



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
DR “ALFREDO NICOLÁS USUBILLAGA DEL
HIERRO”**



**COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS
EXTRACTOS DE LA RAÍZ DE *Erythrina edulis***

Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al Título de
Licenciado en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autora(s):

Karelys Madeley Moros Molina

C.I. V-26.287.625

Paola Andreina Vallera Vargas

C.I. V-26.757.422

Tutor:

Prof. Julio Cesar Rojas Silva

Mérida, julio de 2024

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación lo dedicamos principalmente a Dios, por ser nuestro guía y sostén en la realización de nuestros proyectos y metas, por brindarnos la sabiduría y fortaleza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados, permitiéndonos llegar a este punto de nuestro desarrollo personal y profesional.

A nuestros padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, nos han permitido recorrer este camino y convertirnos en lo que ahora somos, es un gran privilegio y orgullo ser sus hijas, son los mejores padres.

A nuestros hermanos (as) y demás familiares por estar siempre presente, acompañándonos y brindándonos apoyo bajo cualquier circunstancia a lo largo de esta etapa de nuestras vidas

A nuestros compañeros de estudio, quienes compartieron día a día el esfuerzo, dedicación y constancia que representaba ir avanzando en nuestra profesión.

A todas las personas que nos han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito, en especial a aquellos que compartieron sus conocimientos, experiencias y fueron guía antes y durante la realización del mismo.

A nuestro esfuerzo y nuestra fe inquebrantable durante todos estos años, de lucha y perseverancia, en tiempos difíciles para nuestro país, por no rendirnos y salir adelante en medio de tantas limitaciones.

Paola Andreina Vallera Vargas

Karelys Madeley Moros Molina

AGRADECIMIENTO

Agradecemos de manera especial y sincera a nuestra admirable casa de estudio la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, por ser nuestro segundo hogar y sede de formación durante años, lugar que llevaremos siempre en nuestro corazón con mucho orgullo, respeto y buenos recuerdos a lo largo de nuestras vidas.

A nuestro tutor, profesor y amigo Dr. Julio Rojas por aceptarnos para la realización de este trabajo de investigación bajo su dirección apoyo, confianza y su capacidad para guiarnos, ha sido un aporte invaluable durante este proceso.

Al instituto de investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” a sus profesores y personal que lo conforman, gracias por siempre brindarnos la mejor asesoría, y disponibilidad para la elaboración de nuestro proyecto, en especial a quienes conformaron parte de nuestro jurado, profesora Rosa Aparicio y profesora Yndra Cordero, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado, al igual que la profesora Clara Díaz por su aporte y participación, facilitando siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades durante el desarrollo de nuestra tesis.

A nuestra profesora Alida Pérez, no cabe duda que su colaboración ha enriquecido el trabajo realizado y además ha significado un aporte fundamental en nuestra investigación.

Finalmente agradecemos a todos los que han sido parte de nuestra formación, destacando a los profesores que desde el inicio de este camino, nos han enseñado y motivado a comprometernos, como profesionales íntegros tanto a nivel científico como personal y además han significado el surgimiento de una gran amistad y apoyo, gracias por permitirnos vivir a su lado una experiencia tan importante para nuestra formación.

A todos muchas gracias

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURA.....	vii
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	viii
ÍNDICE DE TABLA.....	viii
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA.....	3
Planteamiento del Problema.....	3
Justificación e Importancia de la Investigación.....	7
Objetivos de la Investigación.....	8
<i>Objetivo General.....</i>	<i>8</i>
<i>Objetivos Específicos.....</i>	<i>8</i>
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	9
<i>Alcances de la Investigación.....</i>	<i>9</i>
<i>Limitaciones de la Investigación.....</i>	<i>9</i>
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	10
Trabajos Previos.....	10
Antecedentes Históricos o Epistemológicos.....	15
Bases Teóricas.....	16
Familia Fabaceae.....	16
Género <i>Erythrina</i>	22
Especie <i>Erythrina edulis</i>	26
Productos Naturales.....	28
Extractos vegetales.....	35
Análisis fitoquímico preliminar o tamizaje fitoquímico.....	39

ÍNDICE DE CONTENIDO (CONTINUACIÓN)

Bacterias y Hongos.....	41
Actividad antimicrobiana.....	55
Definición Operacional de Términos.....	57
Operacionalización de las Variables.....	59
Hipótesis.....	62
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO.....	63
Tipo de investigación.....	63
Diseño de investigación.....	63
Población y muestra.....	64
<i>Unidad de Investigación.....</i>	<i>64</i>
<i>Selección del Tamaño de la Muestra.....</i>	<i>64</i>
Sistema de Variables.....	65
Instrumentos de recolección de datos.....	65
Procedimiento de la investigación.....	66
Diseño de Análisis.....	78
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	79
Resultados.....	79
Discusiones.....	90
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	93
Conclusiones.....	93
Recomendaciones.....	94
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS.....	95

N°	ÍNDICE DE FIGURAS	Pág.
1	Fabaceae herbácea: <i>Vicia sativa</i>	16
2	Composición química de la familia Fabaceae.....	20
3	Género <i>Erythrina</i>	22
4	Composición química del género <i>Erythrina</i>	24
5	<i>Erythrina edulis</i>	26
6	Compuestos químicos de la especie <i>Erythrina edulis</i>	27
7	Estructura química de alcaloides.....	30
8	Estructura química de terpenos.....	31
9	Estructura química de quinonas.....	32
10	Estructura química de cumarinas.....	33
11	Estructura química de flavonoides.....	34
12	Estructura química de tioles.....	35
13	Pared celular de las bacterias grampositivas.....	42
14	<i>Staphylococcus aureus</i>	43
15	<i>Enterococcus faecalis</i>	44
16	Pared celular de las bacterias gramnegativas.....	45
17	<i>Escherichia coli</i>	45
18	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	46
19	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
20	<i>Candida albicans</i>	52
21	<i>Candida krusei</i>	53

N°	ÍNDICE DE ESQUEMAS	Pág.
1	Procedimiento empleado para la obtención de los extractos de hexano y metanol.....	67
2	Tamizaje fitoquímico de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	68
3	Procedimiento para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos de la raíz de <i>Erythrina edulis</i> , por el método de difusión en agar con disco (Kirby- Baüer).....	72

N°	ÍNDICE DE TABLAS	Pág.
1	Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	60
2	Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antimicrobiana de los extractos de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	61
3	Cepas de referencia internacional de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC).....	73
4	Antibióticos empleados como control positivo para el estudio de la actividad antibacteriana	75
5	Determinación del porcentaje de rendimiento de los extractos de hexano y metanol de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	79
6	Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	81
7	Reporte ilustrado de los resultados del ensayo fitoquímico de los extractos de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	82

N°	ÍNDICE DE TABLA (Continuación)	Pág.
8	Resultados obtenidos en la derterminación de la actividad antibacteriana de los extractos de hexano y metanol de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	85
9	Reporte ilustrado de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de hexano de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	86
10	Reporte ilustrado de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de metanol de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	87
11	Resultados obtenidos en la determinación de la actividad antifúngica de los extractos de hexano y metanol de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	88
12	Reporte ilustrado de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antifúngica de los extracto de hexano y metanol de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	89



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



COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS
EXTRACTOS DE LA RAÍZ DE *Erythrina edulis*
Trabajo de Grado II

Tesistas:

Karelys M. Moros M

C.I. V-26.287.625

Paola A. Vallera V

C.I. V-26.757.422

Tutor: Prof. Julio C. Rojas S

RESUMEN

Erythrina edulis es una especie de Leguminosa perteneciente a la familia Fabaceae. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue confirmar la relación existente entre la composición química y la actividad antimicrobiana de los extractos de la raíz de *E. edulis*. Los extractos fueron obtenidos mediante la técnica en reflujo, empleando como solventes hexano y metanol, a los cuales se les realizó el análisis fitoquímico preliminar cualitativo, mediante tamizaje fitoquímico identificando metabolitos secundarios como: compuestos fenólicos, triterpenos, esteroides y quinonas. Posteriormente, se determinó la actividad antimicrobiana frente a cepas de referencia internacional, a través del método de difusión en agar con disco (Kirby-Bauer). El extracto hexano mostró zonas de inhibición frente a cepas bacterianas y fúngicas: *Klebsiella pneumoniae* 8 mm; *Pseudomonas aureginosa* 7 mm; *Escherichia coli* 7 mm; *Candida albicans* 7 mm y *Candida krusei* 9 mm. Mientras que con el extracto metanol se obtuvo actividad inhibitoria únicamente para las cepas bacterianas *Staphylococcus aureus*; *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas auriginosa* con zonas de inhibición de 7 mm respectivamente.

