *Staphylococcus aureus*.

Dentro de este orden de ideas Zampini *et al.*, (2007), revelan mediante ensayos bioautográficos que extractos pertenecientes a la familia Bignoniaceae presentan principios antimicrobianos. Análisis

fitoquímicos muestran que estos compuestos son de naturaleza fenólica. Los resultados obtenidos justificarían el uso de estos extractos para el tratamiento de infecciones bacterianas especialmente aquellas de origen dérmico.

En busca de indagar en lo anteriormente descrito, en esta investigación se evaluó la actividad antibacteriana de extractos crudos de cuatro especies vegetales, y actividad antioxidante de una de las especies pertenecientes a la familia botánica Bignoniaceae, y debido a ello se formularon las siguientes interrogantes:

- ¿Qué actividad antibacteriana presentaron los diferentes extractos crudos (hexano, metanol y agua–metanol) de plantas pertenecientes a la familia Bignoniaceae (*Spathodea campanulata*, *Tecoma stans*, *Jacaranda mimosifolia* y *Podranea ricasoliana*), a través del método de difusión en agar con discos y el método de microdilución en placa?
- ¿Qué actividad antioxidante presentó el extracto crudo (diclorometano) obtenido de la especie *Spathodea campanulata*, por medio del test de actividad secuestrante de radicales (DPPH)?
- ¿Cuál es la composición química del aceite esencial obtenido a partir de las hojas de las especies *Spathodea campanulata*, *Tecoma stans*, *Jacaranda mimosifolia* y *Podranea ricasoliana*, pertenecientes a la familia botánica Bignoniaceae?
- ¿Cuál es la composición química del aceite esencial obtenido a partir de las flores de la especie *Spathodea campanulata*, perteneciente a la familia botánica Bignoniaceae?

## **Justificación de la Investigación**

Existe una fuerte interrelación entre la medicina y las plantas, debido a las múltiples propiedades terapéuticas que ellas poseen. Las nuevas técnicas de trabajo facilitan al investigador químico orgánico el aislamiento y determinación estructural de los metabolitos secundarios o principios activos de las plantas, lo que intensifica la búsqueda de fármacos más activos y más específicos en las plantas medicinales, enriqueciendo cada día la farmacología. Por el potencial que representan estos metabolitos las investigaciones no solo se han dirigido a la elucidación de estructuras químicas sino también a la evaluación de su actividad biológica mediante bioensayos. A través del estudio biológico de extractos de plantas, se podría determinar cuál es el principio activo que produce la acción, cuál es su margen de seguridad, así como el de las sustancias que le acompañan.

Diversas razones justifican el estudio farmacológico y fitoquímico de las plantas medicinales. El Grupo de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes ha venido desarrollando una línea de investigación que pretende estudiar la flora de la región andina desde un punto de vista fitoquímico y biológico, debido a la gran diversidad de plantas que esta región posee. Se busca encontrar

datos farmacológicos que validen su uso en la medicina tradicional, y dar a conocer los efectos adversos que pudieran producir algunas plantas de uso común.

La automedicación de productos naturales justifica que la comunidad científica aporte información de calidad, seguridad y eficacia en beneficio de los consumidores. De igual forma el ensayo experimental permite de alguna manera integrar la praxis del conocimiento científico, en demostrar la eficacia de la planta medicinal, lo que permitirá mejorar la calidad de vida del capital humano.

A pesar de la amplia disponibilidad de antibióticos para diversos tratamientos de enfermedades causadas por complejos bacterianos, en ocasiones la sintomatología no desaparece, produciéndose la denominada resistencia bacteriana.

Frente a esta problemática, se destaca el importante papel que han desempeñado las plantas como fuentes de reveladora actividad Farmacoterapéutica, además debido al incremento de bacterias multirresistentes, se ha dificultado el tratamiento de ciertas infecciones intrahospitalarias y se han reducido las opciones terapéuticas, representando las mismas un problema de salud pública.

El propósito de la investigación consiste en determinar las propiedades antimicrobianas *in vitro* de cuatro especies de plantas naturales, ya que especies de esta misma familia han sido estudiadas preliminarmente por tener principios activos bactericidas. Asimismo se pretende ensayar su posible actividad antioxidante.

## **Objetivos de la Investigación**

### ***Objetivo General***

Determinar la actividad antibacteriana, de extractos crudos de las especies *Spathodea campanulata*, *Tecoma stans*, *Jacaranda mimosifolia* y *Podranea ricasoliana* y la actividad antioxidante, composición química del aceite esencial de las flores de *Spathodea campanulata*, pertenecientes a la familia Bignoniaceae.

### ***Objetivos Específicos***

- Recolectar las hojas de las especies *Spathodea campanulata*, *Tecoma stans*, *Jacaranda mimosifolia* y *Podranea ricasoliana*.

- Recolectar las flores de la especie *Spathodea campanulata*.
- Obtener los extractos hexánico, metanólico, mezcla (agua:metanol) de las hojas de cada especie.
- Obtener el extracto de diclorometano de las flores de *Spathodea campanulata*.
- Estudiar la actividad antibacteriana de los diferentes extractos a través del método de difusión en agar con discos y el método de microdilución en placa.
- Determinar el potencial antioxidante del extracto de diclorometano de las flores de *Spathodea campanulata* a través del test de actividad secuestrante de radicales (DPPH).
- Extraer el aceite esencial de las hojas de las especies *Spathodea campanulata*, *Tecoma stans*, *Jacaranda mimosifolia* y *Podranea ricasoliana*, por hidrodestilación.
- Extraer el aceite esencial de las flores de la especie *Spathodea campanulata* por hidrodestilación.
- Separar e identificar los compuestos del aceite esencial obtenido, por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

## **CAPITULO II**

### **Marco Teórico Referencial**

#### **Actividad Antibacteriana**

Para Martínez (2005) la actividad de una sustancia antimicrobiana se define como la habilidad específica o capacidad de un producto de lograr su efecto inhibitorio frente a un determinado microorganismo, se determina por el método más adecuado normalmente métodos de análisis microbiológicos.

#### **Concentración Mínima Inhibitoria**

Es la menor concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de 10<sup>5</sup> bacterias en 1 mL de medio de cultivo, tras 18-24 horas de incubación (CLSI, 2008).

#### ***Cepas Gram Positivas***

Dentro de los microorganismos Gram positivos existen diversos géneros, de los cuales se citan las características generales de los microorganismos usados durante la investigación. Los cuales fueron *Staphylococcus* y *Enterococcus*, causantes de muchas de las infecciones nosocomiales.

**Género *Staphylococcus*** según Murray *et al.*, (2006) su nombre procede del griego Staphyle que significa “racimo de uvas”, comprende 35 especies, entre las de importancia clínica tenemos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*.

Los *Staphylococcus* son células esféricas Gram positivas dispuestos en racimos irregulares, miden aproximadamente 1 µm de diámetro, son inmóviles, aerobios facultativos, catalasa positivo y capaces de crecer en un medio con 10% de cloruro de sodio y temperaturas que varían entre 18 y 40°C. Estas bacterias están presentes en el ser humano colonizando la piel y las mucosas; también las bacterias de este género conforman un grupo de patógenos en el ser humano originando un amplio espectro de enfermedades sistémicas que pueden poner en peligro la vida. La especie que se asocia a más enfermedades en el ser humano es *Staphylococcus aureus*, el cual es el miembro más virulento del género (Murray *et al.*, 2006).

**Género *Enterococcus*** son cocos Gram positivos que se disponen en parejas o en cadenas cortas, son anaerobios facultativos y su temperatura óptima de crecimiento es de 35°C. Los *Enterococcus* son exigentes desde el punto de vista nutricional ya que requieren de vitamina D, ácidos nucleicos y una fuente de carbono como la glucosa. Este género consta de 29 especies, de las cuales las que se aíslan con mayor frecuencia y que tienen mayor importancia clínica son *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* (Murray *et al.*, 2006).

Es importante señalar que *Enterococcus faecalis* se considera una de las causas más comunes de infecciones nosocomiales, sobre todo en unidades de cuidados intensivos ya que se transmite de paciente a paciente o por dispositivos médicos.

### **Cepas Gram Negativas**

Al igual que las cepas Gram positivas, existe una gran variedad de bacterias Gram negativas. Los microorganismos ensayados pertenecen al género *Escherichia*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae.

**Género *Escherichia*** según Murray *et al.*, (2006) este género se compone de cinco especies, de las cuales *Escherichia coli* es el más frecuente y la más relevante desde el punto de vista clínico. Son bacilos cortos aerobio facultativo, se asocia con una variedad de enfermedades como septicemia, infecciones del tracto urinario, meningitis y gastroenteritis.

**Género *Klebsiella*** para Tortora *et al.*, (2007) es un género de bacterias inmóviles, Gram negativas, anaerobias facultativas y con una prominente cápsula de polisacáridos. Es un frecuente patógeno humano, los organismos bacteriales del género *Klebsiella* pueden liderar un amplio rango de estados infecciosos, notablemente neumonía. Entre ellos, cabe destacar los siguientes: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*.

**Género *Pseudomonas*** son bacilos Gram negativos móviles, rectos o ligeramente curvos. Estos microorganismos no son fermentadores y utilizan hidratos de carbono a través del metabolismo respiratorio en el que el oxígeno actúa como aceptor final de electrones. Este género se compone de diez especies que se han aislado de muestras clínicas, así como numerosas especies que se encuentran en la naturaleza. *Pseudomonas aeruginosa* es la especie más frecuente, genera un grave problema de salud pública por ser uno de los principales causante de infecciones nosocomiales, al encontrarse también en ambientes hospitalarios, además es una cepa resistente a muchos antibióticos y capaz de mutar a cepas más resistentes durante el tratamiento según Murray *et al.*, (2006).

Asimismo Moellering (1998) señala que las bacterias tienen la capacidad de desarrollar resistencia a los fármacos; esta resistencia se debe a una serie de genes que suelen estar asociados a elementos genéticos transferibles, por lo tanto la bacteria que obtiene estos

elementos se hace resistente a la acción de los antibióticos, el uso de los mismos en la práctica clínica ha hecho que se seleccionen las bacterias resistentes desistiendo de las que no lo son, resultando cepas bacterianas que son resistentes a varios antibióticos.

### **Actividad Antioxidante**

Según Gutiérrez *et al.*, (2007) los antioxidantes son sustancias que actúan protegiendo al organismo de la acción de los radicales libres, retrasando el proceso de envejecimiento y combatiendo la degeneración y muerte de las células que provocan los mismos. Existen alimentos que contienen una gran variedad de fitonutrientes, muchos de los cuales tienen propiedades antioxidantes, además de las bien conocidas, vitamina C y E y los carotenoides. Existen otros compuestos como los flavonoides (incluyendo flavonas, isoflavonas, flavononas, saponinas y catequinas) que son fuertes antioxidantes y contribuyen a la capacidad antioxidante total.

Los radicales libres son moléculas desequilibradas con átomos que tienen un electrón con capacidad de aparearse por lo que son muy reactivos. Estos radicales recorren el organismo intentando captar un electrón de las moléculas estables, con el fin de lograr su estabilidad electroquímica y con potenciales reacciones en cadenas destructoras de las células del cuerpo (Gutiérrez *et al.*, 2007). Existen especies reactivas de oxígeno como el radical superóxido, el radical hidroxilo o el peróxido de hidrógeno (Korc *et al.*, 2005).

### **Composición Química (Fitoquímica)**

Para Marcano & Hasegawa (2002) los seres vivos son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos que se definen “productos naturales” o “metabolitos secundarios”, que se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente

para el ser que lo sintetiza, a diferencia de los metabolitos primarios o productos bioquímicos que presentan una utilidad definida y que son comunes a todos los seres vivos, como son: carbohidratos, lípidos y proteínas. La fitoquímica comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal. Estos metabolitos secundarios se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos de ellos presentan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diversos usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes entre otros. La formación de los metabolitos primarios y secundarios, se resumen en el **Esquema 1**, según Marcano & Hasegawa, (2002).

### **Moléculas Activas en el Ámbito Medicinal e Industrial**

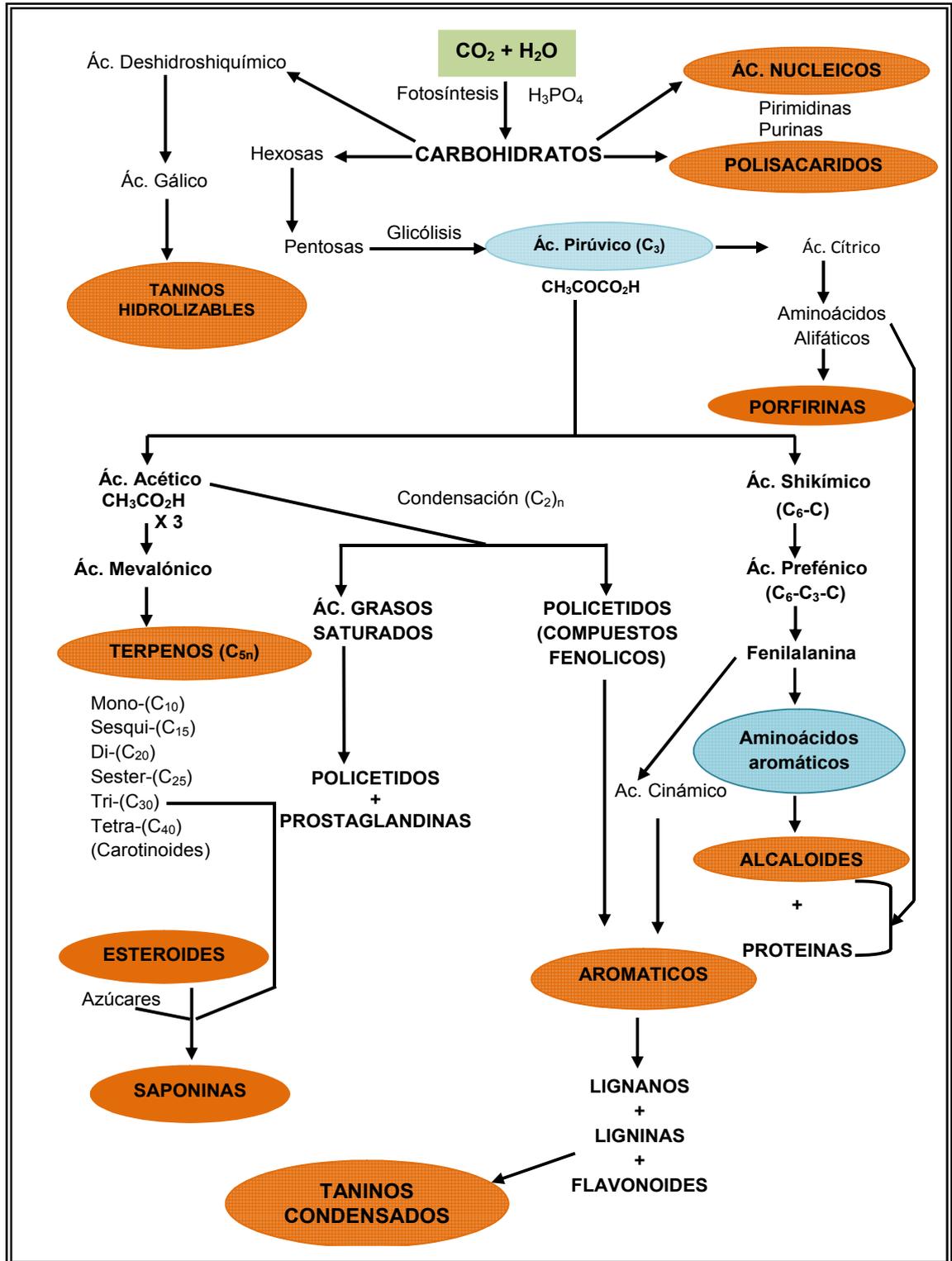
**Fenoles:** Entre los fenoles encontrados en estado libre, se encuentran constituyentes importantes de las esencias como el timol, el carbacrol (esencia de tomillo), el eugenol y el chivacol. Muchos de los fenoles están en estado de éter oxidado en las esencias. Los fenoles tienen una actividad fisiológica marcada porque poseen propiedades antisépticas, antihelmínticas, carminativas y antidiarreicos (Carey, 2003).

Para Marcano & Hasegawa (2002), son los compuestos más simples y consisten en un anillo fenólico sustituido. Hay relativamente pocos fenoles sencillos en la naturaleza y se forman por reacciones de degradación de los fenilpropanoides; algunos derivan del ácido acético. Según Ngouela *et al.*, (1990) de las raíces de la especie *Spathodea campanulata* se han aislado dos compuestos fenólicos (ver **Cuadro 1**).

**Cumarinas:** Según Marcano & Hasegawa (2002), son compuestos derivados de las  $\alpha$ -pironas que se generan por lactonización del ácido *o*-cumárico. Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. La estructura más sencilla, la cumarina misma, que es utilizada como

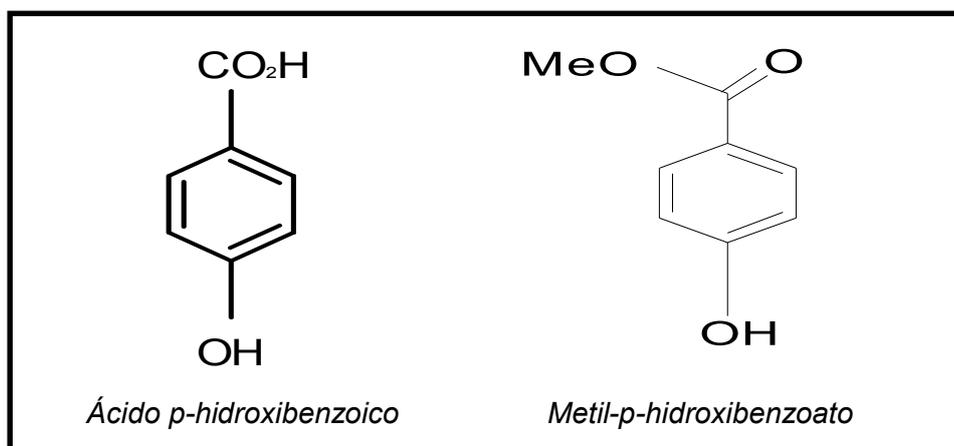
aromatizante en confitería. También estos compuestos poseen propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas y vasodilatadoras.

### Esquema 1. Rutas Biosintéticas



Marcano & Hasegawa (2002).

**Cuadro 1. Compuestos Fenólicos Aislados de *S. campanulata* Beauv.**



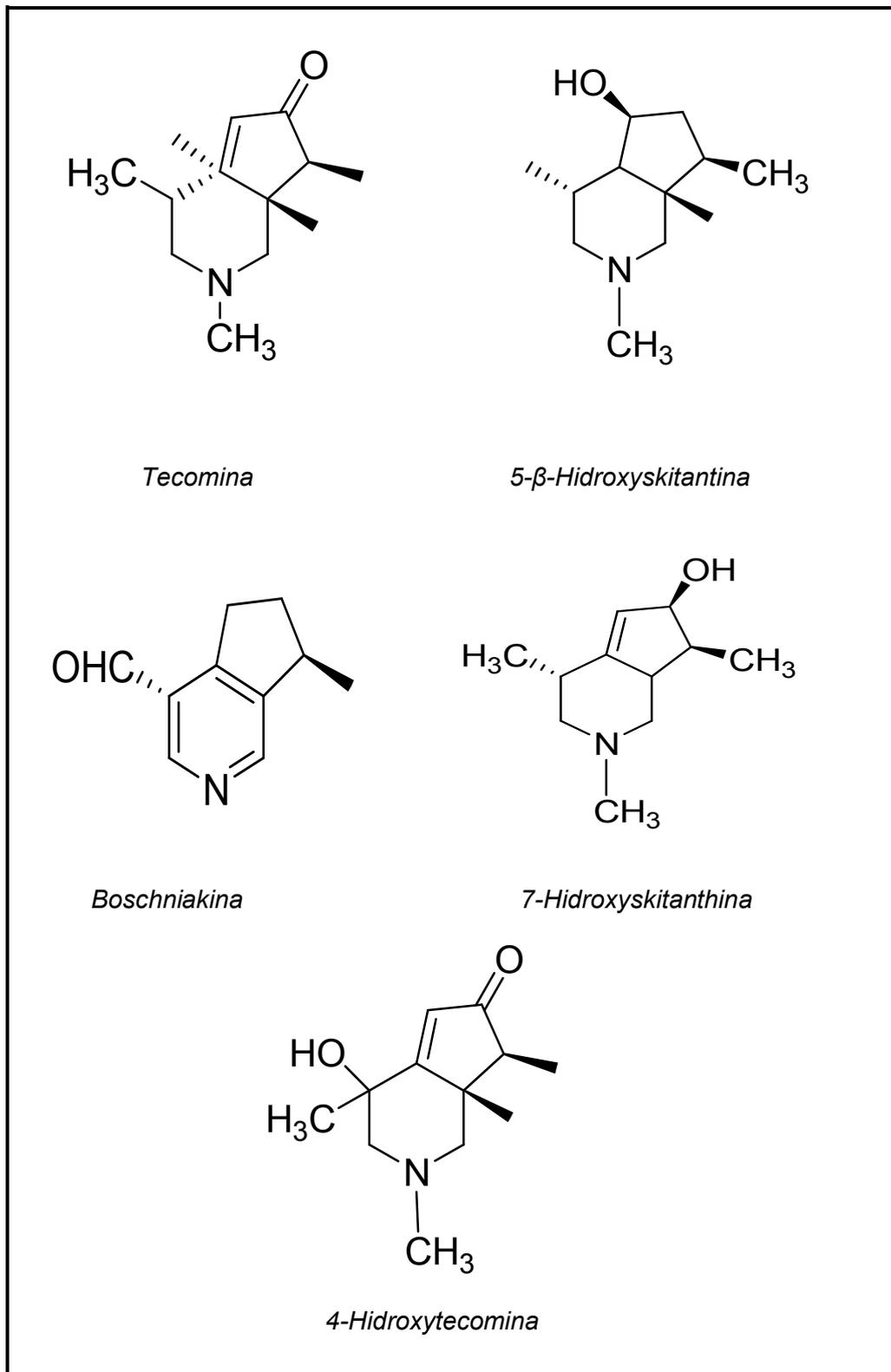
(Ngouela *et al.*, 1990).