Palabras claves: *Erythrina edulis*, estudio fitoquímico, actividad antimicrobiana, metabolitos secundarios, cepas.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el incremento de bacterias resistentes y la rápida emergencia de nuevas infecciones han disminuido la intensidad en la eficacia de los antibióticos para tratar patologías causadas por ciertos microorganismos. Esta situación aumenta la urgente necesidad para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos. Diversas estrategias han sugerido para tratar de minimizar este tipo de amenaza; una de ellas es la necesidad de hallar nuevos medicamentos. En respuesta a estas necesidades se ha recurrido a la fitoquímica y a la fitofarmacología, logrando encontrar nuevas moléculas extraídas de plantas (García y Cantón, 2000).

Un antimicrobiano es una sustancia que a bajas concentraciones tiene la capacidad de inhibir o matar microorganismos (bacterias, hongos, parásitos entre otros). El uso de plantas medicinales (medicina tradicional) constituye un reservorio de metabolitos secundarios biológicamente activos tales como: fenoles, terpenos, alcaloides y tioles los cuales les confieren propiedades biológicas como antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, antihipertensivas, entre otras generando una alternativa en el control de diversas enfermedades causadas por bacterias (Barrios,1998).

Las plantas pueden poseer actividad biológica sobre determinados microorganismos y esto va a depender de los compuestos activos que estén presentes en sus extractos. Estos compuestos pueden ser determinados a través del estudio fitoquímico y ellos permitirán observar que actividad biológica presenta la planta (Marcano y Hasegawa, 2002).

En relación a lo anterior, como una alternativa se encuentra la especie *Erythrina edulis* conocida como Chachafruto, siendo un árbol de la familia de

las Fabaceae, es una leguminosa utilizada en comunidades indígenas con fines medicinales. Actualmente, se han aislado diversos metabolitos secundarios, que muestran efectos antimicrobianos, antiinflamatorios entre otros. Son numerosos los estudios acerca de las plantas de la familia Fabaceae y en otras especies de género *Erythrina*, en los cuales se ha evaluado actividades antimicrobianas, antiinflamatoria y antiplasmodial (Jiménez, Márquez, Torres y Pabón, 2016). A partir de diversos extractos de *Erythrina* se han identificado diversos constituyentes fitoquímicos que le confieren alta actividad antibacteriana. Por lo tanto, en esta investigación se realizó el estudio de la especie *Erythrina edulis* (chachafruto) con la finalidad de identificar metabolitos secundarios de importancia que puedan tener efecto antimicrobiano sobre cepas grampositivas, gramnegativas y cepas fúngicas.

Este proyecto de investigación se estructuró de la siguiente manera: El Capítulo I: el problema: Planteamiento del Problema, Justificación, Objetivos, Alcances y Limitaciones. El Capítulo II: Marco Teórico: Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Definición de Términos. El Capítulo III: Marco Metodológico: Tipo de Investigación, Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Sistema de Variables, Procedimientos o Metodología de la Investigación y Diseño de análisis. Capítulo IV: Resultados de la Investigación y Discusión. Capítulo V: Conclusiones y Recomendaciones. Referencias Bibliohemerográficas.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

En el mundo cada vez cobra más importancia el desarrollo de nuevos medicamentos de origen vegetal para el tratamiento de patologías infecciosas en la que sus tratamientos actuales resultan ser muy costosos y con muchos efectos secundarios para sus pacientes, también es importante el estudio de nuevos antioxidantes externos implicados en la prevención y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, cáncer, diabetes etc. Por otro lado, es de vital importancia el desarrollo de nuevos medicamentos con utilidades antimicrobianas debido al aumento de la resistencia de estos microorganismos a los medicamentos actuales (Elmogahzy, 2020).

La resistencia antimicrobiana ha sido reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2015) como una de las mayores amenazas para la salud humana. La advertencia sobre su aumento no es asunto nuevo y representa en la actualidad un desafío terapéutico. Este es un fenómeno biológico natural de respuesta de los microbios a la presión selectiva de un fármaco antimicrobiano, puede ser inherente, lo que explica el fenómeno de infección oportunista o adquirida (Medina, Machado y Machado, 2015).

La actividad antimicrobiana es un término colectivo que engloba los principios activos e inhiben el crecimiento de las bacterias y hongos, previenen la formación de colonias microbianas y pueden destruir microorganismos (Elmogahzy, 2020). El uso indiscriminado de antibióticos

deprime el sistema inmunológico, favorece las reacciones alérgicas, daña diversos órganos y a su vez puede producir resistencia bacteriana creando bacterias multirresistente.

Tal lo mencionan Ramírez y Díaz (2010):

Una de las consecuencias del mal uso de los antibióticos es que ciertos tipos de microorganismos se vuelven resistentes a sus efectos, cuando estos adquieren un mecanismo celular que le permite eliminar, degradar o modificar un medicamento en específico (p.4).

Por ello, la necesidad del hombre por curar enfermedades ha permitido que se continúe haciendo uso de la medicina ancestral por su poder curativo, en la actualidad se reconocen innumerables especies de plantas con fuentes de compuestos biológicamente activos. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud [OMS] (1979) “una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos” (p.2).

La medicina tradicional tiene una larga historia. Es la suma total de los conocimientos, habilidades y prácticas basadas en las teorías, creencias y experiencias indígenas de diferentes culturas, explicables o no, utilizadas en el mantenimiento de la salud, así como en la prevención, diagnóstico, mejora o tratamiento. De enfermedad física y mental. La medicina herbaria o fitoterapia incluye hierbas, materiales, preparaciones y productos herbales terminados, que contienen como ingredientes activos partes de las plantas u otros materiales vegetales o combinaciones (Barrios, 1998).

Es por esto que en los últimos años se ha realizado una serie de seguimientos a estudios sobre las acciones inhibitorias que poseen las

plantas obtenidas a través de sus diferentes extractos tales como flores, semillas, hojas, corteza, frutos y raíces, las cuales le confieren diversas propiedades para uso medicinal o farmacológico, con el fin de producir antimicrobianos naturales como alternativa terapéutica (Hart, 1998).

Es por ello que el interés por el estudio de los extractos vegetales ha aumentado notablemente debido a sus propiedades bactericidas, fungicidas y antioxidantes (Fernández, Silva, Costa, Bruno y Galli, 2019). Cabe destacar que la gran mayoría de especies vegetales presentan metabolitos secundarios, como terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides, siendo fuentes de principios activos de medicamentos y de valiosos productos químicos con aplicaciones farmacéuticas (Hernández, Bastidas, Rodríguez, Acero, Juárez y Rivera, 2018).

Erythrina edulis (chachafruto) es un árbol de la familia de las Fabaceae, se ha descrito como una gran fuente de aminoácidos esenciales, además dentro de la literatura se encuentran descritos metabolitos secundarios en sus semillas, en mayor proporción los alcaloides cuaternarios, seguidos de los alcaloides insolubles en cloroformo, esteroides, terpenos, antraquinonas, taninos y saponinas en sus hojas (Barrios, 1998). Lo que puede conferirle actividad antioxidante y antimicrobiana que podría tener relevancia clínica en el tratamiento de infecciones bacterianas e infecciones micóticas. Estas posibles actividades son las de mayor interés a estudiar en este proyecto.

En este orden de ideas, en farmacología se ha comprobado su potencial como antioxidante, anticancerígena, antimalárica y antibacteriana, entre otros, los cuales están vinculadas a problemas de salud pública que han llamado la atención de entidades como la Organización Mundial de la Salud (OMS), que destina un presupuesto anual para la investigación en estas

bioactividades, como consecuencia de la afectación de una gran cantidad de personas en países en vía de desarrollo (Maisuthisakul, Pasuk y Ritthiruangdej, 2008; Khaomek, Ichino, Ishiyama, Sekiguchi, Namatame, Ruangrunsi y Yamada, 2008; OMS, 2013).

Debido a que surge la resistencia a los antimicrobianos se considera una problemática de interés en temas de salud pública a nivel mundial, es de gran importancia y reto de mayor índole la búsqueda de compuestos con actividad antimicrobiana, por lo cual se plantea el estudio de especies pertenecientes a la biodiversidad venezolana con potencial para el aislamiento de posibles antibióticos y antifúngicos. Una vez descrita la situación actual del problema de estudio se formula la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la composición química de los extractos obtenidos de la raíz de *Erythrina edulis* y la actividad antimicrobiana que presenta frente a cepas de referencia internacional?

Justificación e Importancia de la Investigación

En la actualidad existe gran interés por la medicina tradicional y dentro de esta, la medicina herbaria, que ha generado numerosos estudios, divulgados en prestigiosas publicaciones donde incluso se ha señalado que los componentes de *Erythrina edulis* poseen actividad antimicrobiana y que hay poco uso de medicamentos de origen vegetal por parte de los profesionales de la salud; donde sus tratamientos están basados únicamente en fármacos sintéticos, que conllevan a problemas de salud diagnosticados como enfermedad leve (Cabrera, Fernández y Guerrero, 2005).

El uso indiscriminado de los antibióticos deprime el sistema inmunológico, favorece las reacciones alérgicas, daña diversos órganos y a su vez también puede producir resistencia bacteriana creando bacterias multirresistentes, es por esto que se ha hecho necesario, indagar sobre las acciones inhibitorias que poseen las plantas obtenidas a través de los diversos extractos, con el fin de producir antibióticos naturales como alternativa terapéutica (Cabrera y cols., 2005). Las razones anteriores justificaron por qué se escogió el género *Erythrina*, ya que varias especies han sido estudiadas por su morfología, distribución y composición química las cuales se han descrito con carácter antimicrobiano (Prisco y cols., 2020).

El empleo de fuentes naturales resulta ser una alternativa para el tratamiento de diversas afecciones en el caso de las poblaciones rurales, donde el acceso a los medicamentos farmacológicos se torna restringido, bien sea por razones económicas o por disminución de los efectos tóxicos, que son muy frecuentes en sustancias químicas puras, optando siempre por la medicina herbaria que está a su alcance. Es por ello que se proyecta contribuir de alguna manera con el problema de salud pública que se vive día

a día en el país, debido a la disminución y altos costos de sustancias inhibidoras de microorganismos patógenos, así como, que la información obtenida en la presente investigación genere nuevos conocimientos y a futuro pueda servir de apoyo para las generaciones de relevo (Prisco y cols., 2020).

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación existente entre la composición química y la actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos de la raíz de *Erythrina edulis*.

Objetivos Específicos

- ✓ Obtener los extractos de hexano y metanol de la raíz de *Erythrina edulis* mediante el método de extracción bajo reflujo.
- ✓ Identificar la presencia de la composición química de los extractos de la raíz de *Erythrina edulis* mediante el tamizaje fitoquímico.
- ✓ Determinar la actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos de la raíz de *Erythrina edulis* mediante el método de difusión en agar con disco (Kirby–Baüer).

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la investigación

El aporte que realizó esta investigación es significativo debido a que la actividad antifúngica no se había estudiado anteriormente en trabajos previos y las concentraciones utilizadas servirán de antecedente para futuros trabajos, además, este estudio se llevó a cabo para evaluar la actividad antimicrobiana del extracto de la raíz de *Erythrina edulis* generando una alternativa a la medicina actual frente a la resistencia antimicrobiana.

Limitaciones de la investigación

En el desarrollo de esta investigación se hallaron limitaciones con respecto a los trabajos previos puesto que se encontraron pocos estudios relacionados con la actividad antimicrobiana en esta especie vegetal *Erythrina edulis*. Por otra parte, se encontraron limitaciones en el procedimiento en el momento del secado, ya que la raíz de la especie contiene gran cantidad de agua lo que dificultó el secado y disminuyó la cantidad de los extractos obtenidos. Además, el laboratorio no contaba con el medio de cultivo Müller-Hinton para la evaluación de la actividad antimicrobiana.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Mohammed, Sutramay, Ahmadis, Askani, Jambiga, Dharavath y Taduri (2023). Realizaron un trabajo de investigación titulado: Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de hojas, tallos y raíz de *Erythrina variegata*, cuyo objetivo principal fue evaluar el tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de *Erythrina variegata*. El método utilizado se basó en el tamizaje fitoquímico preliminar y método de Kirby- Baüer. En el análisis fitoquímico se emplearon cinco disolventes tales como; metanol, butanol, cloroformo, etanol y agua destilada, para evaluar la presencia de alcaloides, flavonoides, glicósidos, fenoles, taninos, esteroides/triterpenoides, quinonas y saponinas. Obteniéndose para los extractos de hojas los fitoconstituyentes como alcaloides, glicósidos, flavonoides y fenoles, los cuales se encontraron en mayor concentración en el extracto de butanol, del mismo modo el extracto de etanol mostró la presencia de alcaloides, saponinas y flavonoides en cantidades moderadas.

Por otra parte, los extractos de los tallos, revelaron la presencia de alcaloides y glicósidos para el extracto de butanol, mientras que los extractos de cloroformo y etanol revelaron la presencia de taninos. Igualmente, en el extracto de raíz los fitoconstituyentes alcaloides, glicósidos y flavonoides resultaron ser más abundante en el extracto de butanol. En cuanto a la evaluación de la actividad antibacteriana se utilizó el extracto de butanol debido a que reveló la mayor cantidad de metabolitos secundarios, frente a las cepas bacterianas: *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y

Bacillus sphaericus, a la concentración de 80 µg/mL. En el extracto de butanol de las hojas la máxima actividad antibacteriana se observó frente a *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli* con una zona de inhibición de (20 mm), seguido de *P. vulgaris* con (17 mm), y la menor zona de inhibición la mostró *B. sphaericus* siendo de (15 mm).

Al mismo tiempo en el tallo el extracto de butanol reveló una considerable actividad antibacteriana con una zona inhibitoria de (16 mm) frente a *P. vulgaris* y (15 mm) frente a *E. coli* en contraste con las otras cepas bacterianas ensayadas. Sin embargo, se demostró que *B. sphaericus* tiene una actividad antibacteriana mínima de (13 mm). Por otra parte, el extracto butanólico de la raíz inhibió eficazmente *B. subtilis* con una zona inhibitoria de (20 mm), *E. coli* (16 mm), mientras que la zona de inhibición para *P. vulgaris* y *B. sphaericus* fue de (15 mm) demostrando así la menor acción antibacteriana. En conclusión, *Erythrina variegata* presentó una actividad antibacteriana favorable debido a la presencia de metabolitos secundarios, lo cual resulta útil para la producción de medicamentos que contribuyen para el tratamiento de diversas enfermedades.