De las especies en estudio se ha identificado la presencia de cumarinas en *Tecoma stans* (Ibarra *et al.*, 2009).

**Alcaloides:** Son bases orgánicas, que poseen en su estructura nitrógeno, para que una molécula sea catalogada como tal. Fueron el motor de las primeras investigaciones en productos naturales, algunos se han manifestado como altamente tóxicos, y otros en dosis apropiadas, son drogas comúnmente usadas en medicina, ejemplo la morfina (Campos, 2007). Recientemente Azzawi *et al.*, (2012) reporta algunos alcaloides aislados de la especie *Tecoma stans* (ver **Cuadro 2**).

**Antocianósidos:** Los antocianósidos son heterósidos (también se denominan antocianinas) cuyos aglicones (antocianidinas o antocianidoles) derivan del ión flavilio (2-fenil benzopirilio) (López, 2002). Además constituyen uno de los pigmentos principales de las flores y de las hojas de otoño, sus colores van desde el rojo hasta el azul. Son glicósidos de polihidroxiavililio en los cuales la unión glicosídica está principalmente en C-3 (Marcano & Hasegawa, 2002). Pianaro *et al.*, (2007) identificó la presencia de antocianinas en la especie *Tecoma stans*.

**Cuadro 2. Compuestos Alcaloides Aislados de la *Tecoma stans*.**



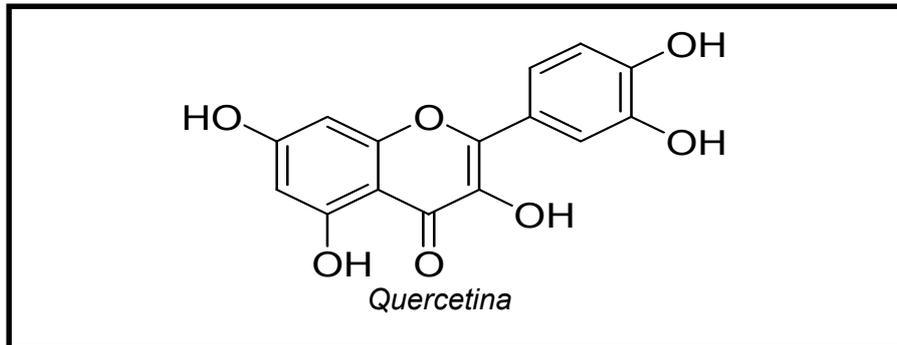
(Azzawi *et al.*, 2012).

**Flavonoides:** Es el nombre genérico de un grupo de moléculas generadas por el metabolismo secundario de los vegetales, que, como otros principios activos vegetales, se originan mediante una ruta biosintética mixta (en el caso de los flavonoides, a través de la ruta del ácido shikímico y la ruta de los policétidos). Los flavonoides son sustancias sólidas cristalizadas de color blanco o amarillento (Bruneton, 2001).

Según Marcano & Hasegawa (2002), la función de los flavonoides en las plantas son varias, se consideran como de antioxidantes y secuestradores de radicales libres, agentes antimicrobiales y antinutricionales, fotoreceptores y protectores contra la luz UV, agentes quelantes de metales, atrectores visuales para los insectos, entre otros. La estructura general de los flavonoides comprende un anillo A derivado de la cadena del policétido, un anillo B, derivado del ácido shikímico, con sustitución en orto, como en los ácidos cumárico, cafeico y gálico y tres átomos de carbono que unen los anillos A y B, correspondientes a la parte alquílica del fenilpropano. Es por ello se les conoce como unidades C<sub>15</sub>-C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> y el esqueleto recibe el nombre de núcleo de flavano.

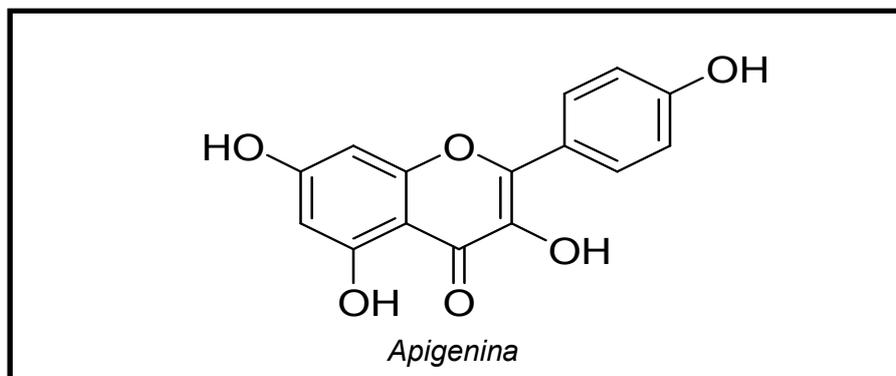
Asimismo Duran & Borja (1993) señalan que los flavonoides están ampliamente repartidos en las plantas, especialmente en hojas, flores y pólenes, así como en partes leñosas, como pedúnculos y cortezas. Las plantas crecidas a pleno sol tienen más flavonoides que las crecidas a la sombra, lo cual se ha interpretado como defensa de la planta de las oxidaciones promovidas por la luz UV. De las especies *Spathodea campanulata* y *Tecoma stans* se han reportado compuestos flavonoides (ver **Cuadros 3, 4**) (Amusan *et al.*, 1995; Corral *et al.*, 2002).

**Cuadro 3. Compuesto Flavonoide Aislado de la *S. campanulata***



(Amusan *et al.*, 1995).

**Cuadro 4. Compuesto Flavonoide Aislado de la *Tecoma stans***



(Corral *et al.*, 2002).

**Taninos:** Son sustancias que producen el endurecimiento del cuero, están ampliamente distribuidos en dicotiledóneas leñosas; su función en las plantas no está clara pero debido a su abundancia en tejidos jóvenes y en las heridas causadas en el tallo, particularmente aquellas cerca del suelo, se creen que son utilizados por el vegetal como protección contra infecciones de hongos y parásitos. La connotación fitoquímica define a los taninos como sustancias con propiedades similares a aquellas de los agentes tánicos comerciales, compuestos fenólicos cuyos pesos oscilan entre 500 y 3000 y que precipitan proteínas y alcaloides (Marcano & Hasegawa, 2002). En el 2009 Ibarra *et al.*, identifico la presencia de taninos en la especie *Tecoma stans*.

**Quinonas:** Son anillos aromáticos con dos funciones ceto. Son ubicuas en la naturaleza y causantes del color marrón que se produce en las frutas cuando están dañadas. Poseen una alta reactividad, formando complejos con los aminoácidos hidrofílicos de las proteínas, la mayoría de las veces inactivan la proteína y anulan su función. De allí el potencial antimicrobiano de estos compuestos. (Domingo & López, 2003). En 1994 Binutu *et al.*, identifico de la especie *Tecoma stans* la presencia de quinonas.

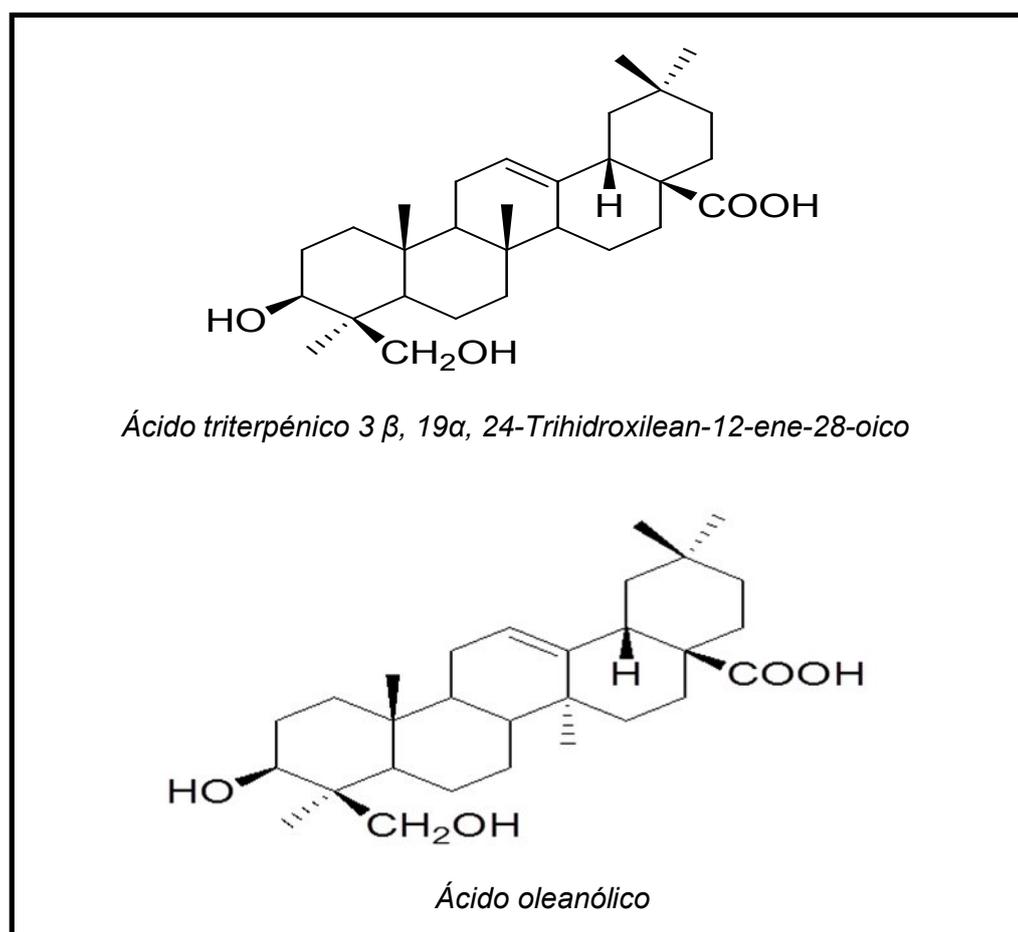
**Saponinas:** Son un grupo de sustancias glicosídicas que se disuelven en agua y poseen la propiedad de formar espuma al agitar la solución. Por hidrólisis de una saponina se obtienen carbohidratos y una aglicona: “sapogenina”. La cual estructuralmente puede ser del tipo esteroidal (C<sub>27</sub>) o triterpenoidal (C<sub>30</sub>). En general, las esteroidales son menos numerosas que la triterpenoidales conocidas. Son más importantes como materia prima para la fabricación de hormonas sintéticas, mientras que las triterpenoidales son potencialmente más aplicables en forma directa (Marcano & Hasegawa, 2002). Se ha identificado la presencia de saponinas en la especie *Spathodea campanulata* (Pianaro *et al.*, 2007; Binutu *et al.*, 1994).

**Triterpenos:** Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (5 átomos de C). De esta forma, los terpenos se clasifican por el número de unidades de isopreno. Se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico, activa en el citosol, en la que tres moléculas de acetil-CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentenil difosfato (IPP), o bien la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera también IPP. (García & Pérez, 2009).

**Esteroides:** Los esteroides son otro tipo de lípidos no saponificables, que poseen un núcleo común formado por cuatro anillos condensados, tres de los cuales poseen seis átomos de carbono y el cuarto únicamente cinco. El nombre de dicha estructura común es ciclopentanoperhidrofenantreno (Pelczar & Reid, 1992).

De la especie *Spathodea campanulata* se han aislado triterpenos y un esteroide (ver **Cuadro 5, 6**) (Ngouela *et al.*, 1990; Boonyaratavej & Petsom, 1991; Alcalde & Pozo, 2004). De allí la importancia de determinar la presencia de estos compuestos en la presente investigación.

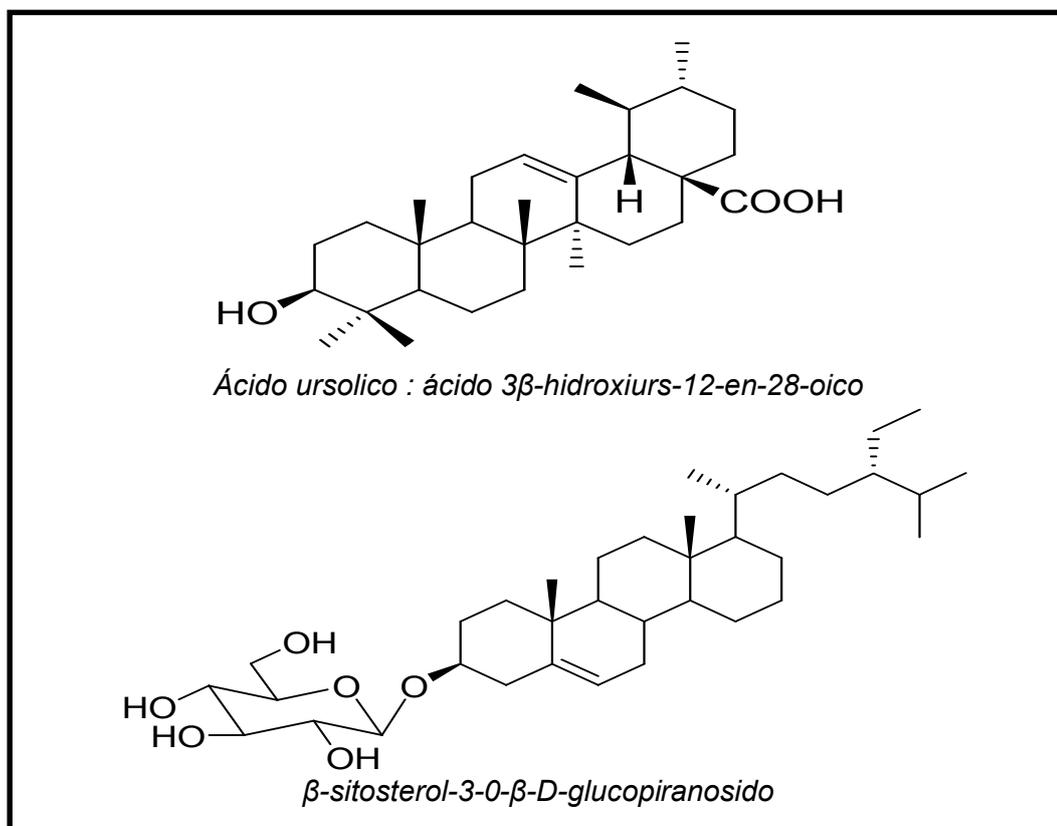
**Cuadro 5. Triterpenos Aislados de la *S. campanulata* Beauv.**



(Ngouela *et al.*, 1990; Boonyaratavej & Petsom, 1991; Alcalde & Pozo, 2004).

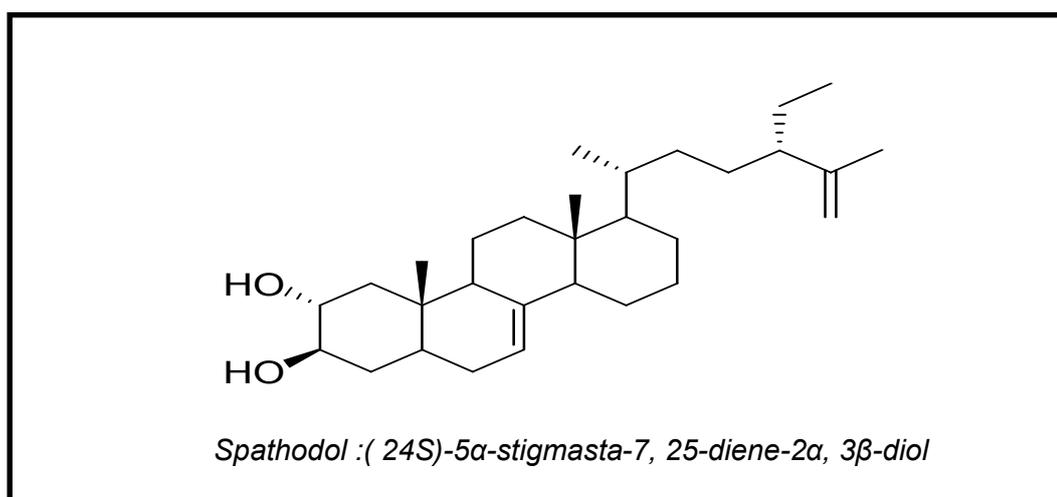
**Cuadro 5. Triterpenos Aislado de la *S. campanulata* Beauv.**

**(Continuación)**



(Ngouela *et al.*, 1990; Boonyaratavej & Petsom, 1991; Alcalde & Pozo, 2004).

**Cuadro 6. Esteroide Aislado de la *S. campanulata* Beauv.**



(Ngouela *et al.*, 1991).

**Glicósidos:** Son condensaciones de aldosas o cetosas cíclicas, donde el hidrogeno de OH hemiacetalico se reemplaza por un grupo alquilo o arilo. La parte de la molécula resultante, unida al carbohidrato, se denomina aglicón o agliconas. Los azúcares obtenidos por la hidrólisis completa de los glicósidos generalmente son monosacáridos tales como glucosa, fructosa, manosa y galactosa. Cuando el azúcar es la glucosa se habla de glucósido (Albornoz, 1980).

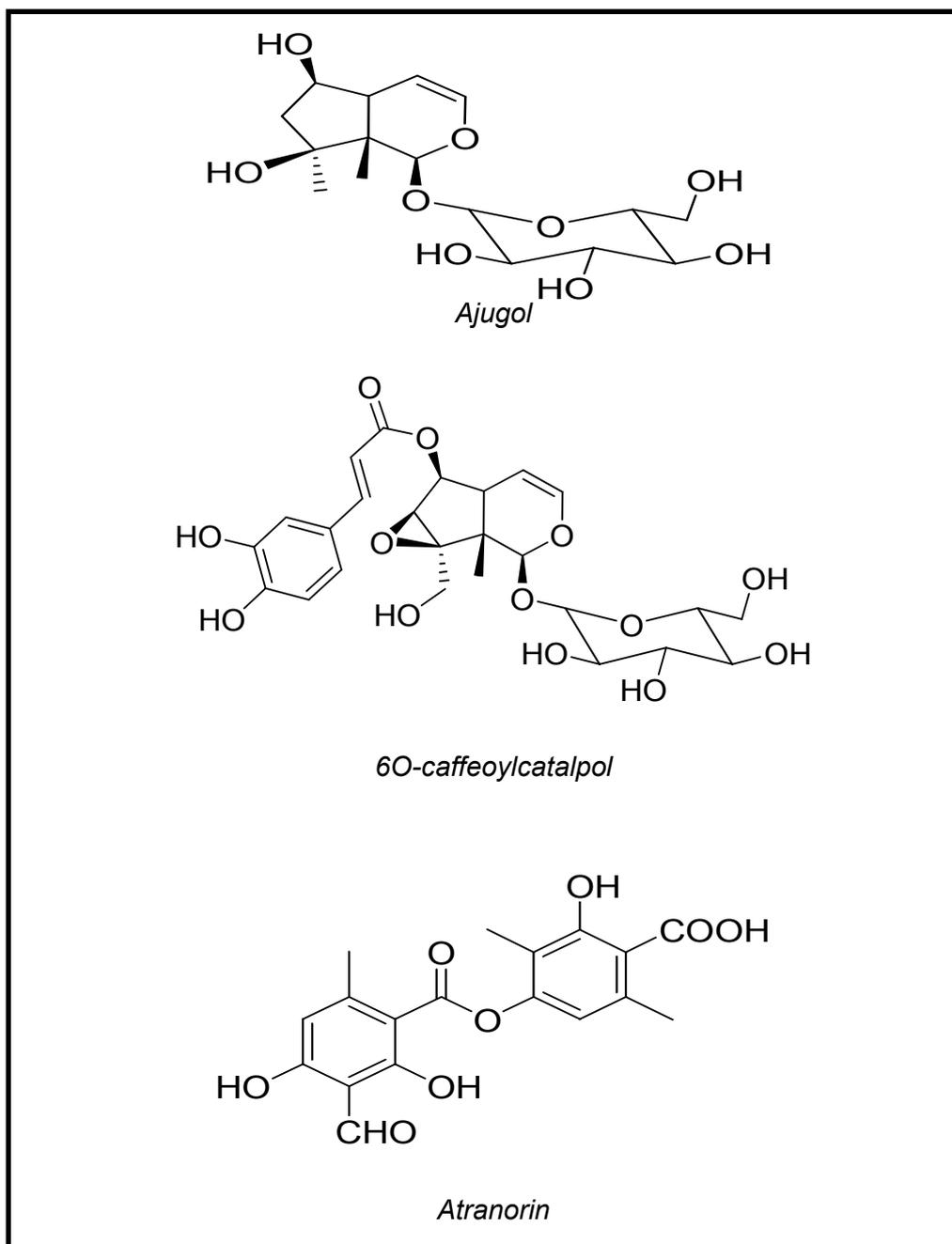
Para Marcano & Hasegawa (2002) se denomina aglicona o genina a la porción diferente del azúcar que se obtiene por hidrólisis de los glicósidos. En la especie *Spathodea campanulata* se ha reportado la presencia de glicósidos como: ajugol, 6O-caffeoylcatalpol y Atranorin (ver **Cuadro 7**) (Gouda, 2009).