Worku (2021), en su trabajo de investigación: Actividad antibacteriana *in vitro* y detección fitoquímica de extractos de hojas de especie de *Erythrina*, tuvo como objetivo principal: examinar el tipo de constituyentes fitoquímicos y actividad antibacteriana presentes en varios extractos de hojas de especies de *Erythrina*. El método que utilizó fue: El análisis fitoquímico cualitativo y método de Kirby-Baüer para el estudio antibacteriano. Obtuvo como resultado en el análisis fitoquímico cualitativo de los extractos de éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo, metanol y agua, la presencia de metabolitos secundarios como: alcaloides, glicósidos, saponinas, fitoesteroles, triterpenos, fenoles, taninos, flavonoides, diterpenos, antraquinonas, cumarinas y esteroides.

En cuanto al estudio de la actividad antibacteriana entre los microorganismos utilizados *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. Observándose que la máxima actividad del extracto de metanol contra *Pseudomonas aeruginosa* a una concentración de 33 mg/mL presento una zona inhibitoria de (33 mm), mientras que la mínima actividad que presento el éter de petróleo frente a *Klebsiella pneumoniae* fue de (12 mm) a una concentración de 30 mg/mL, por otro lado, se evidencia que la máxima actividad del extracto acuoso y el extracto acetato de etilo corresponde a *Bacillus subtilis* con (30 mm) y (24 mm) respectivamente a la concentración de 32 mg/mL.

En tal sentido, el extracto de las hojas de cloroformo de especies de *Erythrina* contra *Klebsiella pneumoniae* a la concentración de 30 mg/mL fue de (27 mm), así mismo inhibió el crecimiento de *Escherichia coli* con un valor de (24 mm) a 30 mg/mL y el extracto acuoso inhibió el crecimiento con un valor de (30 mm) a 32 mg/mL, al igual que el extracto de metanol de las hojas de dicha especie inhibió el crecimiento con un valor de (33 mm) a una concentración de 35 mg/mL, cabe destacar, que los extractos de metanol, acuoso y acetato de etilo exhibieron una actividad antibacteriana mucho mayor contra las bacterias patógenas probadas y presentadas, en comparación con el éter de petróleo y extracto de cloroformo que mostraron menor actividad. En tal sentido, los extractos revelaron que las especies de *Erythrina* contienen metabolitos secundarios con actividad antibacteriana contra bacterias grampositivas y gramnegativas, por lo que esto podría ser una buena fuente de fármacos antibacterianos contra diversos patógenos bacterianos.

Bioltif, Sase y Tongkum (2020), en su trabajo de investigación: Detección fitoquímica y revisión de la importancia farmacológica de *Erythrina senegalensis*. El cual tuvo como objetivo principal: Investigar los fitoquímicos

de la raíz y la importancia farmacológica de la planta. El método empleado fue: Cribado fitoquímico cualitativo. Donde se utilizaron extractos de hexano, acetato de etilo y metanol. Con respecto al rendimiento porcentual de cada uno de los extractos se evidencio, que el extracto de metanol crudo fue de: 4,28 %, siendo el más alto entre los tres extractos con disolventes, seguido del acetato de etilo que arrojó un porcentaje de 3,62 %, mientras que el tercer extracto de hexano mostro el rendimiento porcentual más bajo 2,84 %.

Por otro lado el resultado del análisis fitoquímico preliminar de los tres extractos de la planta reveló que la raíz de *Erythrina senegalesis* contiene alcaloides, flavonoides, esteroides, taninos, fenol, quinonas, saponinas, triterpenos, antraquinonas y xantoproteína. El extracto de hexano demostró que la raíz contiene alcaloides, flavonoides, fenol, quinonas y antraquinonas, pero arrojando resultados negativos para esteroides, taninos, y triterpenos, sin embargo en el caso del acetato de etilo se evidencia que contiene flavonoides, taninos, quinonas, saponinas y antraquinonas, con resultados negativos para alcaloides, triterpenos, esteroides y fenoles, de igual manera el extracto de metanol demostró que la raíz contiene alcaloides, flavonoides, esteroides, taninos, quinonas, triterpenos, antraquinonas y resultado negativo para fenoles y saponinas. En definitiva el cribado preliminar de los extractos de la raíz de *Erythrina senegalensis*, confirmó que dispone de componentes bioactivos, que garantizan un alto potencial medicinal y pueden ser utilizados para el tratamiento de diversas enfermedades.

Chitopoa, Muchachaa y Mangoyi (2019). En su trabajo de investigación: Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de las hojas de *Erythrina abyssinica*, tuvo como objetivo principal: investigar la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Método utilizado: ensayo de difusión en agar con disco (Kirby-Baüer). Las concentraciones fungicidas mínimas para todos los extractos fueron de 500

µg/mL excepto para el de acetato de etilo siendo esta de 250 µg/mL. Mientras que las concentraciones bactericidas mínimas para todos los extractos fueron superiores a 500 µg/mL excepto para el hexano que fue de 31,25 µg/mL. Los resultados revelaron que todos los extractos (Hexano, diclorometano, acetato de etilo) inhibieron ambas cepas.

El extracto de acetato de etilo mostro la mayor zona de inhibición siendo de 25 mm y el diclorometano la menor con 12 mm contra *Candida albicans*. Por otro lado, el extracto hexano presento la mayor zona de inhibición de 23 mm y el diclorometano la menor con 11 mm frente a *Staphylococcus aureus*. Del mismo modo la concentración mínima inhibitoria (CIM) para todos los extractos se determinaron mediante el ensayo de dilución en caldo. Los extractos de hexano y diclorometano fueron los más potentes con concentración mínima inhibitoria (CIM) de 62,5 µg/mL, mientras que el metanol y el acetato de etilo tenían 125 µg/mL frente a *Candida albicans*. Por el contrario los extractos de hexano y diclorometano tuvieron valores de CIM de 15,6 y 31,25 µg/mL. Por lo tanto estos resultados validan científicamente el uso de *Erythrina abyssinica* para tratamiento de diversas dolencias.

Antecedentes Históricos

El género *Erythrina* fue descrito por Carlos Linneo y publicado en *Species Plantarum*. Etiológicamente proviene del griego *Erythros* = rojo, en referencia al color rojo intenso de las flores de algunas especies representativas. Aunque se conoce muy pocas investigaciones para la especie *Erythrina edulis*, de la familia Fabaceae existe una gran serie de investigaciones (Avello y Cisternas, 2010).

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. En épocas en que el hombre solo tenía a su disposición los recursos que el planeta le otorgaba, buscó en estos las herramientas para disminuir el dolor físico y evitar la muerte. Entre los recursos más aprovechados por distintas culturas a través de la historia, se encuentran los recursos minerales, animales y vegetales. Estos constituyeron hasta mediados del siglo XX los recursos terapéuticos por excelencia (Avello y Cisternas, 2010).

Dentro de los reinos de la naturaleza que contribuyen hasta hoy en disminuir síntomas y prevenir enfermedades, destaca el reino vegetal. Las plantas, gracias a su maravilloso y complejo metabolismo, contribuyen un verdadero arsenal químico. Siendo así como cada región del mundo desarrollo su forma de curar a partir de plantas medicinales (Avello y Cisternas, 2010). Cabe destacar que la acción de las plantas indica la manera en que interactúa con la fisiología humana. En algunos casos dicha acción se debe a la presencia de determinadas sustancias químicas que se encuentran en sus estructuras, por lo que tiene un impacto directo sobre la actividad fisiológica. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar sus

experiencias en el empleo de los productos que de ellas se extraen, para la cura de múltiples afecciones (Pascual, Pérez, Morales, castellano y Gonzales, 2014).