### **Extractos Crudos**

González (2004) los define como sustancias con olor característico, obtenido a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con un solvente orgánico, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico. Estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar notablemente la calidad del producto deseado.

Según Ruiz & Susunaga, (2000) los extractos crudos se definen como un concentrado de elementos solubles constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca. Son obtenidos por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol, metanol, hexano o éter.

**Cuadro 7. Compuestos Glicósidos Aislados de la *S. campanulata* Beauv.**



(Gouda, 2009).

Además, es importante señalar que para la determinación de los extractos también llamados componentes no volátiles, se lleva a cabo una extracción sólido - líquido con disolventes orgánicos, que penetran en la materia vegetal y disuelven las sustancias, que son evaporadas y

concentradas a baja temperatura. Después, se elimina el disolvente, obteniendo la fracción deseada. La selección del disolvente debe cumplir los siguientes requisitos:

- Ser capaz de disolver rápidamente todos los principios activos.
- Disolver la menor cantidad de materia inerte.
- Tener un punto de ebullición bajo y uniforme que permita eliminarlo rápidamente, pero evitando pérdidas por evaporación.
- Químicamente inerte, para no reaccionar con los componentes a analizar.
- No inflamable y económico (Ruiz & Susunaga, 2000).

## **Obtención de los Extractos Crudos**

### **Maceración**

Ahora bien González (2004) la define como una extracción que se realiza a temperatura ambiente. Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua, hexano, metanol se prefiere los solventes orgánicos puesto que a largos tiempos de extracción el agua puede propiciar la fermentación o la formación de mohos) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles. Se puede utilizar cualquier recipiente con tapa que no sea atacado con el disolvente; en éste se colocan el material vegetal con el disolvente y tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto.

### **Percolación**

Asimismo González (2004) define la percolación, también conocido como lixiviación, es uno de los procesos más difundidos pues se puede realizar con disolventes orgánicos en frío para preservar los compuestos termolábiles que pudiera contener el material. Consiste en colocar el

material fragmentado en un embudo o recipiente cónico y hacer pasar un disolvente adecuado a través del mismo. No es apropiado para resinas o materiales que se hinchen dado que el disolvente no percolará. Se requiere agregar solvente constantemente.

### **Consistencia de los Extractos**

Barreto (1997) indican que los extractos se clasifican en cuatro grupos: blandos, firmes, secos y fluidos. A continuación una breve explicación de los mismos.

**Extractos Blandos** tienen la característica de tener la consistencia de la miel espesa; algunas veces, debido a la absorción de la humedad atmosférica, presentan una consistencia menos densa.

**Extractos Firmes** estos se asemejan con la masa con la cual se fabrican o manufacturan las píldoras; deben tener la característica especial de no adherirse a los dedos.

**Extractos Secos** se les conocía con la denominación de “sales esenciales”. Son los extractos en los cuales el disolvente ha sido casi totalmente eliminado, contienen del 5 al 8% de agua. Se reducen fácilmente a polvo y facilitan su manipulación y dosificación.

**Extractos Fluidos** son preparados en una forma tal que el peso del extracto corresponde exactamente al peso de la sustancia empleada como medicamento, desecada al aire y pulverizada.

### **Características de los Extractos**

Entre 1988 y 1991 estudios realizados por Corpas y Barrero (citados por Lizcano y Vergara, 2008) permitieron fundamentar las siguientes características generales de los extractos:

- Los extractos son de color más o menos oscuros; cuando han sido preparados al vacío, son ligeramente claros. Algunos son de color café amarillento, otros rojizos, los provenientes de las hojas son verdosos por la clorofila.
- Su aspecto debe ser liso, fino y homogéneo.
- Su olor y sabor son propiedades características de la materia prima que les ha dado origen.
- La solubilidad de los extractos es variable y está en relación directa con el tipo de preparación al cual fueron sometidos.
- Los extractos acuosos son solubles en agua y producen una solución transparente, algunas veces ligeramente turbia, debido a que han sido preparados con anterioridad.
- Los extractos alcohólicos son parcialmente solubles en agua y algunas veces son totalmente insolubles, especialmente los extractos que han sido preparados con alcohol fuerte, tienen un excelente índice de disolución, en el mismo título alcoholimétrico del alcohol con el cual han sido preparados.
- Los extractos alcohólicos preparados con hojas, dan soluciones coloreadas de verde, pues la eliminación de la clorofila no puede ser total.

### **Aceite Esencial**

Los aceites esenciales son sustancias odoríferas de naturaleza oleosa encontradas prácticamente en todos los vegetales; son muy numerosos y están ampliamente distribuidos en distintas partes del mismo vegetal: en las raíces, tallos, hojas, flores y frutos. Son componentes heterogéneos, compuestos por diterpenos, sesquiterpenos, ácidos, ésteres, fenoles, lactonas; todos ellos fácilmente separables ya sean por métodos químicos o físicos, como la destilación, refrigeración, centrifugación, etc. (Vásquez *et al.*, 2001).

Los aceites esenciales son volátiles, arrastrables por vapor (Marcano & Hasegawa, 2002). Son responsables de las fragancias de las flores y otros órganos vegetales. Producidos por numerosas especies, son particularmente abundantes en las familias Labiateae, Umbelliferae, Rutaceae, Mirtaceae, Cruciferae y Geraniaceae (Albornoz, 1980).

Los aceites volátiles se localizan en determinados sitios de la estructura vegetal, en células normales o modificadas o también en estructuras especializadas tales como cavidades equizogeneas, vasos secretores, pelos glandulares, canales lisígenos, etc. Son generalmente líquidos aromáticos miscibles con solventes orgánicos. La mayoría de los aceites volátiles son menos densos que el agua, inmiscibles con ella, pero lo suficientemente solubles para impartirle su olor (las aguas aromáticas dependen de esta ligera solubilidad). Algunos son sólidos y forman mezclas eutécticas como el caso del metanol y el alcanfor. Tienen altos índices de refracción y son, en su mayoría, ópticamente activos, siendo la rotación específica una propiedad importante para la identificación (Albornoz, 1980). La esencia varía tanto en rendimiento (de muy poco hasta 1 a 3 %) como en composición, de acuerdo al lugar geográfico y a la variedad genética (Marcano & Hasegawa, 2002).

### **Características Botánicas de la Familia Bignoniaceae**

La familia Bignoniaceae pertenece a la división Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, subclase Asterida, orden Serophuriales, según el sistema de clasificación del Dr. Arthur Cronquist (citado por Mabberley, 1987) (ver **Esquema 2**). Según Alwyn (1982) los miembros de esta familia se caracterizan por ser árboles, arbustos o trepadoras leñosas y raras veces herbáceas, escamas externas de las yemas axilares frecuentemente seudostipulares o algunas veces foliáceas, zonas glandulares con frecuencia presente entre los peciolo y raramente en el ápice del peciolo. Hojas usualmente opuestas, palmadas o pinnado-compuestas, algunas veces simples, la hojuela terminal con frecuencia reemplazada

por un zarcillo. Inflorescencia terminal o axilar, en panícula o racimo, algunas veces reducida a un fascículo o una sola flor.

Según Mabberley (1987) sus flores son bisexuales más o menos zigomorfas a menudo vistosa, cáliz de cinco sépalos unidos campanulado, cinco dentado corola de cinco pétalos unidos, los cinco lóbulos a menudo formando dos labios, el labio superior de dos lóbulos. Corola simpétala con un tubo conspicuo y 5 lóbulos usualmente imbricado; estambres insertos en el tubo de la corola didinamos, usualmente 4, un estaminodio posterior usualmente presente; anteras con 1 o 2 tecas, estas usualmente divergentes o divaricadas y sostenidas contra el lado aclaxial del tubo de la corola. Estilo delgado, estigma bilamelado; disco nectarífero usualmente conspicuo, algunas veces ausentes. Las flores de Bignoniaceae son polinizadas por ovejías, pájaros, mariposas diurnas y nocturnas y murciélagos.

### **Esquema 2. Clasificación Taxonómica de la Familia Bignoniaceae.**

Según el sistema de clasificación del Dr. Arthur Cronquist (citado por Mabberley, 1987).

<b>División:</b> Magnoliophyta	
<b>Clase:</b> Magnoliopsida	
<b>Subclase:</b> Asteridae	
<b>Orden:</b> Serophuriales	
<b>Familia:</b> Bignoniaceae	

Dentro de este marco Alwyn (1982) indica que el fruto posee una cápsula con dehiscencia perpendicular o paralela al septo, una baya o un preonide de pericarpio duro (tapara); semillas sin endospermo, algo achatadas, usualmente aladas, los cotiledones foliáceos. Las semillas son

en su mayoría dispersadas por el viento pero en algunos casos por el agua o por mamíferos.

Es importante señalar que la mayor influencia económica de esta familia botánica es en la horticultura, con muchas especies ampliamente cultivadas por sus vistosas flores. Algunas especies *Tecomeae* son importantes árboles madereros. La dura corteza del fruto en *Crescentia* es ampliamente utilizada como utensilio casero. Una familia de aproximadamente 120 géneros y 800 especies, primordialmente tropical, con pocos géneros en regiones templadas de climas cálidos (Alwyn, 1982).

La familia se divide en siete tribus: *Tecomeae* de los trópicos del nuevo y viejo mundo, *Crescentieae*, *Bignonieae*, *Tourretieae* y *Ecremocarpeae*, restringidas al nuevo mundo, *Oroxyleae* de los trópicos de Asia y *Coleeae* de Madagascar y África tropical (Mabberley, 1987). Según Mokche *et al.*, (2008) a nivel nacional se distribuye en 30 géneros, 157 especies incluyendo dos especies endémicas.

En atención a lo expuesto en la presente investigación se estudiaron cuatro especies pertenecientes a la familia Bignoniaceae y que se encuentran en el país como son: *Jacaranda mimosifolia*, *Spathodea campanulata*, *Tecoma stans* y *Podranea ricasoliana* (ver **Tabla 1**).

**Tabla 1. Distribución Geográfica de las Especies Estudiadas de la Familia Bignoniaceae.**

<b>Géneros</b>	<b>Distribución Geográfica</b>
<b><i>Jacaranda mimosifolia</i></b>	Mérida, Maracay, Caracas, Aragua.
<b><i>Spathodea campanulata</i></b>	Mérida, Caracas, Aragua, Guárico.
<b><i>Tecoma stans</i></b>	Falcón, Lara, Mérida, Maracay, Cojedes, Caracas, Miranda, Guárico, Sucre, Monagas, Nueva Esparta.
<b><i>Podranea ricasoliana</i></b>	Táchira, Mérida, Aragua, Caracas, Miranda.

(Mokche *et al.*, 2008; Alwyn, 1982).

### **Características Botánicas del Género *Spathodea* Beauv.**

Según Alwyn (1982) son árboles, hojas imparipinnadas, 9-10 folioladas. Inflorescencia en racimo terminal. Los pedicelos inferiores más largos. Cáliz grande, angostándose hasta un ápice curvado; corola rojo-anaranjado, carmesí, usualmente con una franja amarilla grande, ampliamente campanulada por encima de una base cilíndrica, ovario oblongo, los óvulos multiseriados en cada lóculo. Fruto una cápsula angostamente oblongo elíptica, las valvas aquilladas, más angostas en los extremos; semillas achatadas aladas, las alas anchas y hialino-membranáceas.

### **Características Botánicas de la Especie *Spathodea campanulata***

El nombre genérico de *Spathodea* se deriva del griego, que significa parecido a una espata, nombre que hace alusión al cáliz curvado y el nombre específico de *campanulata*, se deriva del latín, que significa pequeña campana, por la que presenta la corola en la floración (Hoyos, 1985).

La especie *Spathodea campanulata* conocida como tulipán africano, se considera por lo general como un árbol de tamaño mediano alcanzando una altura de 21 m, pero en algunas partes del África Occidental puede alcanzar 30 m de altura (Francis 1990). Hojas alternas, compuestas imparipinadas, folíolos de 4 a 9 pares peciolulados, oblongo o aovado-oblongos, acuminados en el ápice, redondeados o cuneados en la base, coriáceos o subcoriáceos, diminutamente pubescente, principalmente en las nerviaciones de ambas superficies; a veces, sin embargo, glabres en el envés; la longitud varía de 7 a 17 cm por unos 5,5 cm de ancho (Hoyos 1985). Inflorescencia terminal, pedicelos inferiores más largos y retorciéndose hacia arriba hasta dar la apariencia de tener los ápices achatados (Alwyn, 1982).

Flores rojo brillante por fuera y amarillentas por dentro, en ramas terminales. Pedúnculos florales, marrón-tomentosos. Corola campanulada, irregular, de 7 a 10 cm de longitud. Cáliz espatáceo, con indumento marrón o amarillento, de 5 a 7,5 cm de largo. Estambres 4, fértiles. Corola rojo-anaranjada con un borde amarillo, ampliamente campanulada por encima de una base cilíndrica, grande, 8.5-9.0 cm de largo, 4.5-5.0 cm de ancho en la boca, el tubo 6- 6.5 cm de largo, lóbulos 1.5-2 cm de largo, glabro; estambres 4, subexsertos, sostenidos contra el piso del tubo, las tecas divaricadas, delgadas, 8 mm de largo; ovario angostamente oblongo, diminutamente papiloso, los óvulos multiseriados en cada lóculo. Cápsula oblongo-elíptica, dehiscente sobre un lado, las valvas de forma de bote, angostamente hacia los extremos, de 17 a 25 cm de largo, 3.5-7 cm de ancho; semillas delgadas, aladas, las alas anchas y hialino-membranáceas, conspicuamente demarcadas (Alwyn, 1982). Frutos capsulares oblongo-lanceolados, comprimidos, con valvas fuertemente coriáceas, glabras de 15 a 25 cm de largo por 3 a 6 cm de ancho. Semillas numerosas aladas (Hoyos, 1985).

#### **Usos de la Especie *Spathodea campanulata* Beauv.**

Según Francis (1990) es uno de los árboles de flor de mayor belleza en el continente africano. A pesar de que su tendencia a quebrarse y a poseer una vida más corta que otras especies de árboles ornamentales impone ciertas restricciones, el tulipán africano se recomienda como un árbol de sombra para parques y patios. Se ha usado como sombra en cafetales, pero es inferior a varios otros árboles usados para este propósito. La especie, ya sea plantada o creciendo de manera natural, se ve frecuentemente usada como postes de cerca viviente. Ayuda en la rehabilitación de tierras perturbadas a través de su invasión agresiva y su rápido crecimiento. Se reporta que las semillas se usan como alimento en África. Varias partes de la planta se utilizan en la medicina natural africana y en rituales mágicos. El uso más importante es el de ornamental.

Por otra parte Pianaro *et al.*, (2007) señala que los preparativos de la corteza del tallo de la *S. campanulata* se emplean para edemas y enfermedades de la piel por hongos, herpes, dolores de estómago, diarrea, hipoglicémico, anti-VIH y contra la malaria.

Dentro de este orden de ideas Nongonierma *et al.*, (2005) indica que la especie *S. campanulata* se utiliza en la medicina tradicional para el tratamiento de las úlceras, la filariasis, la gonorrea, diarrea y fiebre. Fue conocida en la medicina tradicional de Camerún y tiene una actividad de curación en las quemaduras. Además Mensah (2006) señala que esta planta se ha utilizado como agente de cicatrización de heridas en la medicina tradicional de los Ashanti en Ghana.

También es usada para el tratamiento de la dispepsia y úlcera péptica (corteza de ramas y hojas), la artritis y la fractura (hojas, corteza de la raíz y la fruta), dolor de muelas y dolor de estómago (corteza de ramas), y úlcera de estómago (corteza de la raíz y las semillas) (Agiare *et al.*, 2009).

### **Características Botánicas del Género *Podranea* Sprague**

Según el reporte de Sánchez (2010) el género *Podranea* comprende arbustos trepadores siempre verdes, con los tallos cilíndricos o angulosos, glabros. Las hojas son opuestas, pecioladas, carentes de los zarcillos de otras bignonias, imparipinnadas, con los folíolos enteros o aserrados. Sus flores son de color rosado o violeta-rosado grandes y vistosas, y se agrupan en panículas terminales. Tienen el cáliz acampanado, inflado, con 5 lóbulos; la corola es ligeramente bilabiada, tubular acampanada, con un tubo cilíndrico en la base y acampanado en la parte superior, finalizando en 5 lóbulos de menor tamaño que el tubo, desiguales y extendidos. El androceo consta de 4 estambres inclusos, didínamos, adnatos al tubo de la corola en su parte más estrecha, con los filamentos glandulosos hacia la base y las anteras con las tecas unidas sólo en el ápice, divergentes en la madurez; también hay presencia de 1

estaminodio. El gineceo consta de un ovario súpero, oblongo, glabro, que se estrecha en el estilo, con un disco nectarífero anular en la base, bilocular, conteniendo numerosos rudimentos seminales en cada lóculo; el estilo suele sobrepasar ligeramente a los estambres, y el estigma es bilobado. El fruto es una cápsula alargada, linear, coriácea, lisa, dehiscente perpendicularmente al septo, que contiene numerosas semillas aladas.

### **Características Botánicas de la Especie *Podranea ricasoliana***

Sánchez (2010) señala que la especie *Podranea ricasoliana* (Tanfani) Sprague, comúnmente llamada “bignonia de Puerto San Juan”, es nativa de Sudáfrica. Consiste en una planta trepadora vigorosa con tallos leñosos de 3-6 (-10) metros de largo o más y ramillas angulosas de jóvenes, más tarde redondeadas, glabras, pilosas en los nudos. Hojas opuestas, imparipinnadas, de hasta 25 cm de longitud, con 7-9 folíolos de lanceolado ovados a anchamente oblongo elípticos, de 2-7 x 1-3 cm o algo mayores en los brotes nuevos; son de color verde oscuro por el haz y más claros y con los nervios destacados por el envés; tienen el margen crenado, la base cuneada, a menudo algo asimétrica, y el ápice de corta a largamente acuminado. Inflorescencias en panículas terminales multifloras, con el raquis y pedicelos glabros. Flores sobre pedicelos de 1,5-2 cm de longitud, con el cáliz acampanado, verdoso-rosado, inflado, de 1,2-2 cm de longitud, con 5 lóbulos triangulares cortos; corola de 6-8 cm de largo y otros tantos de diámetro, con 5 lóbulos redondeados y desiguales, exteriormente de color rosa más o menos intenso con venas rojizas en la garganta e interiormente de color amarillo cremoso pálido. Garganta y tubo desde glabros a escasamente pubescentes. Estambres inclusos, con los filamentos desiguales, de 14-20 mm de largo, y las anteras amarillas, de 3-4 mm de longitud, con tecas divaricadas. Fruto en cápsula linear, coriácea, de 25-30 cm de longitud, conteniendo numerosas semillas aladas, marrones, de hasta 15 mm de largo.

### **Usos de la Especie *Podranea ricasoliana* (Tanfani) Sprague**

Según Eichemberg *et al.*, (2009) esta especie es comúnmente usada como planta ornamental. Es cultivada por su floración abundante y prolongada, cuyas flores pueden variar en la intensidad de su coloración. Tiene un crecimiento muy rápido y cubren con cierta facilidad muros, vallas y pérgolas. Requieren una exposición soleada y suelos de tipo medio, medianamente fértil y bien drenado, y aunque es bastante resistente a la sequía, en verano necesitan riegos complementarios. No se le ha reportado usos medicinales o actividad biológica.