Son numerosos los estudios acerca de las plantas de la familia Fabaceae y en otras especies de género *Erythrina*, en los cuales se ha evaluado actividades antimicrobianas, antiinflamatoria y antiplasmodial (Jiménez y cols., 2016). A partir de los extractos de *Erythrina variega* se han identificado diversos constituyentes fitoquímicos que le confieren alta actividad antibacteriana. Por lo tanto, los extractos de *E. variega* podrían ser recomendados como fuente de materiales farmacéuticos y tradicionales necesarios para la preparación de agentes antibacterianos (Preeti, Subhankar y Chadrawati, 2017). Además, se han reportado en diferentes especies de *Erythrina* diversos metabolitos secundarios, principalmente compuestos fenólicos, terpenoides, antraquinonas, alcaloides y flavonoides con actividad antibacteriana y antifúngica (Bil, Lilechi, Mutai y Oguyo, 2012).

Bases Teóricas

Generalidades de la familia Fabaceae

Taxonomía de la familia Fabaceae

Nombre científico: Fabaceae

Clase: Eudicotyledoneae

Reino: Plantae

Clasificación superior: Fabales

División: Angiospermae

(Watson y Dallwitz, 2007)

Figura 1. Fabaceae
herbácea: *Vicia sativa*



Tomado y modificado de
Botanical Garden

La familia Fabaceae es la tercera más diversa del mundo, la segunda más importante a nivel económico, una de las principales fuentes de alimentos mader, miel, resina, forraje y compuestos químicos. Adicionalmente, es una de las más importantes a nivel ecológico por su papel en la fijación de nitrógeno. (Figura 1) (Bruneau, 1997).

Según Lewis, Schrire, Mackinder y Lock, para el año 2005, las Fabaceae contaban con alrededor de 727 géneros y 19500 especies distribuidas en tres subfamilias (Faboideae, Caesalpinioideae y Mimosoideae); sin embargo, para el año 2017 estas cifras aumentaron a 946 géneros y 24505 especies (The Plant List) distribuidas en seis subfamilias (Papilionoideae, Cercidoideae, Caesalpinioideae, Detarioideae, Duparquetioideae, Dialioideae) de acuerdo con los estudios filogenéticos realizados por Phylogeny and classification of the Leguminosae (LPWG, 2017).

En general, esta familia presenta un amplio rango de distribución (cosmopolita); se caracteriza por su fruto en legumbre, un fruto dehiscente seco producto de un ovario simple, el cual difiere de un folículo por la dehiscencia en sus dos suturas en vez de una (Krukoff, 1939).

Desde la antigüedad, las Fabaceae han jugado un papel importante en la alimentación humana, siendo las especies de género *Erythrina* la subfamilia Papilinoideae las más relevantes en la canasta familiar por el aporte nutricional y proteico que ofrecen sus frutos; además, estas son de fácil acceso, resistentes a condiciones ambientales adversas y de bajo valor económico, características que las incluyen en planes de seguridad alimentaria en el ámbito mundial (Krukoff, 1939).

Su relevancia es tal, que el 2016 fue considerado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) el año de las legumbres, como una forma de resaltar la importancia de estas especies vegetales en las que se incluyen las Fabaceae que son cosechadas para grano seco y de las cuales se conoce su participación en la alimentación humana. En lo que respecta a su valor nutricional, existen muchos aspectos que son de interés, tales como su aporte de proteína y de aminoácidos como la lisina (escasa en cereales); además, de micronutrientes como selenio, zinc, hierro; se encuentran también vitaminas A y E, niacina, riboflavina, ácido fólico, piridoxina y aunque el aporte de grasas es bajo, son fuente de ácidos grasos mono y poliinsaturados que no aportan colesterol (Krukoff, 1939).

Aspectos botánicos de la Familia Fabaceae

Reúne árboles, arbustos y hierbas perennes, fácilmente reconocibles por su fruto tipo legumbre y sus hojas compuestas. Son plantas herbáceas, trepadoras, arbóreas o arbustivas, anuales o perennes. Hojas muy variadas, simples o compuestas; estas últimas trifoliadas, pinnadas o digitadas. En ocasiones reducidas a zarcillos, transformadas en espinas o ausentes. Con frecuencia presentan estípulas (Watson y Dallwitz, 2007).

Flores hermafroditas, normalmente muy vistosas, adaptadas a la polinización por insectos. Corola con 5 pétalos libres; 1 superior muy desarrollado, denominado estandarte o vexillo, 2 laterales o alas y 2 inferiores que pueden estar soldados y forman la quilla o carena. Este tipo de corola se denomina papilionácea, por su forma amariposada. Cáliz con 5 sépalos más o menos soldados, en ocasiones bilabiado. Tienen 10 estambres libres o unidos por los filamentos en uno (monadelfos) o dos haces (diadelfos: 9 + 1).

Gineceo súpero con 1 carpelo con numerosos óvulos. Las flores pueden ser solitarias o agruparse en racimos (erectos o péndulos) o glomérulos (Watson y Dallwitz, 2007).

Fruto tipo legumbre, (cacahuete: *Arachis hypogea*) o nuez (*Onobrychis viciifolia*). Pueden presentar estructuras en superficie para facilitar su dispersión por los animales como algunos *Medicago*. Semillas arriñonadas, con testa gruesa y dos cotiledones con alto contenido en proteínas. Hilo muy visible, próximo al micropilo (Watson y Dallwitz, 2007).

La fijación de nitrógeno atmosférico mediante bacterias simbiotes (*Allorhizobium*, *Rhizobium*, etc.) presentes en nódulos radicales es una característica que presentan muchas Fabaceae (Watson y Dallwitz, 2007).

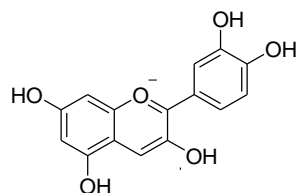
Distribución geográfica de la Familia Fabaceae

Es una familia de distribución cosmopolita. Los árboles son más frecuentes en las regiones tropicales, mientras que las hierbas y los arbustos dominan en las extratropicales (Watson y Dallwitz, 2007).

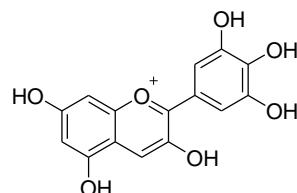
Compuestos Químicos Presentes de la Familia Fabaceae

Las Fabaceae raramente son cianogénicas, en ese caso, los compuestos cianogénicos derivan de la tirosina, la fenilalanina o de la leucina. Comúnmente presentan flavonoides. Las protoantocianidinas pueden estar presentes son cianidina (1), delphinidina (2) o ambas a la vez. Así como, se encuentra kaempferol (3), quercetina (4) y miricetina. (Figura 2) El ácido elágico se halla ausente en todos los géneros y especies analizadas de las tres subfamilias, (Watson y Dallwitz, 2007).

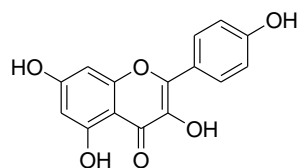
Figura 2. Composición química de la Familia Fabaceae



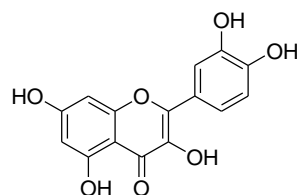
Cianidina (1)



Delfinidina (2)



Kaempferol (3)



Quercetina (4)

Tomado y modificado de Watson y Dallwitz, 2007.