### **Características Botánicas del Género *Tecoma* Juss.**

Para Sánchez (2007) este género consiste en arbustos o arbolitos siempre verdes de hojas pinnadas, trifoliadas o simples, con folíolos aserrados. Inflorescencias en racimos terminales o panículas. Cáliz cupuliforme, con 5 lóbulos; corola amarilla o rojo-anaranjada, tubular acampanada; androceo con 4 estambres. Fruto en cápsula linear, dehiscente. Comprende unas 12 especies nativas desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina, siendo abundantes en la región andina. Se cultiva con frecuencia en zonas templadas.

### **Características Botánicas de la Especie *Tecoma stans* (L.)**

Según Alwyn (1982) describe que la especie *Tecoma stans* (L.) nativa del sur de los Estados Unidos, sur de México y las Indias Occidentales hasta el norte de Venezuela y a lo largo de los Andes hasta el norte de Argentina, Costa de Brasil. Es cultivada frecuentemente en todos los trópicos y subtrópicos.

Kumar & Patel (2010) señalan que la especie *Tecoma stans* anteriormente llamada *Bignonia stans* L., comúnmente conocida como amarillo mayor, es un arbusto erguido o pequeño árbol hasta 4 m alto. Las

hojas son compuestas, opuestas e imparipinnadas, 5 a 13 folioladas; los folíolos aserrados y lanceolados, el folíolo terminal de 2.4 a 15 cm de largo. Corteza dura y acostillada. Inflorescencia en racimo terminal o subterminal, con 20 flores aproximadamente, sólo algunas abriendo al mismo tiempo; cáliz corto-cupular, de 4 a 7 mm de largo; corola color amarillo vivo, con 7 líneas rojizas en la garganta, tubular campanulada, de 3 a 5 cm de largo. Las flores son muy vistosas pero débilmente fragantes. Fruto una cápsula alargada, cilíndrica y dehiscente, café, ahusada hacia los extremos, de 7 a 21 cm de largo por 5 a 7 mm de ancho, la superficie lenticelada; se abre a lo largo para liberar muchas semillas muy finas. Sus semillas son pequeñas, aplanadas y aladas; cuerpo de la semilla de 7 a 9 mm de largo, alas blanco-amarillentas, hialino-membranáceas, agudamente demarcadas del cuerpo de la semilla e incrementan el tamaño en 8 a 10 mm de ancho por 2 a 2.5 cm de largo.

También es comúnmente conocida como san ándres, chilca, sardinillo, copete, tasto, tagualaiste (América Central), ruibarbo, saulo amarillo (Puerto Rico), frenillo (Venezuela), araguaney bobo, fresno amarillo (Colombia), huranhua (Perú), toco-toco (Bolivia), guaranguarán (Argentina), yellow bells (Estados Unidos), palo de arco, trompetilla, flor amarilla, gloria, retama (México).

### **Usos de la Especie *Tecoma stans*(Linn.)**

De la Paz *et al.*, (2003) indican que a la *Tecoma stans* se le atribuye propiedades diuréticas, vermífugas, estomacales, antisifilíticas e hipoglicemiantes. Extractos de las hojas del *Tecoma stans* han reportado acción inhibitoria del crecimiento de infección por levaduras.

Por su parte Orwa *et al.*, (2009) señalaron que la raíz se usa como sucedáneo del lúpulo en la fabricación de la cerveza. La madera, hoja, semilla poseen actividad insecticida contra: gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*, Lepidoptera: Noctuidae). Las ramas se usan para

hacer cacaxtles (guacales), la madera para muebles, canoas y arcos. Se han reportado otros usos, como para el tratamiento de la anemia, ácido úrico, asma, inflamación, dengue, analgésico, antimicrobiano, dolor de muelas, antipirético, sífilis, depurativo, enfermedades del corazón, enfermedades de la piel (llagas, salpullido, sarna), enfermedades gastrointestinales (pirosis, cólicos, diarrea, empacho, enteritis aguda, úlceras estomacales, evacuaciones fétidas, flatulencias, gastritis, disentería), enfermedades hepáticas (bilis, padecimientos del hígado), enfermedades respiratorias (resfriado común, antitusivo), enfermedades urinarias (diurético, hidropesía, afecciones renales), enfermedades ginecológicas, anorexia, antihelmíntico, vermífugo, diurética. La infusión de raíz como: tónico en la atonía gastrointestinal, diurético, y antisifilítico. La Flor: remedio para la diabetes; hoja, corteza (polvo): para curar llagas. El zumo de la raíz se usa para sanar heridas internas en niños. Hojas (infusión): calma los nervios, tónico para aliviar la gastritis, estimula el apetito. La Farmacopea mexicana atribuye a la planta propiedades eupépticas y la prescribe para la debilidad gastrointestinal y para aliviar la gastritis de origen alcohólico.

### **Características Botánicas del Género *Jacaranda* Juss.**

Para Sánchez (2007) se trata de árboles semicaducifolios, con hojas pinnadas. Inflorescencias en panículas axilares o terminales, con pocas o muchas flores. Cáliz cortó y ancho, de acampanado a cupuliforme, con 5 dientes; corola tubular-acampanada, a menudo pubescente en el exterior. Fruto en cápsula oblonga, aplanada, dehiscente, leñosa. Comprende unas 49 especies nativas desde Guatemala y Antillas hasta el norte de Argentina. Se cultiva en zonas cálidas.

Risco (2009) en su revisión etnofarmacológica y fitoquímica del género *Jacaranda* señala que se clasifica, junto al género *Tabebuia*, dentro de la tribu *Tecomeae*. Contiene 49 especies, de las cuales 39 son endémicas de Brasil. Los principales usos reportados están relacionados

con el tratamiento de afecciones dermatológicas y de enfermedades venéreas.

### **Características Botánicas de la Especie *Jacaranda mimosifolia***

El jacarandá o tarco (*Jacaranda mimosifolia* D. Don) es una especie de la Familia *Bignoniaceae*. Su nombre genérico es de origen guaraní y significa madera dura; el específico

(*mimosifolia*, del latín) hace referencia al parecido de sus hojas con el de las mimosas. Posee un follaje tardíamente caedizo. Sus hojas son compuestas, finamente divididas, grandes, de hasta 60 cm de largo incluido el pecíolo, y recuerdan a las de un helecho arborescente. Las flores son grandes, hermafroditas, de color azul violáceo, tubulosas, dispuestas en amplias panojas terminales. El fruto es una cápsula que permanece durante mucho tiempo en la planta, pudiendo observarse al mismo tiempo frutos nuevos (color verde) y del año anterior (color castaño) (Bogino & Gómez, 2006). Nativa del norte de Argentina y adyacente a Bolivia, ampliamente cultivada en los trópicos y subtrópicos (Alwyn, 1982).

### **Usos de la Especie *Jacaranda mimosifolia* D. Don.**

Dentro de este marco Bogino & Gómez (2006) indican que esta especie posee madera semidura y semipesada, de color blanco amarillento, apto para confección de muebles y carpintería en general. Los frutos son muy utilizados para trabajos de artesanía, en tanto que las hojas y la corteza se emplean en medicina popular. Es una especie de alto valor ornamental, adecuada para parques, jardines y plazas. Es tardíamente caducifolio, por lo que en invierno conserva parte del follaje, dificultando el paso de la luz solar, aspecto a tener en cuenta al decidir su ubicación. A fines de noviembre nacen las hojas nuevas. En este árbol, se han encontrado elevados niveles de plomo, por lo que se considera que

cumple dos funciones: producir oxígeno y absorber plomo, para lo cual, según algunos estudios, es altamente efectivo.

### **Hipótesis**

Si diferentes especies pertenecientes a la familia botánica Bignoniaceae, han presentado actividad desde el punto de vista biológico y farmacológico, es posible encontrar actividad antibacteriana en los diferentes extractos crudos de las especies *Spathodea campanulata*, *Tecoma stans*, *Jacaranda mimosifolia* y *Podranea ricasoliana* y actividad antioxidante de la especie *Spathodea campanulata*. En lo que se refiere a la biosíntesis de compuestos químicos, es probable encontrar compuestos volátiles en las hojas de dichas especies y de las flores de la *S. campanulata*. Ubicadas en la ciudad de Mérida – Venezuela.

## Operacionalización de Variables

Mediante el proceso de Operacionalización de las Variables, se visualiza las propiedades del objeto de estudio que no son cuantificables directamente, son llevadas a expresiones más concretas y directamente medibles. Según su función las variables estudiadas en la presente investigación se clasifican en:

- ✓ **Variable Dependiente:** Actividad antibacteriana frente a bacterias grampositivas y gramnegativas y la actividad antioxidante.
- ✓ **Variable Independiente:** Composición química de los extractos crudos y aceite esencial de las especies *Spathodea campanulata*, *Podranea ricasoliana*, *Tecoma stans* y *Jacaranda mimosifolia*.
- ✓ **Variables Intervinientes:** Metodología a utilizada en la preparación de los cultivos bacterianos y los materiales e instrumentos a utilizar en la ejecución de las técnicas.

La Operacionalización de las Variables estudiadas se representan en la siguiente tabla (**Tabla 2**).

**Tabla 2. Operacionalización de las Variables**

Objetivos Específicos	Variables	Dimensiones	Indicadores
Recolectar las hojas de las especies <i>Spathodea campanulata</i> , <i>Tecoma stans</i> , <i>Jacaranda mimosifolia</i> y <i>Podranea ricasoliana</i> .	Especies de la familia Bignoniaceae	Características botánicas	- Tipo de planta - Hojas - Inflorescencia - Cáliz - Corola - Estambre - Anteras - Estilo(s) - Ovario - Estigma(s) - Fruto - Semilla
Recolectar las flores de la especie <i>Spathodea campanulata</i>			

**Tabla 2. Operacionalización de las Variables (Continuación)**

Objetivos Específicos	Variables	Dimensiones	Indicadores
<p>Obtener los extractos hexánico, metanólico, mezcla (agua:metanol) de las hojas de cada especie.</p> <p>Obtener el extracto de diclorometano de las flores de <i>Spathodea campanulata</i>.</p>	Extractos crudos	<p>Consistencia</p> <p>Características organolépticas</p> <p>Conservación</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Blandos</li> <li>- Firmes</li> <li>- Secos</li> <li>- Fluidos</li> <li>- Color</li> <li>- Olor</li> <li>- Aspecto</li> <li>- Sabor</li> <li>- Solubilidad</li> <li>- Luz</li> <li>- Envase</li> <li>- Medio ambiente</li> </ul>
Estudiar la actividad antibacteriana de los diferentes extractos a través del método de difusión en agar con discos y el método de microdilución en placa.	Actividad antibacteriana	<p>Cepas Gram positivas</p> <p>Cepas Gram negativas</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>S. aureus</i></li> <li>- <i>E. faecalis</i></li> <li>- <i>E. coli</i></li> <li>- <i>K. pneumoniae</i></li> <li>- <i>P. aeruginosa</i></li> </ul>
Determinar el potencial antioxidante del extracto diclorometano de las flores de <i>S. campanulata</i> a través del test de actividad secuestrante de radicales (DPPH).	Actividad antioxidante	Metabolitos secundarios con características antioxidantes	En presencia de DPPH los antioxidantes (AH) ceden un hidrogeno cambiando el color del reactivo de violeta a amarillo
Extraer el aceite esencial de las hojas y flores de las especies <i>S. campanulata</i> , <i>T. stans</i> , <i>J. mimosifolia</i> y <i>P. ricasoliana</i> , por hidrodestilación.	Aceites esenciales	Características organolépticas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Color</li> <li>- Olor</li> <li>- Sabor</li> <li>- Solubilidad</li> </ul>
Separar e identificar los compuestos del aceite esencial obtenido, por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.	Compuestos presentes en el aceite esencial	Moléculas activas en el ámbito medicinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Monoterpenos</li> <li>- Sesquiterpenos</li> <li>- Alcoholes</li> <li>- Fenoles simples</li> <li>- Lactonas sesquiterpénicas</li> <li>- Diterpenos</li> <li>- Polisacáridos</li> <li>- Esteroides</li> </ul>



## CAPITULO III

### Materiales y Métodos

#### Población y Muestra

En el caso objeto de estudio la población está constituida por las especies vegetales *Spathodea campanulata*, *Podranea ricasoliana*, *Tecoma stans* y *Jacaranda mimosifolia* presentes en el estado Mérida – Venezuela.

La muestra estuvo integrada por la recolección de dos (2) kilos de hojas de cada especie vegetal. La determinación botánica de cada una de las especies en estudio fue realizada en el herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, con la ayuda del taxónomo especialista Ingeniero Juan Carmona. Los voucher de cada muestra fueron depositados para la preparación de los diferentes extractos.

La recolección de cada especie vegetal fue realizada en diferentes lugares del Municipio Libertador. Estado Mérida. El 19 de Mayo del 2010 se recolectaron las hojas de *Spathodea campanulata* ubicada en la parte trasera del edificio principal de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Se depositó un ejemplar con el voucher N° 1 (**Figura 1**).

Las hojas frescas de *Podranea ricasoliana* se recolectaron el 07 de Junio del 2010, ubicada en el enlace de la Cruz Verde a unos pasos de la avenida dos Loras. Se depositó un voucher bajo el N° 2 (**Figura 2**). Asimismo se recolecto las hojas de *Tecoma stans* ubicada en la avenida Humberto Tejera vía a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, se depositó un voucher bajo el N° 3 (**Figura 3**).

Figura 1. Ejemplar de la Especie Botánica *Spathodea campanulata*



Foto: Br. Jaimez Deisy, Br. Moreno Sindy. Edo. Mérida (2011).

Figura 2. Ejemplar de la Especie Botánica *Podranea ricasoliana*

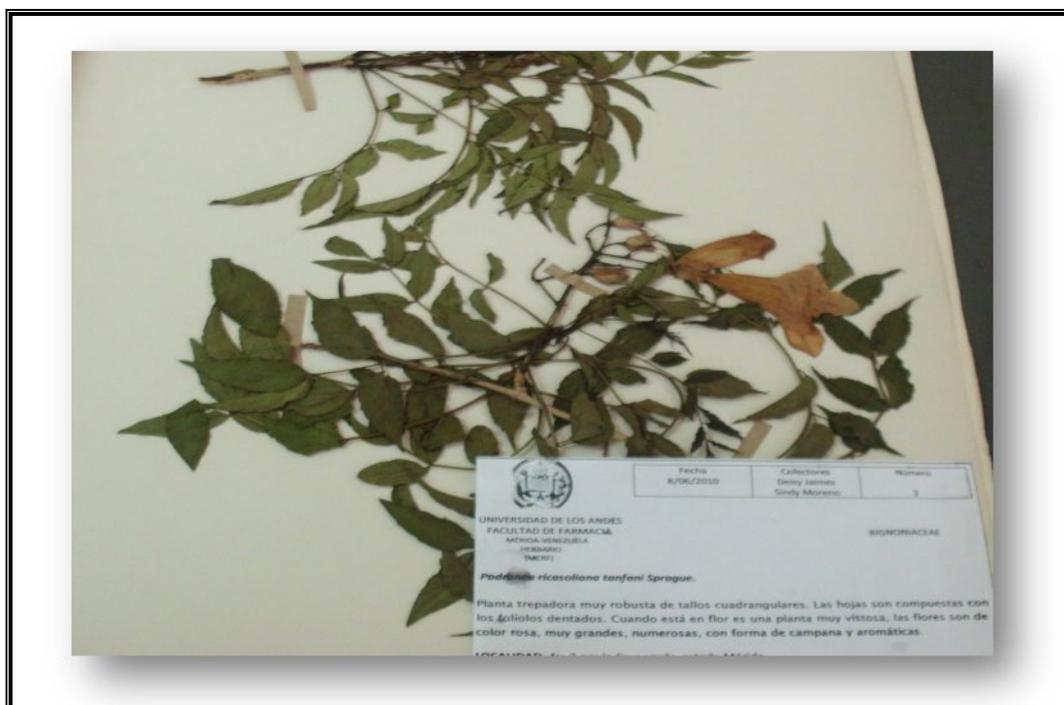


Foto: Br. Jaimez Deisy, Br. Moreno Sindy. Edo. Mérida (2011).

**Figura 3. Ejemplar de la Especie Botánica *Tecoma stans***



Foto: Br. Jaimez Deisy, Br. Moreno Sindy. Edo. Mérida (2011).

Posteriormente, el día 18 de Junio del 2010, se recolectó las hojas de *Jacaranda mimosifolia*, ubicada a lo largo de la avenida Las Américas, se depositó una muestra testigo bajo el voucher N° 4 (Figura 4). Finalmente El 24 de Junio del 2012 se recolectaron 1800 g de las flores de *S. campanulata* en el campo deportivo Las Américas.

**Figura 4. Ejemplar de la Especie Botánica *Jacaranda mimosifolia***



Foto: Br. Jaimez Deisy, Br. Moreno Sindy. Edo. Mérida (2011).

## **Procedimientos de la Investigación**

### **Preparación de los Extractos Crudos de las Especies Vegetales**

Las hojas se separaron del resto del material vegetal y se secaron a temperatura ambiente (TA) en la sombra durante una semana. Una vez secas y molidas se sometieron a una extracción exhaustiva a temperatura ambiente con los solventes hexano, metanol y finalmente una mezcla agua: metanol en una relación 4:6. Obteniendo un total de 12 extractos, dichos extractos se concentraron en un rotavapor bajo presión reducida a una temperatura de 40 °C, para obtener el peso total de los extractos crudos. Para la preparación de los distintos patrones para el ensayo antibacteriano, se pesaron 1 gramo de cada extracto y se disolvieron en 1mL de cada solvente para obtener la concentración final de cada extracto.

### **Prueba de susceptibilidad Antibacteriana**

Se utilizó la técnica de difusión en agar con discos llamada método de Kirby-Bauer, prueba que permite medir la susceptibilidad *in vitro* de microorganismos patógenos y fitopatógenos frente a una sustancia o a la mezcla de varias sustancias desconocidas de origen vegetal con potencial antimicrobiano, según Prescott *et al.*, (2004).

Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios “Lic. Luisa Vizcaya” (S.G.U.), Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, por el método de difusión en agar con discos descrito por Velasco *et al.*, (2005).

### **Método de Difusión en Agar con Discos**

**Impregnación de los Discos:** para la evaluación de la actividad antibacteriana, se impregnaron discos de papel de filtro (6 mm diámetro) con 20 µL de cada extracto con concentraciones conocidas. De igual

modo se impregnaron discos con los solventes a utilizar (hexano, metanol, agua: metanol), como control negativo. Estos discos se dejaron secando a temperatura ambiente y en condiciones de esterilidad con luz ultravioleta, durante 12 horas.

**Preparación del Inoculo Bacteriano:** los cultivos bacterianos (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) se mantuvieron en tubos con agar conservación en cuña, a temperatura ambiente. Para la reactivación de las cepas se sembraron en agar tripticasa soya con la finalidad de obtener colonias aisladas y de estas se tomó un pool de colonias y se sembraron en 2,5 mL de caldo Mueller Hinton y luego se incubaron a 37 °C durante 18 horas. Cada inoculo bacteriano se preparó a partir del cultivo caldo en solución salina fisiológica (SSF) estéril comparándolo con el patrón de turbidez de Mac Farland N° 0,5 a fin de obtener  $10^6$ - $10^8$  UFC/mL. (Velasco *et al.*, 2005).

**Análisis Microbiológico:** la actividad antimicrobiana de los extractos de las especies vegetales, se evaluaron por el método difusión en agar con discos, colocando en una placa de petri agar Muller Hinton. Una vez solidificado, se inoculo el microorganismo en la superficie del agar con un hisopo estéril, luego se colocaron los discos de papel de filtro, previamente impregnados con las diferentes concentraciones de los extractos y con los controles negativos (solventes). También se colocó el disco estándar del antibiótico de referencia como control positivo según el microorganismo (**Tabla 3**). Posteriormente, el medio de cultivo inoculado se incubo durante 18 horas a 4 °C y luego a 37 °C durante 24 horas. Se realizó la lectura a las 24 horas (ver **Esquema 3**) (Velasco *et al.*, 2005).

**Tabla 3. Microorganismos y Compuestos de Referencia que se Usaron en la Prueba de Susceptibilidad Antibacteriana.**

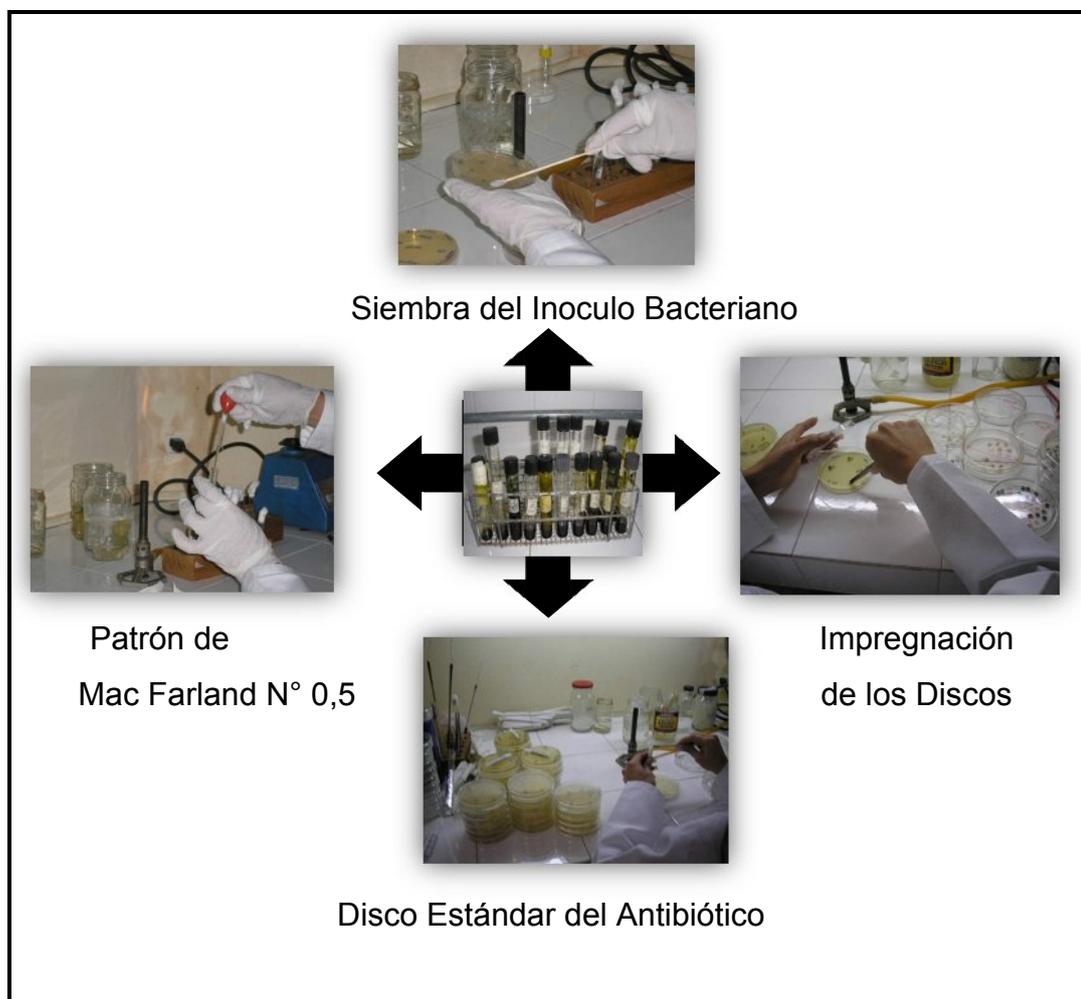
<b>Microorganismos</b>	<b>Compuestos de Referencia</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Ampicilina/ sulbactam (10/10 µg)
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Vancomicina (30 µg)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gentamicina (30 µg)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	Aztreonam (30 µg)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Ceftazidima (100mg/10 µg)

(Rondón *et al.*, 2005; modificado).

### **Método de Microdilución en Placa**

Otra técnica usada para medir la actividad antibacteriana de los extractos de las especies vegetales en estudio, fue el método de dilución en agar o en caldo como test de susceptibilidad microbiana el cual es utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibitoria (CIM). Definiéndose la CMB como la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento de un organismo después de subcultivar en un medio libre del compuesto evaluado. En esta técnica se utilizan tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones crecientes del extracto vegetal. La ventaja sobre los métodos de difusión radica en un aumento de la sensibilidad para cantidades pequeñas, lo cual es importante cuando se trabaja con productos naturales, además permite diferenciar entre un efecto bactericida o bacteriostático (Ramírez & Marin, 2009).

### Esquema 3. Procedimiento para la Evaluación de la Actividad Antibacteriana



**Dilución de los Extractos:** Se pesaron 0,02 g de cada uno de los extractos de las especies en estudio, el cual fueron diluidos en dimetil-sulfóxido (DMSO) hasta obtener una concentración de 20.000 ppm (10 mg/mL). Del concentrado se tomó 10 $\mu$ L y se diluyeron en 490  $\mu$ L de caldo nutritivo, para finalmente obtener una concentración de 400 mg/mL.

**Preparación del Preinoculo Bacteriano:** Se preparó el inculo tomando una azada de la cepa e inoculándola en 20 mL de caldo nutritivo, luego se incubo sobre un agitador en la estufa a 37 °C por 18 horas.

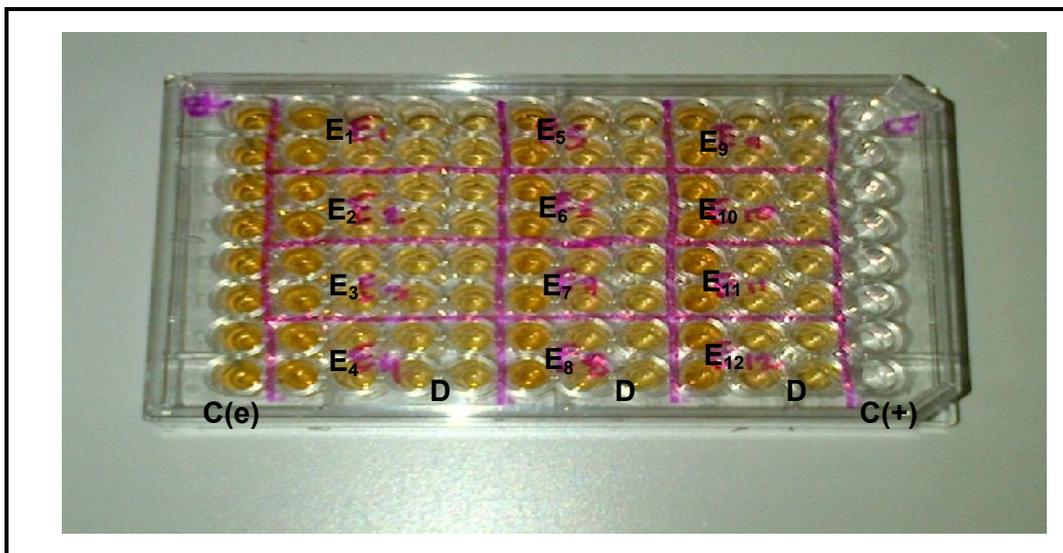
**Preparación de las Diluciones:** A partir del inóculo bacteriano se prepararon diluciones, agregando 1 mL del preinóculo en un tubo con 9 mL de solución salina, esta solución correspondió a  $10^{-1}$  y a partir de ella se hicieron diluciones hasta  $10^{-4}$ . Luego se sembró en placa de agar nutritivo, inoculando 100  $\mu$ L de la cuarta dilución preparada, extendiéndola sobre la superficie del agar, incubándose a 37 °C por 24 horas para determinar la cantidad inicial de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL).

**Microdilución en Placa:** Se emplearon placas estériles de poliestireno para microtitulación de 96 pocillos en el cual se dispuso en la primera columna 200  $\mu$ L de caldo nutritivo sin inocular, como control de esterilidad de la técnica. Luego en las columnas 2, 6 y 9 subdivididas en extractos ( $E_1$  hasta  $E_{12}$ ), se dispensaron 200  $\mu$ L de la concentración de 400 mg/mL de cada extracto. En la última columna de la placa se dispuso 200  $\mu$ L del inóculo como control positivo y al resto de los pozos se añadió 100  $\mu$ L de caldo nutritivo con dicho inóculo, inmediatamente se procedió a realizar las diluciones a partir de la columna 2 a la 11 por duplicado tomando 100  $\mu$ L del pozo que contiene 200  $\mu$ L del extracto, así sucesivamente a cada uno de los extractos disminuyendo la concentración en 200 mg/mL, 100 mg/mL, 50 mg/mL y 25 mg/mL (Ver **Figura 5**).

**Incubación:** Se incubó sobre un agitador en la estufa a 37 °C por 24 horas y luego se realizó la lectura de cada uno de los pozos.

Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Bioanálisis Clínico, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo la asesoría de la Profesora María Eugenia Lucena de Ustáriz.

**Figura 5. Muestras Inoculadas con las Cepas de Referencia por el Método de Microdilución en Placa.**



C(e): Caldo nutritivo sin inóculo, E<sub>1</sub>: *S. campanulata* (hexano 100), E<sub>2</sub>: *S. campanulata* (metanol 100), E<sub>3</sub>: *S. campanulata* (agua:metanol 40:60), E<sub>4</sub>: *Tecoma stans* (hexano 100), E<sub>5</sub>: *Tecoma stans* (metanol 100), E<sub>6</sub>: *Tecoma stans* (agua:metanol 40:60), E<sub>7</sub>: *P. ricasoliana* (hexano 100), E<sub>8</sub>: *P. ricasoliana* (metanol 100), E<sub>9</sub>: *P. ricasoliana* (agua:metanol 40:60), E<sub>10</sub>: *J. mimosifolia* (hexano 100), E<sub>11</sub>: *J. mimosifolia* (metanol 100), E<sub>12</sub>: *J. mimosifolia* (agua:metanol 40:60), C (+): Inóculo, D: Diluciones. Foto: Br. Jaimez Deisy, Br. Moreno Sindy. Edo. Mérida (2012).

### **Actividad Antibacteriana del Extracto de Diclorometano de las Flores de la *Spathodea campanulata***

La muestra vegetal fue sometida al lavado con un solvente orgánico, proceso físico con el fin de extraer sus principios activos. Para ello se pesaron 200 g de flores frescas, las cuales se colocaron en un embudo realizándose el lavado con 1800 mL de diclorometano, el cual se dejó reposar por 1 min. Se procedió a concentrar el extracto usando un rotavapor (Elusiyan *et al.*, 2011). Del extracto obtenido se ensayó la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar con disco.

Se procedió a impregnar los discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro con el extracto en concentraciones de 0,5 g/mL, 30000 ppm, 20000 ppm y 10000 ppm. Asimismo se impregnaron discos con dimetilsulfóxido como control negativo y se usaron antibióticos según las cepas

bacterianas de referencia ensayadas (Tabla 4), siguiendo la misma metodología anteriormente descrita.

**Tabla 4. Microorganismos y Antibióticos Usados en la Actividad Antibacteriana por el Método de Difusión en Agar con Disco del Extracto de Diclorometano de las Flores de la *S. campanulata*.**

<b>Microorganismos</b>	<b>Antibióticos</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Eritromicina (30 µg)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Amikacina (30 µg)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	Amikacina (30 µg)

(Rondón *et al.*, 2005; modificado)

### **Identificación de Flavonoides**

Del extracto concentrado de diclorometano de las flores de *S. campanulata* se procedió a realizar una cromatografía de capa fina para determinar la presencia de flavonoides, usando como fase móvil una mezcla de butanol: ácido acético: agua (3:1:1). Posteriormente usando la misma fase móvil se procedió a identificar la presencia de los flavonoides quercetina y rutina usando como patrones: Quercetina 2 mg/mL metanol y Rutina 2 mg/mL metanol, mediante el revelador NEU (2-aminoetil-difenilborato) (Wollenweber *et al.*, 1987).

### **Test de Actividad Secuestrante de Radicales Libres (DPPH)**

Este ensayo permitió evaluar la actividad secuestrante de radicales libre del extracto de *S. campanulata* sobre el reactivo 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). El mecanismo de acción antioxidante se verifica por sesión de hidrógenos por parte del antioxidante, neutralizando así a la molécula DPPH. A mayor porcentaje de inhibición de DPPH, mayor es la actividad antioxidante del extracto.

Del extracto con diclorometano obtenido de las flores de la *S. campanulata* se realizó la actividad antioxidante usando una muestra de 1 mg/mL y otra de 10 mg/mL identificadas como E<sub>1</sub> y E<sub>2</sub> respectivamente, de las cuales se tomaron 200 µL. Se utilizó como control positivo el ácido ascórbico 176 µg/mL (1 mM) preparado con metanol y como control negativo DPPH, se tomaron 2,8 mL de solución de DPPH a 6x10<sup>-2</sup> mM en metanol la cual es una molécula radicalaria estable y se mezcló con las muestras. En presencia de DPPH los antioxidantes (AH) ceden un hidrogeno cambiando el color del reactivo de violeta a amarillo (Díaz, 2011).



Las mezclas de reacción se incubaron por 30 minutos en la oscuridad. Posteriormente se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV Kontron. El porcentaje de inhibición (% PI) del radical libre DPPH se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ PI} = [\text{Abs DPPH} - \text{Abs muestra} / \text{Abs DPPH}] \times 100$$

La concentración eficiente para obtener el 50% de la capacidad máxima para captar radicales libres (CI<sub>50</sub>), se calculó por la siguiente ecuación:

$$\text{CI}_{50} = \text{C}_1 - \Delta\text{C}$$

$$\Delta\text{C} = [(\text{C}_1 - \text{C}_2) \times \text{PI}_1 - 50] / (\text{PI}_1 - \text{PI}_2)$$

Dónde:

**PI<sub>1</sub>** y **PI<sub>2</sub>**: son los porcentajes de inhibición inmediatamente superior e inferior al 50% de inhibición, respectivamente.

**C<sub>1</sub>** - **C<sub>2</sub>**: concentraciones en las que se produce PI<sub>1</sub> y PI<sub>2</sub> respectivamente.

Este ensayo se realizó en el Laboratorio de Ciencias de los Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, bajo la asesoría de la Profesora Lorena Díaz de Torres.

### **Obtención de los Aceites Esenciales por Hidrodestilación**

Según Albarracín & Gallo, (2003) el principio de la destilación en agua es llevar a estado de ebullición una suspensión acuosa de un material vegetal aromático, de tal manera que los vapores generados puedan ser condensados y colectados. El aceite, que es inmisible en agua, se separa posteriormente.

Las hojas de las especies vegetales estudiadas (2500 g) y las flores de la *S. campanulata* (2000 g) se separaron del resto del material vegetal y se licuaron, con la finalidad de romper las células que contienen los aceites aromáticos y aumentar así el rendimiento de la extracción. Ésta se realizó por hidrodestilación, empleando la Trampa de Clevenger. El proceso ocurrió durante 3 horas, hasta obtener un aceite esencial de color característico. El aceite obtenido se guardó a baja temperatura, tomando la precaución de protegerlo de la luz y de la presencia de oxígeno, debido a que estos factores alteran la composición de la esencia oxidando los dobles enlaces y cambiando la configuración de algunos componentes (Takeoka *et al.*, 1986) (**Esquema 4**).

### **Técnica para la Caracterización de los Compuestos en el Aceite Esencial**

#### **Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masa:**

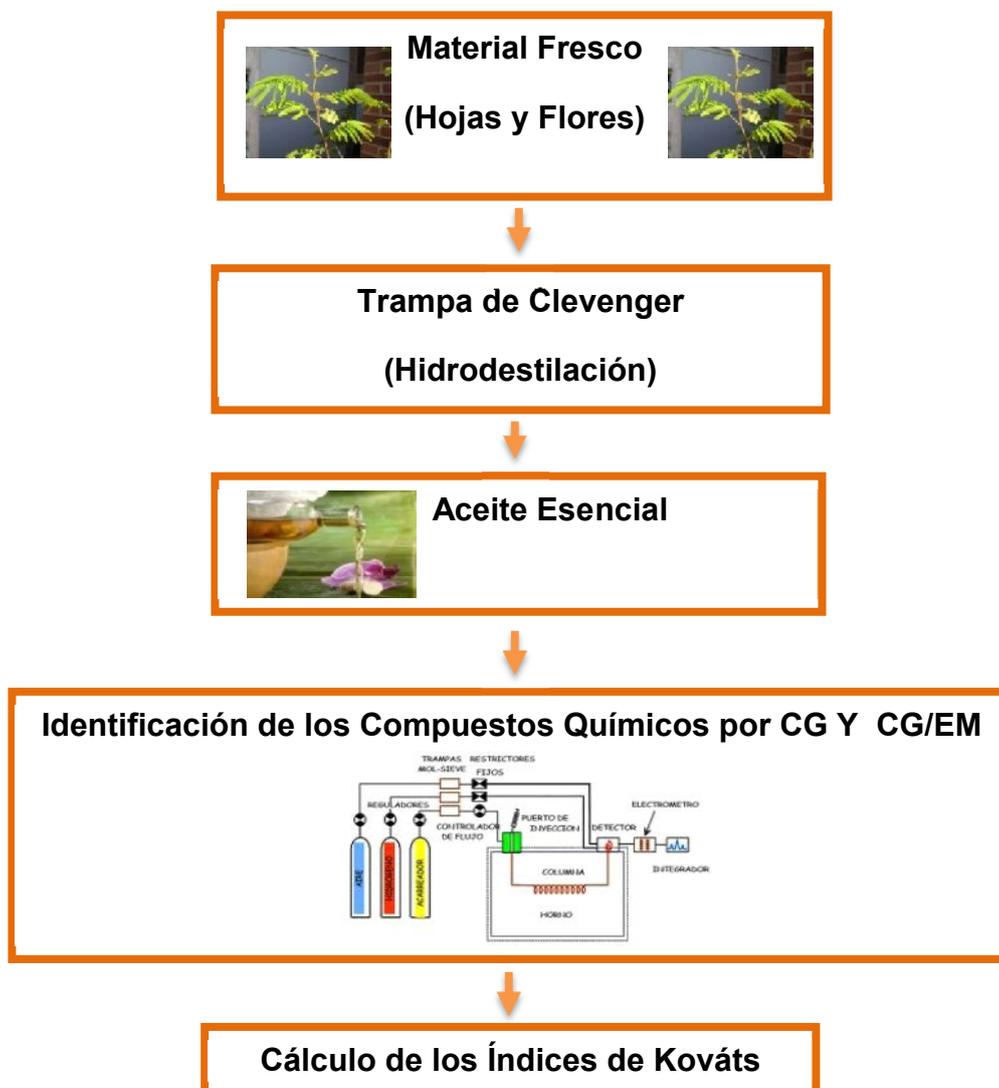
Para Marcano & Hasegawa (2002) el principio básico de la cromatografía consiste en una distribución desigual entre dos fases: estacionaria y móvil, de un determinado compuesto. Esto permite separar una mezcla en sus componentes de acuerdo a sus distribuciones en un sistema de dos fases.

Dentro de este marco de ideas Gutiérrez & Droguet (2002) señalan que la cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas. Pero una vez separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato de que disponemos para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Este dato no es suficiente para una identificación inequívoca, sobre todo cuando se analizan muestras con un número elevado de componentes, como es frecuente en cromatografía de gases capilar. Por otra parte, la espectrometría de masas puede identificar de manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente. Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas, GC (“Gas Chromatography”) y MS (“Mass Spectrometry”) da lugar a una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas.