Usos Etnobotánicos y Actividad Farmacológica de la Familia Fabaceae

Aparato reproductor y salud sexual: Menstruación, fertilidad, enfermedades venéreas, próstata, impotencia, menopausia, afrodisíacos, contraceptivos. Embarazo, parto y puerperio: Gestación, hemorragias, parto, posparto, lactancia, abortivo. Enfermedades y trastornos culturales: Dolencias o trastornos de origen mágico-religioso que se reconocen en una determinada cultura, por ejemplo: susto, mal de aire, mal de ojo (Castañeda, Gutiérrez, Carrillo, Sotelo, 2017).

Infecciones e infestaciones: Antihelmíntico, piojos, pulgas, sarna. Neoplasias: Cualquier tipo de cáncer. Piel y tejido subcutáneo: Acné, forúnculos, eczemas, quemaduras, extracción de espinas clavadas en la piel.

Salud dental: Caries, dolor de muelas, higiene bucal, dentición. Sangre y sistema circulatorio: Anemia, problemas y dolencias cardiovasculares, gangrena, enfermedades cardíacas, varices, hipertensión, hipotensión, hemorroides (Castañeda y cols., 2017).

Síntomas sin especificar y enfermedades generales: dolencias generales, como dolor de cuerpo, malestar general, debilidad, dolor de cabeza, fiebre, entre otros. Sistema digestivo: Carminativo, cólicos, flatulencia, emético, indigestión, purgante, úlceras gástricas o intestinales, diarrea, laxante, desórdenes del hígado, la vesícula y hepatitis. Sistema músculo-esquelético: Reumatismo, torceduras, fracturas, golpes, lumbalgia y hernias. Sistema respiratorio: Gripe, resfriado, afonía, bronquitis, pulmonía, expectorante y tos. Sistema sensorial: Infecciones de los ojos, cataratas, pérdida de visión u olfato, sordera y otitis. Sistema urinario: Diurético, cálculos renales, incontinencia urinaria, infecciones urinarias y cistitis (Castañeda, Gutiérrez, Carrillo y Sotelo, 2017).

Generalidades del género *Erythrina*

Taxonomía del género *Erythrina*

Phylum: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Papilinoideae

Género: *Erythrina*

Figura 3. Género *Erythrina corallodendron* L.



Tomado y modificado de Botanical Garden.

La especie es un árbol que puede llegar a medir hasta 10 a 14 metros, con un follaje amplio, con ramas o tallos espinosos, sus flores son inflorescencias que tienen 2 o 3 racimos, con muchas flores de color rojo anaranjado, además presentan vainas de 15 a 60 cm de largo, con semillas en su interior de aspecto como un frijol que pueden ser de color pardo, amarillo o rojo, estas semillas tienen un alto contenido en proteínas con un 23 % y aminoácidos esenciales Barrera. La planta presenta un sistema de raíces prominente con una raíz principal bien desarrollada. Junto a esta emergen numerosas raicillas secundarias que le sirven de órgano de absorción de agua y nutrientes. El tallo principal es leñoso y al igual que las ramificaciones secundarias presentan espinas. (Figura 3) (Barrera, 1998).

Aspectos Botánicos del género *Erythrina*

Dentro de esta gran diversidad de especies de la subfamilia Papilinoideae (≈ 14000), se destacan las pertenecientes al género *Erythrina* (LPWG, 2017), el cual fue caracterizado por Carl Linneo en 1753, quien describió la especie *Erythrina corallodendron* (especie tipo), considerando específicamente la forma de los verticilos de la flor (cáliz, estandarte, alas y quilla); no obstante, otros autores como Candolle y Endlicher, tuvieron en cuenta otros caracteres taxonómicos entre los que se destacan el tamaño y forma del tallo, la disposición de la inflorescencia, la forma del estandarte y la legumbre, como caracteres diferenciales intraespecíficos (LPWG, 2017).

Distribución Geográfica del género *Erythrina*

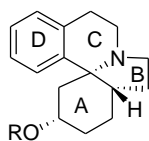
Este género presenta una distribución tropical y subtropical con especies en el viejo y en el nuevo mundo, con alrededor de 70 en América, 31 en África, 12 en Asia y Oceanía. Presenta una amplia variedad de hábitats (bosque tropical lluvioso, desiertos subtropicales muy áridos hasta bosques montanos superiores a 3000 m.s.n.m); está conformado por 115 especies, la mayoría árboles, arbustos y unas pocas hierbas perennes con raíces leñosas (LPWG, 2017).

Esta amplia distribución ha permitido que a través del tiempo las diferentes culturas interactuaran con las especies de este género, lo cual se ve reflejado en los numerosos usos tradicionales que se le otorgan tanto a la planta completa como a sus partes (LPWG, 2017).

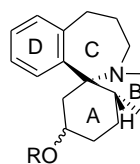
Compuestos químicos presentes del género *Erythrina*

Se han identificados los siguientes metabolitos secundarios en el género *Erythrina* flavonoides, isoflavonoides, antocianinas, lectinas, pterocarpanos y alcaloides como eritrinano (5) y homoeitrinano (6) Epieritratidina (7) Oxoerisodina (8). (Figura 4) (Soto y cols., 2012)

Figura 4. Composición química del género *Erythrina*

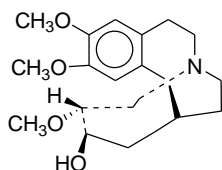


Eritrinano (5)

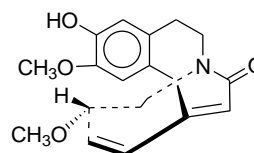


Homoeitrinano (6)

Tomado y modificado de Soto y cols., 2012.



Epieritratidina (7)



Oxoerisodina (8)

Tomado y modificado de Calle y cols., 1997

Usos Etnobotánicos y Actividad Farmacológica del género *Erythrina*

Han mostrado actividad contra patógenos como: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Porphyromonas gingivalis* y *Candida albicans*, asociadas a enfermedades periodontales e infecciones de piel, principalmente (LPWG, 2017).

En el caso de los extractos de etanol obtenidos de la corteza de *E. velutina*, se evidencia actividad frente a *Streptococcus pyogenes*; sin embargo, al evaluar la actividad frente a *S. aureus* no existe una consistencia entre los reportes, lo cual puede estar asociado al tipo de cepas y a las condiciones de ensayo (LPWG, 2017).

Adicionalmente, extractos metanólicos de tallo de *E. variegata* han mostrado actividad frente a cepas como: *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* y *Bacillus circulans*, que se relacionan con enfermedades sistémicas. Otros compuestos, como flavonoides y taninos, aislados de la corteza y el tallo de *E. velutina* y *E. fusca*, respectivamente, también mostraron actividad frente a cepas como *S. aureus*, razón por la cual se reportan como antibacterianos (LPWG, 2017).

Las acciones biológicas estudiadas experimentalmente con mayor frecuencia son: actividad antibacteriana (31 %), efecto citotóxico (9 %), actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética (7 %), antifúngica (5 %), entre otras. Los órganos más utilizados en los ensayos fueron la corteza, las hojas, corteza de la raíz, raíz y semillas, con un por ciento de mención de 24, 23, 10, 7 y 5, respectivamente (Pino, Prieto, Pérez y Molina, 2004).

Generalidades de la especie *Erythrina edulis*

Taxonomía de la especie *Erythrina edulis*

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Fabales
Familia:	Fabaceae
Subfamilia:	Faboideae
Tribu:	Phaseoleae
Género:	<i>Erythrina</i>
Especie:	<i>Erythrina edulis</i>

Figura 5. *Erythrina edulis*



Tomado y modificado de Botanical Garden.