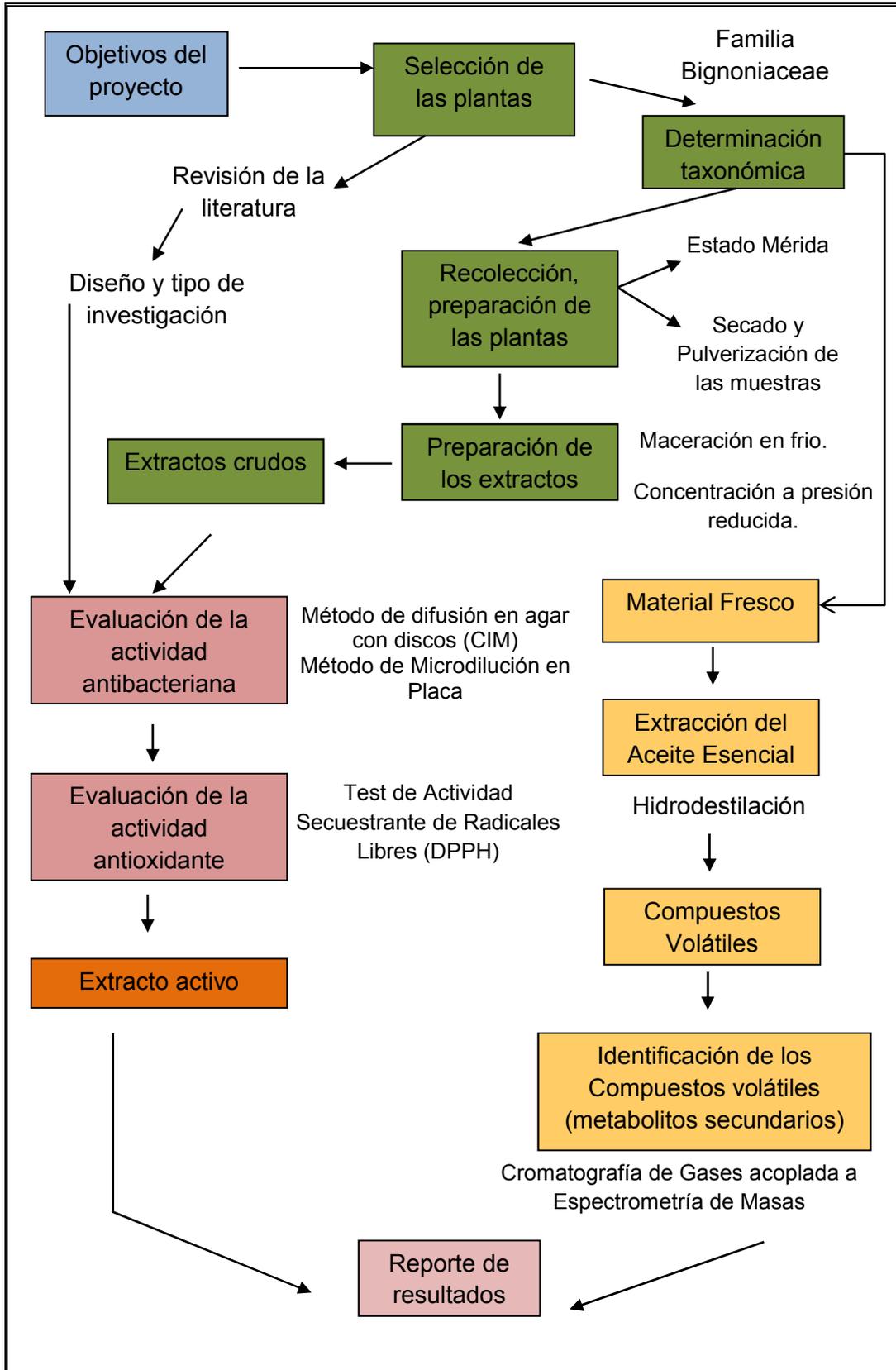
Para la identificación de los componentes químicos presentes en el aceite esencial de las especies *Spathodea campanulata*, *Tecoma stans*, *Podranea ricasoliana* y *Jacaranda mimosifolia*, se usó un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 6890 acoplado a un detector de masas HP 5973. Equipado con un inyector automático y una columna capilar HP-5MS de 30 metros de largo y 0,25 mm de diámetro interno y espesor de película 0,25  $\mu\text{m}$ . El programa de temperatura que se empleó inicio el proceso a 60 °C durante cero (0) minuto y luego se calentó a razón de 4 °C/min hasta 260 °C. El inyector se mantuvo a 200 °C. Se inyectó una muestra de 1,0  $\mu\text{L}$  de una solución de 20  $\mu\text{L}$  de aceite en 1 mL de *n*-Heptano con reparto 1:100. La identificación de sus componentes se efectuó mediante comparación computarizada con las bases de datos: Wiley MS (Sexta Ed.) (Sandra & Bicchi, 1987).

**Cálculo de los Índices de Kováts:** El cálculo de los índices de Kováts se realizó en un cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer modelo Autosystem. Se compararon los tiempos de retención de los componentes del aceite esencial con una serie de *n*-parafinas (C<sub>7</sub>-C<sub>22</sub>) (Kováts, 1958). Los valores obtenidos se compararon con los valores publicados en la literatura (Adams, 1995; Davies, 1990). Este estudio se realizó en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (IIFFB) de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, bajo la asesoría del Profesor Luis B. Rojas.

#### Esquema 4. Obtención de los Aceites Esenciales



### Esquema 5. Camino Metodológico Usado en la Investigación



## CAPITULO IV

### Resultados y Discusión

#### **Actividad Antibacteriana de los Extractos Crudos de las Especies *Spathodea campanulata*, *Podranea ricasoliana*, *Jacaranda mimosifolia* y *Tecoma stans*.**

A continuación se expresan los resultados de la valoración de la actividad antibacteriana de los extractos crudos de hexano, metanol y agua:metanol de las hojas de cada especie vegetal estudiada, usando el método de difusión en agar con discos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, estos microorganismos son morfológicamente y fisiológicamente diferentes y estos resultados son representativos de la actividad antibacteriana de los extractos de cada especie ensayada. En la **Tabla 5** se muestra que ninguno de los extractos inhibió el crecimiento de las cepas de referencia usadas. Es posible que una de las razones por la que los extractos ensayados de las especies vegetales estudiadas no tuvieron actividad frente a las cepas de referencia usadas Gram positivas y Gram negativas, se deba a la concentración empleada puesto que se utilizó 1g/mL de cada extracto, la cual es elevada para la realización de estos ensayos.

Al no obtener los resultados que se esperaban por el método de difusión en agar con disco se empleó el método de microdilución en placa para verificar si realmente las especies vegetales no son activas frente a las cepas de referencia usadas.

**Tabla 5. Actividad Antibacteriana de los Extractos Crudos de las Especies Frente a Cepas de Referencia a una Concentración de 1 g/mL.**

Extractos	Microorganismos				
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
E <sub>1</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>2</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>3</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>4</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>5</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>6</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>7</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>8</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>9</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>10</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>11</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
E <sub>12</sub>	NA	NA	NA	NA	NA
C (+)	30* Amp-S	28* Va	31* Gn	45* Az	36* Cef

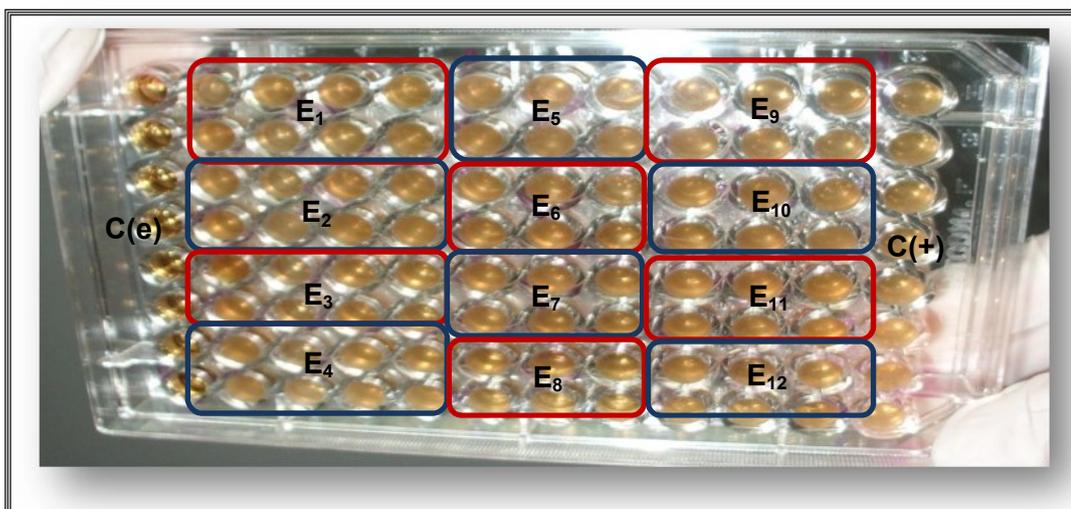
E<sub>1</sub>: *S. campanulata* (hexano 100), E<sub>2</sub>: *S. campanulata* (metanol 100), E<sub>3</sub>: *S. campanulata* (agua:metanol 40:60), E<sub>4</sub>: *Tecoma stans* (hexano 100), E<sub>5</sub>: *Tecoma stans* (metanol 100), E<sub>6</sub>: *Tecoma stans* (agua:metanol 40:60), E<sub>7</sub>: *P. ricasoliana* (hexano 100), E<sub>8</sub>: *P. ricasoliana* (metanol 100), E<sub>9</sub>: *P. ricasoliana* (agua:metanol 40:60), E<sub>10</sub>: *J. mimosifolia* (hexano 100), E<sub>11</sub>: *J. mimosifolia* (metanol 100), E<sub>12</sub>: *J. mimosifolia* (agua:metanol 40:60), C (+): Compuestos de Referencia, NA: no activo, \*: promedio de dos ensayos, Amp-S: Ampicilina-Sulbactam®, Va: Vancomicina®, Gn: Gentamicina®, Az: Aztreonam®, Cef: Ceftazidima®.

Se procedió a realizar el ensayo de la actividad antibacteriana a través del Método de Microdilución en placa contra una cepa Gram positiva como *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y Gram negativa *Escherichia coli* ATCC 25922.

La lectura se realizó por observación directa sin ayuda de ningún aparato óptico observándose turbidez en el pozo del control positivo (Inoculo), lo cual indica un crecimiento adecuado, asimismo se observó el pozo del control negativo claro, sin turbidez (caldo nutritivo sin inocular).

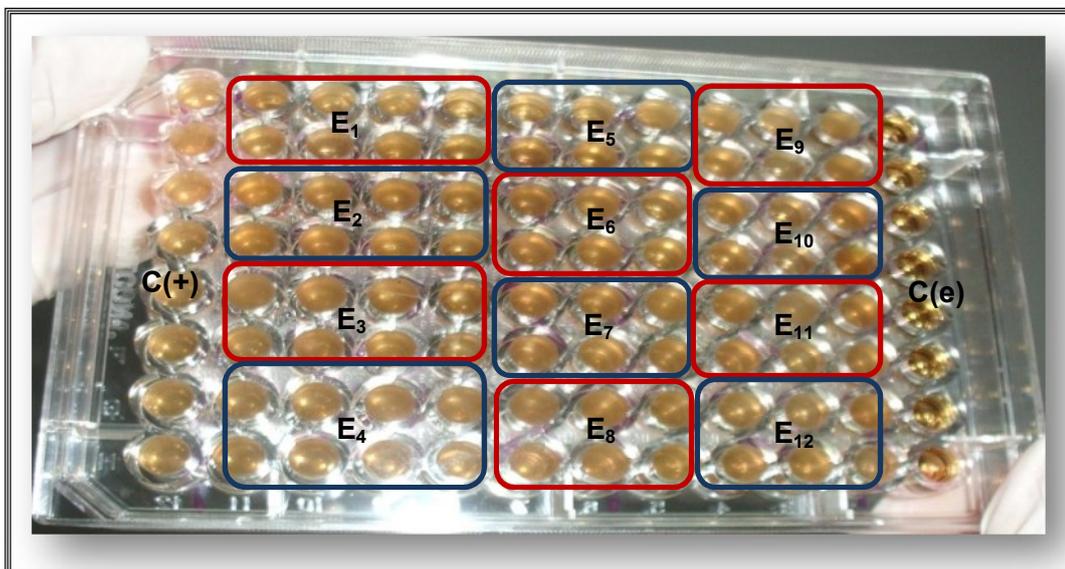
Al comparar el control negativo con los pozos que contenían los extractos con la cepa inoculada (E<sub>1</sub>-E<sub>12</sub>), se determinó que no hubo reducción del crecimiento bacteriano, observándose turbidez en cada uno de ellos (**Figura 6, 7**). Por lo tanto las plantas estudiadas no tuvieron actividad con las cepas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* usando el método de microdilución en placa. Esto permitió corroborar que los extractos crudos de las especies *S. campanulata*, *P. ricasoliana*, *T. stans* y *J. mimosifolia* no poseen actividad antibacteriana contra las cepas ATCC ensayadas a una concentración 20.000 ppm.

**Figura 6. Crecimiento de la Cepa *S. aureus* en los Extractos Crudos de las Especies *S. campanulata*, *P. ricasoliana*, *T. stans* y *J. mimosifolia*.**



C(e): Caldo nutritivo sin inóculo, E<sub>1</sub>: *S. campanulata* (hexano 100), E<sub>2</sub>: *S. campanulata* (metanol 100), E<sub>3</sub>: *S. campanulata* (agua:metanol 40:60), E<sub>4</sub>: *Tecoma stans* (hexano 100), E<sub>5</sub>: *Tecoma stans* (metanol 100), E<sub>6</sub>: *Tecoma stans* (agua:metanol 40:60), E<sub>7</sub>: *P. ricasoliana* (hexano 100), E<sub>8</sub>: *P. ricasoliana* (metanol 100), E<sub>9</sub>: *P. ricasoliana* (agua:metanol 40:60), E<sub>10</sub>: *J. mimosifolia* (hexano 100), E<sub>11</sub>: *J. mimosifolia* (metanol 100), E<sub>12</sub>: *J. mimosifolia* (agua:metanol 40:60), C (+): Inóculo.

**Figura 7. Crecimiento de la Cepa *Escherichia coli* en los Extractos Crudos de las especies *S. campanulata*, *P. ricasoliana*, *T. stans* y *J. mimosifolia*.**



C(e): Caldo nutritivo sin inóculo, E<sub>1</sub>: *S. campanulata* (hexano 100), E<sub>2</sub>: *S. campanulata* (metanol 100), E<sub>3</sub>: *S. campanulata* (agua:metanol 40:60), E<sub>4</sub>: *Tecoma stans* (hexano 100), E<sub>5</sub>: *Tecoma stans* (metanol 100), E<sub>6</sub>: *Tecoma stans* (agua:metanol 40:60), E<sub>7</sub>: *P. ricasoliana* (hexano 100), E<sub>8</sub>: *P. ricasoliana* (metanol 100), E<sub>9</sub>: *P. ricasoliana* (agua:metanol 40:60), E<sub>10</sub>: *J. mimosifolia* (hexano 100), E<sub>11</sub>: *J. mimosifolia* (metanol 100), E<sub>12</sub>: *J. mimosifolia* (agua:metanol 40:60), C (+): Inóculo.

### **Actividad Antibacteriana del Extracto de Diclorometano de las Flores de la Especie *Spathodea campanulata*.**

En la **Tabla 6** se expresan los resultados de la actividad antibacteriana del extracto crudo de diclorometano de las flores de la especie vegetal *Spathodea campanulata*, usando el método de difusión en agar con discos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas ATCC. Dicho extracto inhibió el desarrollo de la bacteria Gram positiva *S. aureus* ATCC 25923 a una concentración de 0,5 g/mL. Este ensayo corrobora con estudios anteriores en el que se le ha reportado actividad antibacteriana a extractos metanólicos de las hojas de la especie *S. campanulata* a una concentración de 0,1 g/mL (Ayyappa *et al.*, 2009). Sin embargo es la primera vez que se reporta actividad antibacteriana del extracto de diclorometano de las flores de esta especie.

Para este ensayo se procedió a identificar la presencia de flavonoides en las flores de la especie *S. campanulata*, anteriormente lavadas con diclorometano. Al extracto del mismo se le realizó una cromatografía en capa fina, observándose la presencia de flavonoides mediante el revelador NEU que le confiere una fluorescencia amarilla (**Figura 8**). Al usar el patrón de quercetina (2 mg/mL MeOH) y Rutina para identificar dichos compuestos, con la fase móvil Butanol: Ác. acético: H<sub>2</sub>O y Hexano-Ác. acético se observó que ninguno estaba presente. Se presume que en el extracto de diclorometano de las flores de *S. campanulata* se encuentren presentes flavonoides menos polares, ya que la quercetina en su estructura posee grupos hidroxilos, y la rutina un disacárido haciéndolas muy solubles, aunque pudo haber influido el hecho de que el extracto estaba muy diluido puesto que se usó 10 mg/mL.

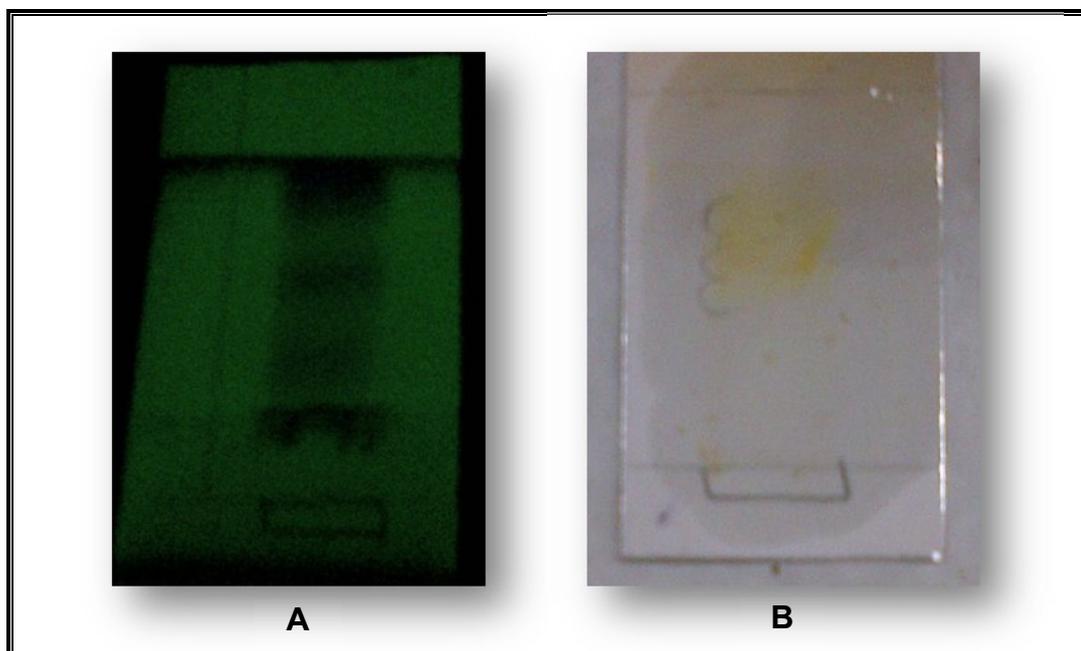
**Tabla 6. Actividad Antibacteriana del Extracto de Diclorometano de las Flores de la *S. campanulata*.**

Microorganismos	Concentraciones				
	0,5g/mL (mm)	30000 ppm	20000 ppm	10000 ppm	C (+)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	18	NA	NA	NA	28* Amp-S
<i>E. coli</i> ATCC 25922	NA	NA	NA	NA	26*

C (+): Compuestos de Referencia, NA: no activo, \*: promedio de dos ensayos, Amp-S: Ampicilina-Sulbactam®, Gn: Gentamicina®.

Basado en estos resultados se procedió hacer diluciones para determinar la CIM (**Tabla 7**). La evaluación antibacteriana realizada por el método de difusión en agar con discos, reveló que las muestras D<sub>1</sub> (CIM 0,25 g/mL), D<sub>2</sub> (CIM 0,125 g/mL) presentaron actividad contra *S. aureus* y D<sub>3</sub> (CIM 0,06 g/mL) no presentó actividad, observándose que la CIM fue de 0,125 g/mL con un halo de inhibición de 18 mm (ver **Figura 9**).

**Figura 8. Corrida y Revelado de los Compuestos Presentes en el Extracto de Diclorometano de las Flores de la *S. campanulata*.**



A: vista en la lámpara luz ultravioleta; B: vista con el revelador NEU.

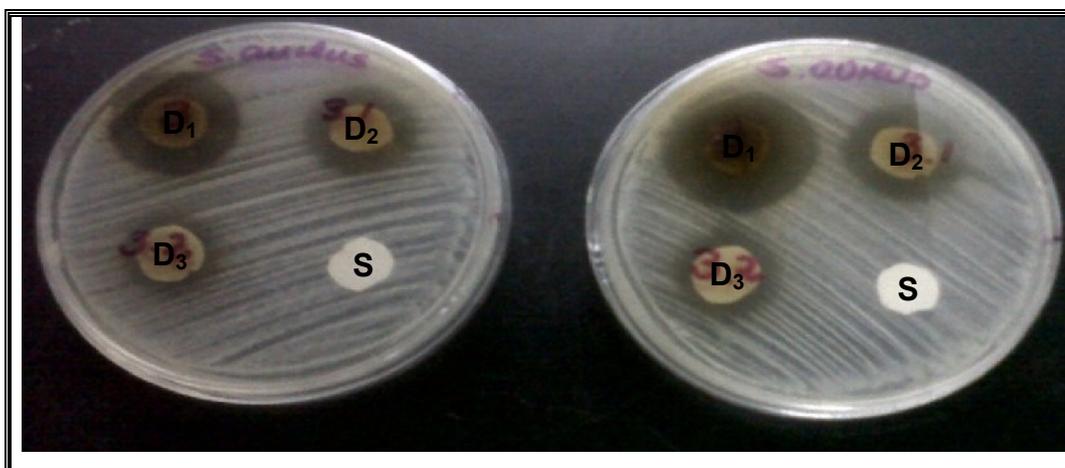
Los resultados obtenidos en esta investigación se correlacionan con estudios anteriores en la especie *Spathodea campanulata*, de la cual se han aislados compuestos con actividad antibacteriana significativa (Pianaro *et al.*, 2007; Ofori *et al.*, 2009).

**Tabla 7. Actividad Antibacteriana de las Diluciones del Extracto de las Flores de la Especie *S. campanulata*.**

Microorganismo	Concentraciones		
	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	21*	18*	0*
<b>CIM</b> g/mL	0,25 g/mL	0,125 g/mL	0,06 g/mL

D: Diluciones, \*: Promedio de dos ensayos, CIM: Concentración Inhibitoria Mínima.

**Figura 9. Actividad Antibacteriana de las Flores de la *S. campanulata* contra *S. aureus* ATCC 25923.**



D1: Dilución 0,25 g/mL, D<sub>2</sub>: 0,125 g/mL, D<sub>3</sub>: 0,06 g/mL, S: solvente (Diclorometano).

### **Extracción del Aceite Esencial de las Especies Vegetales**

En la extracción del aceite esencial de las hojas de las especies *S. campanulata*, *P. ricasoliana*, *T. stans* y *J. mimosifolia* no se obtuvo compuestos volátiles. Sin embargo las flores de la *Spathodea campanulata* Beauv, presento un rendimiento de 0,1 mL (0,005%) de aceite. En el cromatograma se aislaron 30 componentes, los cuales representan el 96,49% de la mezcla (ver **Figura 10, 11**), siendo los mayoritarios: benzoato de bencilo (17,54%), geranil acetona+  $\alpha$ -humaleno (12,74%),  $\beta$ -cariofileno (9,47%), farnesil acetona (5,97%), aromadendreno (4,32%),  $\alpha$ -gurjuneno (3,90%) y tricosano (3,74%).

Los compuestos presentes en el aceite esencial de las flores de la *S. campanulata* se pueden observar en la **Tabla 8**, donde se listan todos los componentes químicos que se lograron identificar en el aceite, en orden de elución en la columna HP-5. Además se indican los Índices de Kováts observados y los de referencia, la abundancia relativa de cada componente y el grado de similitud con los componentes consultados en las librerías del sistema GC-EM. De acuerdo a la literatura consultada es la primera vez que se reporta la composición química del aceite esencial de esta especie vegetal.

**Tabla 8. Componentes del Aceite Esencial de las Flores de la *Spathodea campanulata*.**

PICOS	COMPONENTES	TR (min)	ÁREA (%)	I Kobs	I Kref
1	1-octen-3-ol	4,95	3,06	930	978
2	6-metil-5-hepten-2-ona	5,13	0,58	939	985
3	nonanal	8,11	1,91	1059	1102
4	anethol	13,64	1,05	1239	1251
5	$\alpha$ -cubebeno	16,44	1,17	1329	1351
6	$\beta$ -damascenona	16,72	0,73	1337	1359
7	$\beta$ -elemeno	16,95	1,70	1344	1391
8	$\alpha$ -gurjuneno	17,47	3,90	1358	1409
9	$\beta$ -cariofileno	17,76	9,47	1366	1418
10	geranil acetona + $\alpha$ -humaleno	18,8	12,74	1394	1453
11	alloaromadendreno	19	1,36	1398	1461
12	D-germacreno	19,63	1,56	1422	1480
13	naptaleno	19,69	1,60	1424	1441
14	$\beta$ -ionona	19,79	4,01	1427	1485
15	$\alpha$ -selineno	20,05	1,88	1437	1494
16	aromadendreno	20,34	4,32	1447	1439
17	7-epi- $\alpha$ -selineno	20,7	3,56	1460	1517
18	9,10-dihidro-isolongifoleno	22,43	0,64	1518	1913
19	óxido cariofileno	22,57	3,35	1523	1582
20	longifoleno	23,15	0,54	1541	1407
21	naphthaleno	23,32	0,80	1546	1441
22	$\alpha$ -cadinol	24,25	0,78	1575	1652
23	$\beta$ -himachaleno	24,59	2,70	1585	1500
24	ciclopentadecanol	26,24	1,38	1647	1832
25	benzoato de bencilo	27,52	17,54	1699	1762
26	farnesil acetona	31,44	5,97	1844	1860
27	fenentreno	31,63	1,75	1850	2560
28	tricosano	39,99	3,74	2210	2300
29	tetracosano	42,03	0,67	2318	2400
30	pentacosano	43,28	2,03	2381	2500

TR: Tiempo de Retención, I Kobs: Índice de Kováts observado, IK ref: Índice de Kováts referencial.

Figura 10. Cromatograma del Aceite Esencial de la *S. campanulata*.

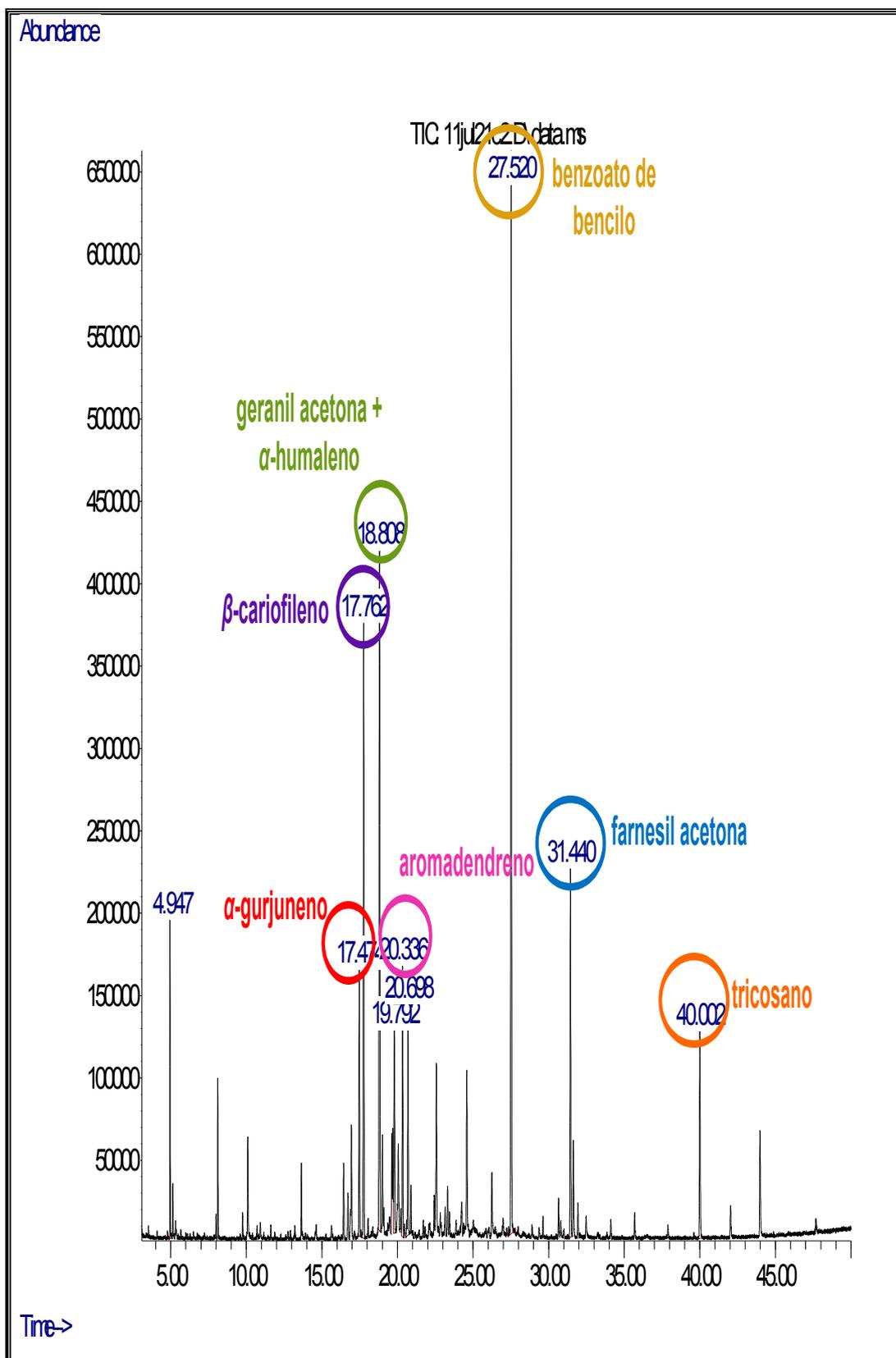
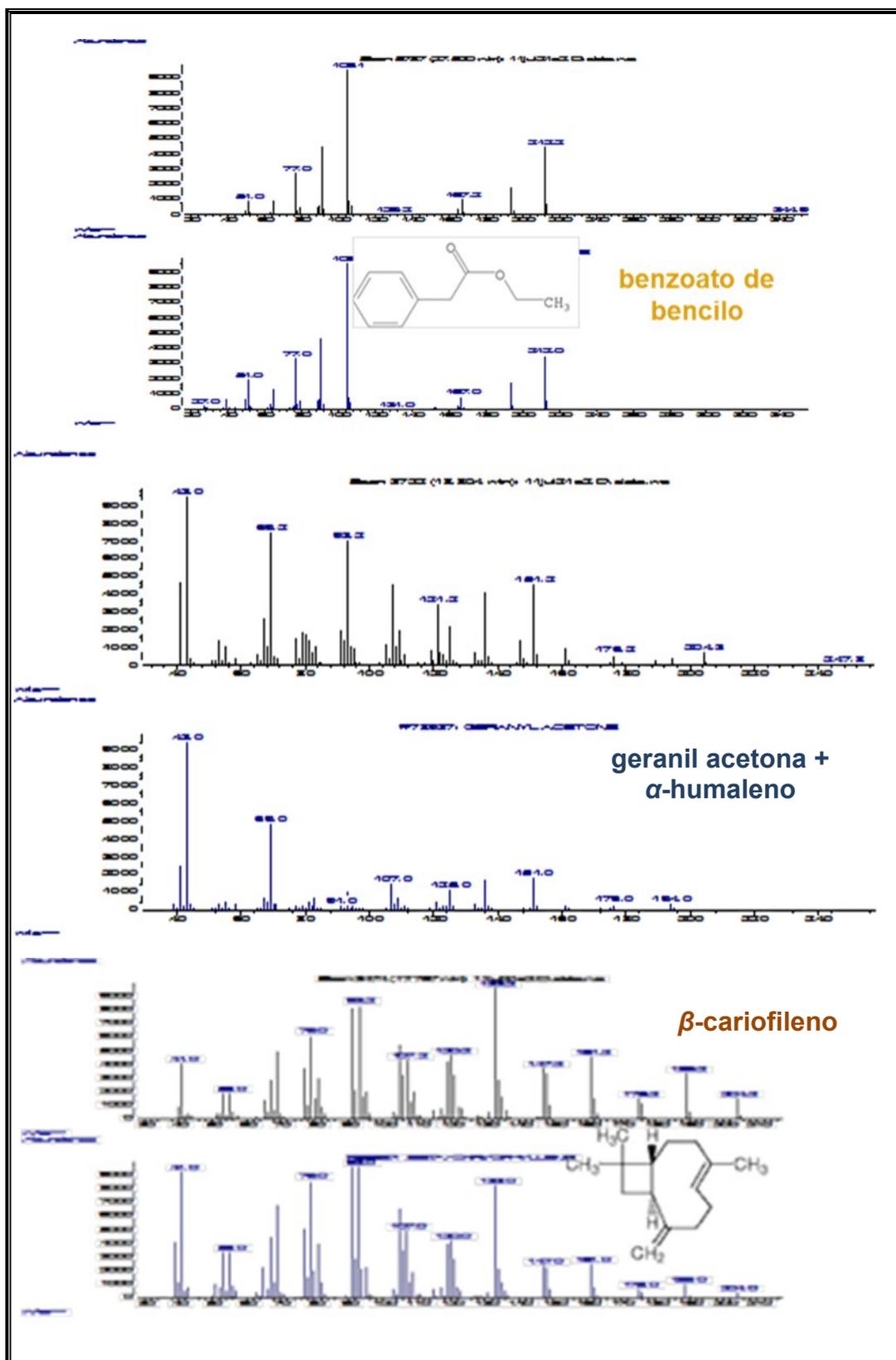


Figura 11. Cromatograma de los Compuestos Mayoritarios del Aceite Esencial de la *S. campanulata*.



### **Actividad Antioxidante Expresada por la Actividad Secuestrante de DPPH del Extracto de Diclorometano de la *Spathodea campanulata***

Este ensayo permitió evaluar la actividad secuestrante de radicales libres del extracto sobre el reactivo 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). En la **Tabla 9** se reportan los datos de este ensayo y en la **Figura 12** se muestra el cambio de color del reactivo. El test cuantitativo de DPPH, para el extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* reveló una buena actividad antioxidante con una  $CI_{50}$  de 940  $\mu\text{g/mL}$ . En el **Grafico 1** se evidencia una actividad dependiente de la concentración hasta 1500  $\mu\text{g/mL}$ , con un % de Inhibición de  $92\% \pm 1$  comparado con un  $97\% \pm 0,09$  obtenido para el ácido ascórbico a una concentración de 176  $\mu\text{g/mL}$  utilizado como control positivo. Sobre este fundamento se puede decir que el extracto de Diclorometano de las flores de la especie *S. campanulata* tiene un gran potencial en la prevención y tratamiento de los daños inducidos por el desbalance a nivel orgánico de los radicales libres de oxígeno (ROS).

Los resultados obtenidos en este ensayo se correlacionan con estudios anteriores a esta especie vegetal, de la cual se han aislado compuestos con actividad antioxidante significativa, tales como glucósidos iridiodes en distintas partes de la planta (Elusiyan *et al.*, 2011), asimismo compuestos flavonoides (Houghton *et al.*, 2005; Mensah *et al.*, 2006). La actividad antioxidante de estos últimos resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, donde los flavonoides retiran el oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células. Sus efectos citoprotectores son, por ejemplo, bien patentes en fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales. Diversos flavonoides han mostrado su eficiencia para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido

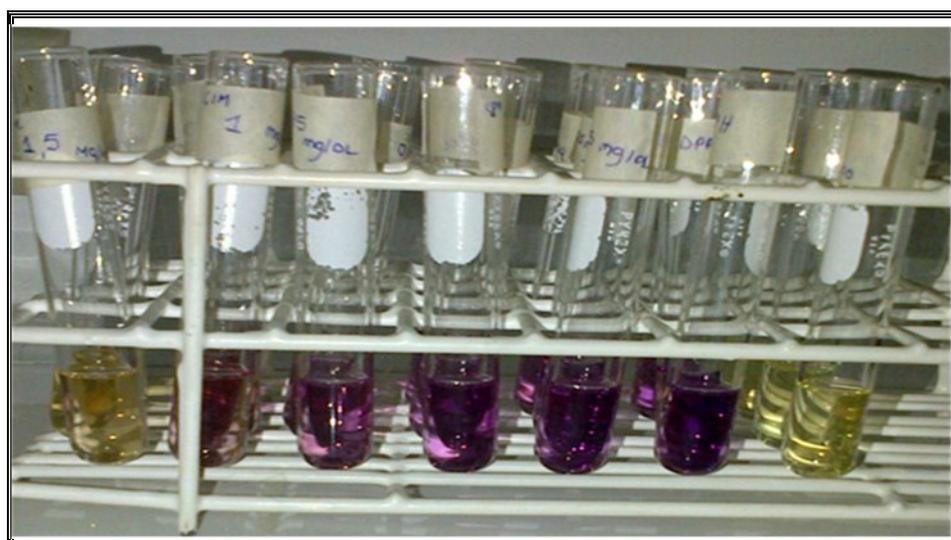
linóico o de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los glóbulos rojos o la auto-oxidación de los homogeneizados de cerebro. Asimismo, se ha comprobado su potente capacidad de inhibir *in vitro* la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos y reducir la citotoxicidad de las LDL oxidadas (Martínez *et al.*, 2002; Escamilla *et al.*, 2009). Protegiendo al organismo de agentes oxidantes como la luz ultravioleta, polución ambiental y sustancias químicas presentes en los alimentos.

**Tabla 9: Actividad Antioxidante del Extracto de Diclorometano de las Flores de la *S. campanulata*.**

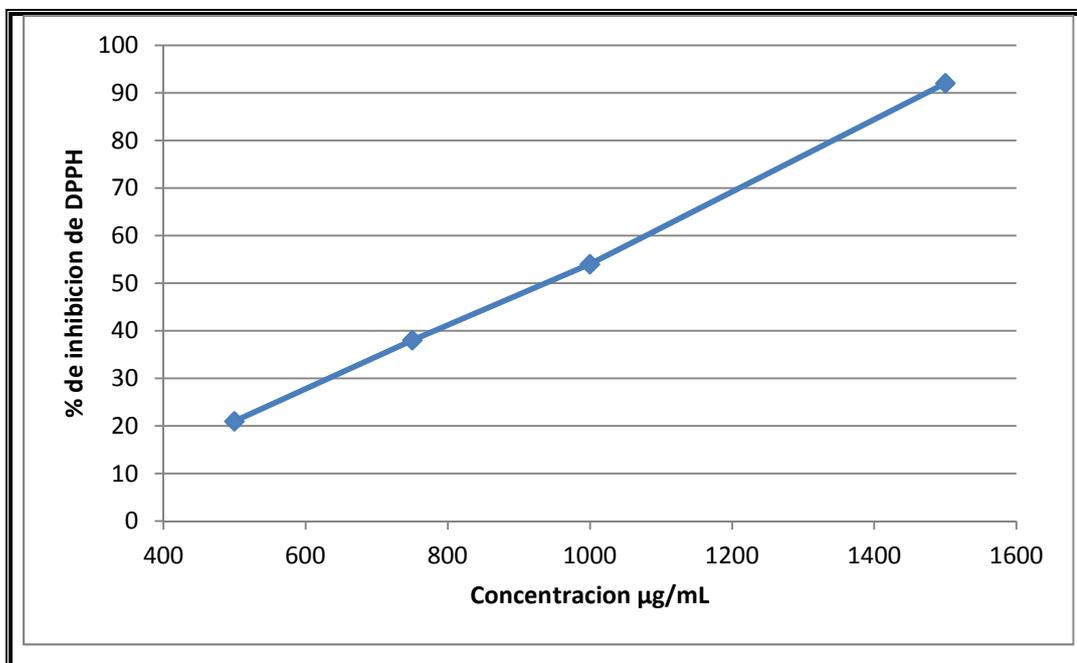
Concentraciones						Referencia: Ácido Ascórbico
<b>µg/mL</b>	<b>250</b>	<b>500</b>	<b>750</b>	<b>1000</b>	<b>1500</b>	<b>176</b>
<b>% I</b>	19	21	38	54	92	97
<b>Ds</b>	1,8	0,7	2,5	3,2	1	0,09

%I: porcentaje de Inhibición, Ds: Desviación.

**Figura 12. Actividad Antioxidante por DPPH del Extracto de Diclorometano de las Flores de la *S. campanulata*.**



**Grafico 1. Actividad Secuestrante de Radicales Libres Expresada como Porcentaje de Inhibición de DPPH del Extracto de Diclorometano de las Flores de *la S. campanulata*.**



Los resultados se expresan como la medida de 3 lecturas (n=3) ± Ds.

## CAPITULO V

### Conclusiones y Recomendaciones

#### Conclusiones

- Los extractos crudos (hexano, metanol, agua:metanol) de las hojas de las especies *S. campanulata*, *P. ricasoliana*, *T. stans* y *J. mimosifolia* no presentaron actividad antibacteriana frente a Cepas ATCC Gram positivas y Gram negativas a una concentración de 1 g/mL, por el método de difusión en agar con discos, ni a una concentración 20.000 ppm., usando el método de microdilución en placa.
- El extracto de diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de las flores de la especie *S. campanulata* mostró actividad frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a una concentración de 0,5g/mL, a través del método de difusión en agar con discos. Este resultado permite inferir que el mecanismo de acción es a nivel de la síntesis de la pared celular (peptidoglicano).
- En la evaluación de la CIM del extracto activo de la *S. campanulata* las concentraciones: 0,25 g/mL, 0,125 g/mL presentaron actividad contra *S. aureus* y a 0,06 g/mL no presento actividad, observándose mayor actividad a una concentración de 0,25 g/mL con un halo de inhibición de 21mm.

- Mediante el uso de la cromatografía de capa fina se observó la presencia de flavonoides en el extracto de diclorometano de las flores de la *Spathodea campanulata*.
- En la extracción del aceite esencial de las flores de la especie *Spathodea campanulata*, se produjo un rendimiento de 0,1 mL (0,005%) de aceite. En el cromatograma se identificaron 30 componentes, los cuales representan el 96,49% del total del aceite. Los compuestos mayoritarios son: benzoato de bencilo (17,54%), geranil acetona +  $\alpha$ -humaleno (12,74%),  $\beta$ -cariofileno (9,47%), farnesil acetona (5,97%), aromadendreno (4,32%),  $\alpha$ -gurjuneno (3,90%) y tricosano (3,74%). Es importante señalar que las hojas de las especies estudiadas no presentaron compuestos volátiles. Este es el primer reporte del estudio del aceite esencial de las flores para esta especie la *S. campanulata*.
- El test cuantitativo de DPPH, para el extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* reveló una buena actividad antioxidante con una  $CI_{50}$  de 940  $\mu$ g/mL. Se evidenció una actividad dependiente de la concentración hasta 1500  $\mu$ g/mL, con un % de Inhibición de 92% comparado con un 97% obtenido para el ácido ascórbico a una concentración de 176  $\mu$ g/mL utilizado como control positivo.
- En la presente investigación se corroboró el potencial antioxidante de las flores de la *S. campanulata*, siendo este el primer reporte del extracto de  $CH_2Cl_2$  de esta especie vegetal.