Aspectos botánicos de la especie *Erythrina edulis*

Es un árbol con ramas espinosas, pubescentes, que alcanza hasta 14 m de altura; 7 m de diámetro de follaje y 40 cm de diámetro del tronco. Hojas alternas pinnadas con tres folíolos, el terminal más grande que los laterales, caducas en las ramas en floración. Inflorescencias con 2 o 3 racimos terminales o axilares largamente pedunculados de 30-45 cm de longitud, soportando muchas flores rojo anaranjadas. Vainas marrón oscuras subleñosas de 8 a 30 cm de largo, con constricciones poco profundas. (Figura 5) (Inciarte, Pérez, Hernández, Sandoval, Luna, Márquez y Páez, 2015).

Distribución geográfica de la especie *Erythrina edulis*

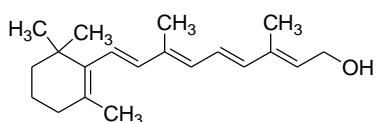
Tiene un área de dispersión que comprende desde la cordillera de Mérida- Venezuela, hasta la frontera Bolivia-Argentina, Colombia, Ecuador y

Perú. Prospera en un piso altitudinal que está entre los 1200 y los 2600 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m) y requiere entre 1500 a 2000 milímetros de lluvia al año. Sin embargo, se ha documentado su existe en pisos aún más bajos, específicamente en la cordillera de la costa en Venezuela. A si mismo se cuenta cerca de 100 especies propias de américa tropical, representando en Venezuela por unas 8 especies, ampliamente distribuidas en el país (Inciarte y cols., 2015).

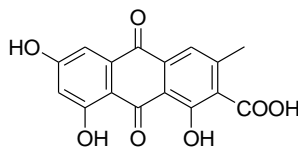
Compuestos Químicos Presentes de la especie *Erythrina edulis*

Erythrina edulis, dentro de la literatura se describe que cuenta con una serie de metabolitos secundarios en sus semillas. Están en mayor proporción los alcaloides cuaternarios, seguidos de los alcaloides insolubles en cloroformos, esteroides y retinol (9); en cambio en las hojas se encuentran en mayor proporción antraquinonas (10), taninos (11), saponinas y de ultimo los alcaloides cuaternarios. (Figura 6) (Prisco, Reyes, valencia, Vesga, 2020).

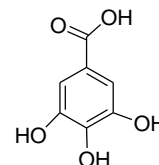
Figura 6. Compuestos Químicos de la especie *Erythrina edulis*



Retinol (9)



Antraquinona (10)



Tanino (11)

Tomado y modificado de Prisco y cols., 2020.

Usos Etnobotánicos y Actividad Farmacológica de la especie *Erythrina edulis*

Cabe destacar que diversas investigaciones han demostrado actividad biológica como antioxidante y antimicrobiana a partir de los extractos obtenidos de varias especies del género *Erythrina*. Además, se cultiva especialmente para la alimentación, ya que se obtiene un frijol gigante que reporta el 23 % de proteínas. Es apto para el manejo industrial en la producción de harinas, fritos, dulces, encurtidos, potajes y concentrados (Villafuerte, Perez, Mahfou, Valero, Enriquez, y Yanez, 2018).

Representa una fuente importante de alimento para los seres humanos y animales en ciertas regiones del continente americano; ya que sus hojas, vainas y semillas tienen un alto valor nutritivo. Entre las diferentes partes de la planta, las semillas destacan por su valor culinario dado su alto contenido proteico, entre otros valores nutritivos y sabor especialmente agradable al paladar humano. Aunque son muy pocos los estudios reportados sobre las propiedades terapéuticas, el saber popular de algunas comunidades y algunos autores lo consideran una alternativa medicinal (Villafuerte y cols., 2018).

Productos Naturales

Los productos naturales, son compuestos químicos de estructura relativamente compleja y distribución restringida. Actualmente estos productos son utilizados por sus posibilidades directas como agentes terapéuticos y para el descubrimiento de fármacos. Además, pueden servir como modelos para la preparación de sustancias bioactivas, como materia

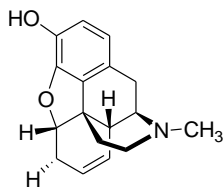
prima para la síntesis de *sustancias* de interés farmacológico o interés industrial (Bruneton, 2001).

Los compuestos presentes en una planta pueden ser muy diversos, pero para su análisis fitoquímico se agrupan en alcaloides, fenoles, taninos, cumarinas, diterpenos, compuestos alifáticos, aromáticos y quinonas, entre otros. A continuación, se describen algunos de ellos:

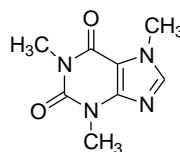
Alcaloides

Son bases orgánicas que se aíslan principalmente de las plantas superiores y se han encontrado en más de 100 familias de Fanerógamas, en menor proporción en Criptógamas (licopodios), microorganismos y animales. Algunos se han manifestado como altamente tóxicos y otros en dosis apropiadas son drogas comúnmente usadas en medicina como la Morfina. Estos compuestos son casi siempre incoloros, sólidos cristalinos (los alcaloides de tabaco son líquidos), ópticamente activos, generalmente levorrotatorios (cinconina y laudanosina son desxtorrotatorios) y el nitrógeno, caso siempre forma parte de uno o varios ciclos. La variedad estructural es muy grande, tanto en su esqueleto carbonado como en el tipo y número de sustituyentes. Ejemplos: Morfina (12), cafeína (13). (Figura 7) (Marcano y Hasegawa, 2002).

Figura 7. Estructura química de alcaloides



Morfina (12)



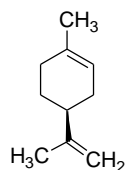
Cafeína (13)

Tomado modificado de Marcano y Hasegawa, 2002.

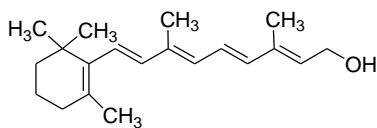
Terpenos

Los terpenos forman la familia más grande de los productos naturales, existe una subclase en donde se encuentran los carotenoides, fitoesteroides, capsaicina y sapononas, los cuales son de importancia en el sistema inmunológico, reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y favorecen la producción de endorfinas. Su estructura base está formada por unidades isoprenicas triterpenoides y esteroides. Ejemplos: Limoneno (14), retinol (9), mentol (15). (Figura 8). Las plantas utilizan los terpenoides para funciones básicas como el crecimiento y el desarrollo, pero usan la mayoría de los terpenoides para interacciones químicas más especializadas y la protección en el medio biótico y abiótico (Sánchez, 2022).

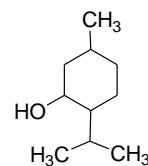
Figura 8. Estructura química de Terpenos



Limoneno (14)



Retinol (9)



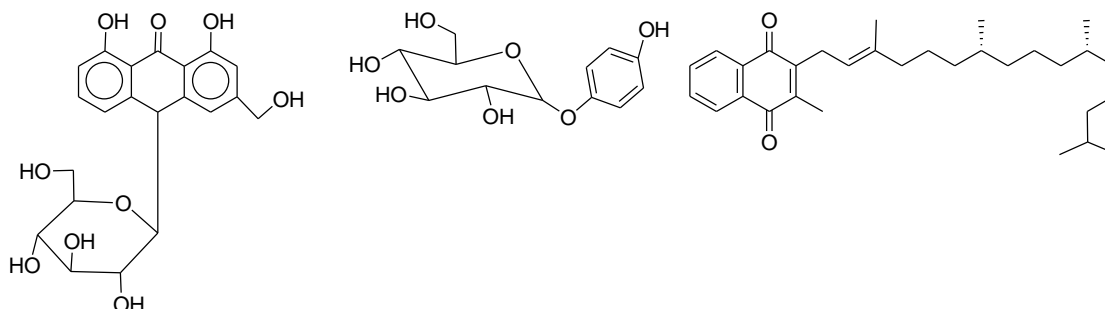
Mentol (15)

Tomado y modificado de Sánchez, 2022.