## Recomendaciones

- Ensayar con extractos de Diclorometano de hojas y flores de las especies *Tecoma stans* y *Jacaranda mimosifolia* para evaluar su actividad antibacteriana y antioxidante.
- Se recomienda, incorporar agentes fúngicos para evidenciar la actividad de los extractos de las especies vegetales contra estos.
- Realizar el estudio fitoquímico del extracto de diclorometano de la especie *S. campanulata* para lograr separar e identificar los flavonoides presentes en dicha planta.

**Resultados Académicos Durante la Realización de este Trabajo de Investigación.**

**Nacional:**

JORNADAS 118° ANIVERSARIO DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS. Mérida-Venezuela. El 26 Octubre del 2012.

**Internacional:**

XXI CONGRESSO ITALO-LATINOAMERICANO DI ETNOMEDICINA "*Paolo Cabras*". Paestum-Salerno, Italia. Del 25 al- 29 Septiembre del 2012.

## Definición de Términos

**Glosario Botánico** (Tomado de Acosta 2008).

**Androceo:** es la parte masculina de la flor. Está constituida por los estambres que no son otra cosa que unas hojitas que se han transformado con la finalidad de llevar el polen.

**Antera:** que es la “bolsita” superior donde están encerrados los granos del polen.

**Ápice:** extremo superior o punta de la planta.

**Cáliz:** es la parte verde de la flor. Tiene una consistencia más fuerte que la corola y a sus piezas les llamamos sépalos.

**Cápsula con dehiscencia:** propiedad de algunos frutos cerrados o anteras de las flores de abrirse para esparcir el polen o las semillas.

**Corola:** es el segundo verticilio o envoltura de la flor, y está formada por hojas modificadas llamadas pétalos.

**Corola simpétala:** dicho de una flor: cuya corola está formada por pétalos soldados en un tubo único, como la de la petunia y otras muchas.

**Cotiledones foliáceos:** son las hojas primordiales constitutivas de la semilla y se encuentran en el germen o embrión.

**Didinamia:** fuerza física, poder, aquí se alude a los estambres de los cuales hay dos que tienen más empuje y alcanzan mayor longitud.

**Didinamos:** aplicase al androceo en que ocurre el fenómeno de la didinamia.

**Endocarpio:** la parte interna del pericardio de un fruto.

**Endospermo:** es el tejido nutricional formado en el saco embrionario de las plantas con semilla; es triploide y puede ser usado como fuente de nutrientes por el embrión durante la germinación.

**Estaminodio:** aplicase al estambre que habiendo, perdido su función permanece completamente estéril al final de su desarrollo.

**Estambre:** órgano masculino de la flor.

**Estigma:** que está situado en la parte superior de receptáculo para recoger el polen.

**Estilo:** parte estrechada situada entre el ovario y el estigma.

**Foliáceas:** que tiene forma o estructura de hoja.

**Foliolo:** se llama pinna o foliolo a cada una de las piezas separadas en que a veces se encuentra dividido el limbo de una hoja.

**Hojas compuestas:** hoja cuyo limbo está dividido en dos o más partes llamadas folíolos.

**Hojas opuestas:** son los que están colocados en un número de dos por nudo y cada una en el lado opuesto del tallo de la otra.

**Hojas alternas:** son hojas pecioladas que nacen de una en una a lo largo del tallo.

**Hojas imparipinadas:** se conocen como hojas imparipinadas a aquellas hojas compuestas que no crecen en pares alrededor de la ramita o raquis de sostén. Pueden parcialmente crecer en pares, pero generalmente la última hoja es solitaria en la punta del raquis.

**Inflorescencia:** es la disposición de las flores en el tallo.

**Inflorescencia axilar:** cuando nacen en las axilas de las hojas o bracteas de modo que no detiene el crecimiento.

**Inflorescencia en panícula o racimo:** tiene un eje central alargado en donde se insertan lateralmente flores separadas y pendulares.

**Inflorescencia terminal:** cuando el tallo o la rama terminan por una flor que detiene el crecimiento del mismo.

**Limbo:** es la parte plana de la hoja. Su parte superior se llama haz, y la inferior, envés.

**Lóbulo:** lobo o gajo pequeño.

**Lóculo:** Cada una de las cavidades que, separadas por tabiques longitudinales, podemos encontrar en el interior del ovario o el fruto.

**Ovarios supero:** con el ovario supero situado por encima del resto de los elementos florales.

**Palmadas o pinnado-compuestas:** es una hoja dividida en folíolos o segmentos, de tal modo que estos parten del raquis primario.

**Pecíolo:** pezón o rabillo que une la lámina de la hoja a la base foliar a al tallo.

**Pedicelos:** Tallo que sostiene una sola flor.

**Pedúnculo:** eje que lleva la flor, después el fruto.

**Pistilo:** parte estéril más o menos larga que sirve como un "cañón" donde se depositarán los granos de polen, los cuales serán retenidos por la secreción de líquido estigmático.

**Receptáculo:** extremo ensanchado o engrosado del pedúnculo, casi siempre carnoso, donde se asientan los verticilos de la flor o las flores de una inflorescencia.

**Sépalo:** conjunto de hojas que componen el cáliz.

**Yema axilar:** órgano de crecimiento que se sitúa entre el tallo y el peciolo.

**Glosario Médico** (Tomado de Villarreal 2008).

**Antibacteriano:** relativo a una sustancia que destruye las bacterias o inhibe su crecimiento o reproducción.

**Antibiótico:** relacionado con la capacidad de destruir o impedir el desarrollo de un organismo vivo.

**Diabetes:** enfermedad que se caracteriza por exceso de azúcar en la sangre y se manifiesta por un abundante eliminación de orina.

**Diarrea:** deposiciones líquidas y frecuentes, causadas por una intoxicación, una infección.

**Disentería:** inflamación del intestino, especialmente el colón, que puede deberse a irritantes químicos, bacterias, protozoos o parásitos. Se caracteriza por deposiciones frecuentes, heces con sangre, dolor abdominal y tenesmo rectal.

**Hidropesía:** acumulo excesivo de líquido acuoso y claro en un tejido o cavidad, como pueden ser una articulación, la trompa de Falopio, el oído medio o la vesícula biliar.

**Malaria:** enfermedad contagiosa producida por un protozoo parásito de los glóbulos rojos de la sangre.

**Tenesmo:** deseo continuo, doloroso e ineficaz de orinar o defecar, producido por una irritación del cuello vesical o del ano.

**Úlcera:** pérdida de sustancia de un revestimiento epitelial, cutáneo, o mucoso, acompañada de lesiones en los tejidos adyacentes y de difícil cicatriza.

## CAPITULO VI

### Referencias

Acosta, P. (2008). **Botánica general**. Guía didáctica. Editorial Universidad Técnica Particular de Loja. Escuela de ciencias de la educación. Ecuador. Disponible: <http://www.utpl.edu.ec/eva/descargas/material/143/g247051.pdf> [Consulta: 2010 Octubre 28].

Adams, R. (1995). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectroscopy. Llinois.

Agiare, C., Asaseb, A., Lechtenbergc, M., Niehuesc, M., Detersc, A. and Henselc, A. (2009). An ethnopharmacological survey and in vitro confirmation of ethnopharmacological use of medicinal plants used for wound Healing in Bosomtwi-Atwima-Kwanwoma area, Ghana. **Journal of Ethnopharmacology**, **125**, 393–403.

Albarracín, G. & Gallo, S. (2003). **Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando Piper aduncum (cordoncillo) procedente de la zona cafetera**. Trabajo de grado para optar el título de “Ingeniero Químico”. Universidad de Los Andes.

Albornoz, A. (1980). **Productos naturales: Estudio de las sustancias y drogas extraídas de las plantas**. Caracas-Venezuela. Publicaciones de la Universidad Central de Venezuela.

Alcalde, M. & Pozo, A. (2004). Formación permanente en dermofarmacia. Ácido Ursólico. **OFFARM**, **23**, (10), 153-155.

Álvarez, C. A. & Orallo, C. F. (2003). Actividad de los flavonoides. Acción frente al cáncer. **Bioquímica**, **22**, (10), 130-140.

Alwyn, H. (1982). **Flora de Venezuela. Bignoniaceae**. Caracas-Venezuela. 343-346.

Amusan, O., Adesogan, E. and Makinde, J. (1995). Antimalarial active principles of *Spathodea campanulata* stem bark. **Phytother Research**, **10**, (8), 692–693.

Ayyappa, M., Dhanabalan, R. and Doss, A. (2009). In vitro antibacterial activity of two medicinal plants against bovine udder isolated bacterial pathogens from dairy herds. **Ethnobotanical Leaflets** **13**, 152-58.

Azzawi, A., Jatib, E., Sameraei, K. and Juboori, G. (2012). La actividad antibacteriana y el estudio histopatológico de los extractos crudos y tecomine aislado de *Tecoma stans Bignoniaceae* en Irak. **Pharmacognosy**, **4**, (1), 37-43.

Barreto, J. (1997). **Efectos antimicrobianos del diente de león (Taxaxacum officinale) y el gualanday (Jacaranda obtusifolia) sobre Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa causantes de enfermedades de la piel**. Tesis de Pregrado no publicado. Pontificia Universidad Javeriana. Carrera Bacteriología. Facultad Ciencias Básicas. Bogotá-Colombia.

Binutu., O. A and Lajubutu, B. A. (1994). Antimicrobial potentials of some plant species of the Bignoniaceae family. ***African Journal of Medicine and Medical Sciences*** **23**, (3), 269-73.

Bogino, S. & Gómez, M. (2006). El jacarandá. *Informativo Rural*, **E.E.A INTA. San Luis**, **3**, (9). [Revista en línea]. Disponibles: <http://www.produccion-animal.com.ar> [Consulta: 2010, Octubre 20].

Boonyaratavej, S. & Petsom, A. (1991). Chemical constituents of the roots of *Bridelia tomentosa* BL. ***Journal of the Science Society of Thailand*** , **17**, 61-69.

Bruneton, J. (2001). Flavonoides. En: ***Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas Medicinales***, 2ªed. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 305-349.

Campos, M. (2007). Alcaloides. ***Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas***, **38**, (4), 50-51.

Carey, F.A. (2003). ***Organic Chemistry***. 5ª ed. Editions McGraw-Hill.

Corral, A., Jiménez, G. and De la Paz, J. (2002). Droga cruda y extracto fluido de *Tecoma stans* L. ***Revista Cubana de Plantas Medicinales.***, **7**, (3), 138-41.

CLSI. (2008). ***Clinical and Laboratory Standars Institute. Performarce Standars for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplemnt.*** CLSI Document M 100-S18 [ISBN 1-56238 653-0]. Clinical and Laboratory Standars Insitute, 940 West Valley Road, Siute 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.

Davies, N. W. (1990). Gas Chromatographic Retention Indices of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl silica and Carbowax 20 M. Phases. **Journal of Chromatography**, **503**, 1-24.

De la Paz, J., Corral, A. Rivero, G., Fernández, M. and Pérez, P. (2003). Efecto hipoglucemiante del extracto fluido de *Tecoma stans* Linn en roedores. **Revista Cubana de Medicina Militar**, **32**, (1),13- 17.

Díaz, L., Montijo, S., Medina, A., Meléndez, P., Laurence, V. and Mestres, G. (2011). Actividad del extracto etanólico de las hojas de *Machaerium floribundum* contra bacterias que inducen el acné y su efecto citoprotector y antioxidante sobre fibroblastos. **Revista Peruana de Biología**, **18**, (2), 153-158.

Domingo, D. & López, M. (2003). Plantas con Actividad antimicrobiana. **Revista Española de Quimioterapia. España**, **16**, (4), 385-393.

Duran, R. & Borja, R. (1993). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Fasc**, **44**, (2), 101-106.

Eichemberg, M., De Mello, M. and Cunha, L. (2009). Species composition and plant use in old urban homegardens in Rio Claro, Southeast of Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, **23**, (4), 1057-1075.

Elusiyan, C. A., Ani, N. C., Adewunmi, C. O. and Olugbade, T. A. (2011). Distribution of iridoid glucosides and anti-oxidant compounds in *Spathodea campanulata* parts. **African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines**, **8**, (1),27-33.

Escamilla, C., Cuevas, E. and Guevara, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. **Revista de la Facultad de Medicina**, **52**, (2), 73-75.

Francis, J. (1990). ***Spathodea campanulata Beauv. African tulip tree***. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station.

Gachet, M. & Schühly, W. (2009). *Jacaranda* –An ethnopharmacological and phytochemical review. ***Journal of Ethnopharmacology*, 121**, 14–27.

García, A. & Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. ***Reduca*, 2** (3), 119-145.

González, A. (2004). ***Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del amazonas***. Tesis de Grado no publicada, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá – Colombia.

Gouda, Y. G. (2009). Iridoids from *Spathodea campanulata* P. Beauvais leaves. ***Natural Product Communications*, 4**, (6), 753-6.

Gutiérrez, A., Ledesma, L., García, I. and Grajales, O. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. ***Revista Cubana de Salud Pública*, 33**, (1), 1-8.

Gutiérrez, M.C. & Droguet, M. (2002). ***La Cromatografía de Gases y la Espectrometría de Masas***. Identificación de Compuestos Volátiles por CG-MS, (122), 35-41.

Houghton, P., Hylands, P. and Mensah, A. (2005). In vitro tests and ethnopharmacological investigations: wound healing as an example. ***Journal de Ethnopharmacology*, 100**, 100–107.

Hoyos, F. (1985). ***Arboles Cultivados de Venezuela***. Caracas-Venezuela. 44-45.

Ibarra, M., Cantú, P., Verde, M. and Oranday, A. (2009). Caracterización fitoquímica y efecto hipoglucemiante de *Tecoma stans* y su relación con la presencia del cromo como factor de tolerancia a la glucosa. **Revista Información Tecnológica, 20**, (5), 55-65.

Korc, S., Bidegain, M. and Martell, M. (2005). Radicales libres bioquímica y sistemas antioxidantes Implicancia en la patología neonatal. **Revista Médica del Uruguay, 11**, (2), 121-135

Kovats, E. (1958). Gaz-chromatographische charakterisierung organischcher verbindungen. Tell: Retentions indices all phatischer halogenide alkohols, aldehyde, and ketone. **Hevetica chemical acta, 41**, 1915-1932.

Kumar, D. & Patel, N. (2010). Pharmacognostic and phytochemical investigations of the leaves of *Tecoma stans* Linn. **International journal of pharmaceutical sciences review and research, 3**, (1), 70-72.

Lizcano, A. & Vergara, J. (2008). **Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales Valeriana pilosa, Hesperomeles ferruginea, Myrcianthes rhopaloides y Passiflora manicatta frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos**. Trabajo de Grado no publicada, Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Industrial. Colombia.

López, M. (2002). Flavonoides. **Fitoterapia, 21**, (4), 108-113.

Mabberly, D. (1987). **The Plant Book**. New York, USA.

Marcano, D. & Hasegawa, H. (2002). **Fitoquímica orgánica**. Consejo de desarrollo científico y Humanístico. Caracas-Venezuela.

Martínez, R. (2005). **Estudio comparativo de la actividad antibacteriana de diferentes presentaciones comerciales de antibiótico de**

**administración intravenosa a través de métodos in vitro. Cefepime Clorhidrato.** Trabajo de Grado. Química Farmacéutica. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Carrera de Química Farmacéutica. Bogotá, 88.

Mensah, A., Houghton, P., Dickson, R., Fleischer, T., Heinrich, M. and Bremner, P. (2006). *In Vitro* evaluation of effects of two Ghanaian plants relevant to wound healing. ***Phytotherapy Research*, 20**, (11), 941–944.

Moellering, J. (1998). Antibiotic resistance: lessons for the future. ***Clinical Infections Diseases*, 27**, (1), 135- 140.

Mokche, O., Paul, E. and Berry, O. (2008). ***Nuevo catálogo de la flora de Venezuela***. Fundación Instituto Botánico de Venezuela. “Dr. Tobias Lasser”. Caracas- Venezuela. 270-275.

Murray, P., Rosenthal, K. and Pfaller, M. (2006). ***Microbiología Médica***. Quinta edición. Editorial Elsevier. Madrid – España.

Ngouela, S., Barthelemy, N., Etienne, T., Beibam, L., Sondengam, J. and Connolly, D. (1990). Spathodic acid: A triterpene acid from the stem bark of *Spathodea campanulata*. ***Phytochemistry*, 29**, (12), 3959-3961.

Ngouela, S., Etienne, T. and Sondengam, L. (1991). Spathodol, a new polyhydroxysterol from the leaves of *Spathodea campanulata*. ***Journal of Natural Products*, 54**, (3), 873-876.

Nongonierma, G., Ngewou, R., Mengata, P., Dieye, D., Cisse, A and Faye, A., (2005). Healing activity of methanolic extract of the barks of *Spathodea campanulata* Beauv (Bignoniaceae) in rat experimental burn model. ***Dakar Medicinal*, 50**, (2), 77-81.

Ofori, K., Kwapong, A. and Adu, F. (2009). Antimicrobial Activity of Extracts and Topical Products of the Stem Bark of *Spathodea campanulata* for Wound Healing. ***African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicine***, **6**, (2), 168–174.

Orwa C., Mutua, A., Kindt R., Jamnadass, R. and Simons, A. (2009). ***Spathodea campanulata***. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 (<http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>).

Paredes, F. & Roca, J. (2004). Acción de los antibióticos *Perspectiva de la medicación antimicrobiana*. ***OFFARM***, **23**, (3), 116-124.

Pelczar, M. J. & Reid, R. D. (1992). ***Microbiología***. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, 664.

Pianaro, A., Pereira, J., Trevisan, D., Kazue, N. and Braz-Filho, R. (2007). Iridoidglucoside and antifungal phenolic compounds from *Spathodea campanulata* roots. ***Semina: Ciências Agrárias***, **28**, (2), 251-256.

Prescott, L., Harley, L. and Klein, D. (2004). ***Microbiología***. Quinta edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España.

Ramírez, L. & Marin, D. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. ***Scientia Et Technica***, **XV**, (42), 263-268.

Risco, E. (2009). Revisión etnofarmacológica y fitoquímica del género *Jacaranda*. ***Revista de Fitoterapia***, **9**, (1), 69-75.

Rojas, J. J, Ochoa, V.J, Ocampo, S.A. and Muñoz, J.F. (2006). Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: a possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. ***BMC Complementary and Alternative Medicine***, **17**, (6), 2.

Rondón, M., Velasco, J., Morales, A., Rojas, J., Carmona, J., Gualtieri, M. and Hernández V. (2005). Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Salvia leucantha* Cav. cultivated in Venezuela Andes. **Revista latinoamericana Químioterapia**, **33**, 40-44.

Ruiz, G. M. & Susunaga, C. M. (2000). **Actividad antimicrobiana presente en partes aéreas de las especies *Bursera simaoruba* y *Bursera graveolens* (Burseraceas) frente a microorganismos como *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Fusarium oxysporum*.** Carrera Microbiología industrial. Facultad de Ciencias. Departamento de Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo de Pregrado. Bogotá DC. 40.

Sánchez, J. (2007). **Árboles y arbustos de bajo consumo en agua: un mundo de posibilidades.** Ponencia presentada en el Seminario Jardinería pública y sostenibilidad. Nuevos retos para el siglo XXI. Universidad Internacional Menéndez Pelayo. Cuenca. 1-34.

Sánchez, J. (2010). **El género *Podranea* Sprague** (Bignoniaceae). 1-3. [Documento en línea]. Disponible: <http://arbolesornamentales.es/Genero%20Podranea.pdf> [Consulta: 2010 Septiembre 20].

Sandra, P & Bicchi, C. (1987). **Capillary gas chromatography in essential oil Analysis.** Heidelberg.

Takeota, G. R., Guentert, M., Smith, S. L. and Jennings W. (1986). **Changes in Aroma Concentrates During Storage. In Biogenesis of Aromas.** T. H. Parliament and R. Croteau eds. Washington DC, 65.

Tortora, Funk and Case. (2007). **Introducción a la Microbiología**. Novena edición. Editorial Médica Panamericana.

Velasco, J., Contreras E., Buitrago, D. and Velazco, E. (2005). Efecto antibacteriano de *Virola sebifera* sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. **Ciencia**, **13**, 411-415.

Villarreal, S. (2008). **Estudio fitoquímico y actividad antibacteriana e hipoglicemiante del *Phyllanthus salviaefolius* H.B.K. (Euphorbiaceae)**. Tesis de Maestría no publicado, Universidad de Los Andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Mérida-Venezuela.

Wollenweber E., Valant-Vetschera K. M., Ivancheva S. and Kuzmanov B. (1987). Flavonoid aglycones from the leaf surfaces of some *Achillea* species. **Phytochemistry**, **26**, (1), 181-182.

Zampini, I., Cudmani, N and Isla, M. (2007). Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico – resistentes. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**, **41**, (003), 385-393.