Quinonas

Son dicetonas cíclicas insaturadas que por su reducción se convierten en polifenoles, siendo reversibles esta reacción, son comunes en plantas, en vegetales, hongos y bacterias. Derivan su nombre de la *p*-benzoquinona como producto de oxidación. Se clasifican en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas y fenantraquinonas, dependiendo de los anillos aromáticos que posean ejemplos: aloína (16), arbutina (17), fitomenadiona (18). (Figura 9) (Sánchez, 2022).

Figura 9. Estructura química de Quinonas



Aloína (16)

Arbutina (17)

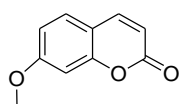
Fitomenadiona (18)

Tomado y modificado de Sánchez, 2022.

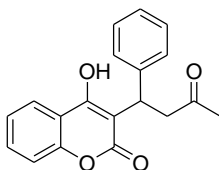
Cumarinas

Son una familia de fitoquímicos y se biosintetizan en las plantas por la ruta fenilpropanoide. Estos compuestos son derivados de la benzo- α -pirona, como la cumarina, la esculetina y la escopoletina. Las cumarinas son sólidos cristalizables, se puede ver en su estructura química un anillo un anillo bencénico unido a una piran-2-ona. Ejemplos: herniarina (19), warfarina (20), dicumarol (21). (Figura 10) (Sánchez, 2022).

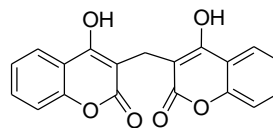
Figura 10. Estructura química de cumarinas



Herniarina (19)



Warfarina (20)



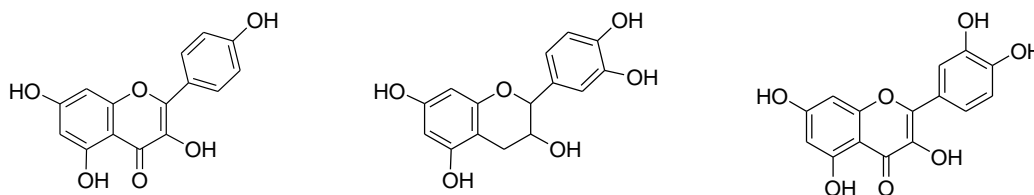
Dicumarol (21)

Tomado y modificado de Sánchez, 2022.

Flavonoides

Su esqueleto carbonado contiene 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos, estos se clasifican en función del grado de oxidación del puente de tres carbonos, siendo las principales las antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas (Ávalos y Pérez, 2009). Los flavonoides sin ser metabolitos primarios se encuentran casi en cualquier vegetal superior, hay más de 8000 compuestos conocidos de plantas vasculares, mientras que, en los vegetales inferiores, algas, hongos y bacterias, los compuestos fenólicos principales son quinonas, xantonas y a estos deben su color. La función de los flavonoides en las plantas son varias, puesto que se consideran antioxidantes, secuestradores de radicales libres, agentes antimicrobiales, antinutricionales, fotoreceptores, protectores contra la luz UV, agentes quelantes de metales, atractores visuales para los insectos, entre otros. Ejemplos: kaempfenol (3), catequina (22), quercetina (4). (Figura 11) (Marcano y Hasewaga, 2002).

Figura 11. Estructura química de Flavonoides.



Kaempferol (3)

Catequina (22)

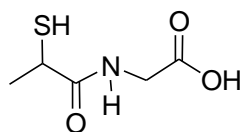
Quercetina (4)

Tomado y modificado de Marcano y Hasewaga, 2002.

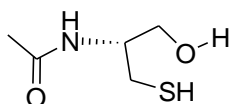
Tioles

En química orgánica, un tiol es un compuesto que contiene el grupo funcional formado por un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno (SH). Siendo el azufre análogo de un grupo hidroxilo (-OH), este grupo funcional es llamado grupo tiol o grupo sulfhidrilo. Los tioles son el análogo azufrado de los alcoholes (es decir, el azufre ocupa el lugar del oxígeno en el grupo hidroxilo (-OH) de un alcohol), y la palabra es una mezcla de "tio" con "alcohol". Muchos tioles tienen un fuerte olor que recuerda al del ajo o al de los huevos podridos. Los tioles se utilizan como odorantes para ayudar en la detección de gas natural (que en estado puro es inodoro), y el "olor a gas natural" se debe al olor del tiol utilizado como odorante. Ejemplos: tiopronina (23), N-Acetilcisteína (24), D-Penicilamina (25). (Figura 12) (Marcano y Hasewaga, 2002).

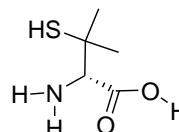
Figura 12. Estructuras químicas de tioles



Tiopronina (23)



N-Acetilcisteína (24)



D-Penicilamina (25)

Tomado y modificado de Marcano y Hasewaga, 2002.

Extractos vegetales

Los extractos vegetales son mezclas complejas de metabolitos secundarios, que cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos y propiedades biológicas. Los mismos son preparaciones de consistencia líquida (extractos fluidos y tinturas), semisólida (extractos blandos o densos) o sólida (extractos secos), obtenidos a partir de drogas vegetales o tejidos animales en estado generalmente seco (Domínguez, 1979).

Métodos de obtención de Extractos

Extracción por Reflujo

Este proceso, el material vegetal fragmentado disuelto en un solvente convenientemente escogido, se somete a ebullición. Debido a que un calentamiento prolongado de la solución podría conducir a la evaporación total del disolvente, se utiliza un equipo de reflujo que consta de un balón de destilación (que contiene el material a extraer más el disolvente) y un refrigerante. La temperatura elevada del disolvente permite una mejor

extracción de los componentes deseados, ya que la solubilidad de la mayoría de las sustancias aumenta con la temperatura. Este método presenta el inconveniente de que muchos compuestos termolábiles, se alteran o descomponen a la temperatura de ebullición del disolvente (Lamarmaque, Zygadlo, Labucas, López, Torres y Maestri, 2008).

Percolación

Este es el procedimiento más utilizado para la extracción de principios activos en la preparación de tinturas y extractos fluidos. Generalmente la planta se coloca en la parte superior de un percolador y está en contacto permanente con el disolvente que gotea por la parte inferior. Se añade más disolvente por la parte superior del percolador para comenzar la cantidad de líquido que sale (Lamarmaque y cols., 2008).

Maceración

Este método de extracción sólido- líquido donde el material vegetal que se pretende extraer contiene compuestos solubles en el líquido de extracción. Para realizar este proceso el material vegetal se corta en pequeños trozos o molido, fresco o seco se coloca en recipientes adecuados, añadiendo el solvente seleccionado por polaridad: hexano (o éter de petróleo), cloroformo y finalmente metanol o etanol en reposo o en un equipo con agitación continua, a temperatura ambiente durante un tiempo indicado (3 a 7 días aproximadamente), hasta que el material soluble se disuelva. Otra opción es obtenerlo en una forma directa agregando una mezcla de solventes: metanol, cloroformo: hexano en la proporción 7:2:1, obteniendo un extracto en forma directa (García, Rivas y Verde, 2016).

Decocción

Llamada también cocimiento, este procedimiento consiste en llevar el material vegetal con el disuelven o con agua a la temperatura de ebullición del agua, manteniendo esta temperatura durante un período variable que suele oscilar de 15 a 30 minutos (Lamarmaque y cols., 2008).

Infusión

Se vierte el agua hirviendo sobre la planta colocada en un recipiente de cierre bien ajustado, a fin de evitar pedida de principios activos y se deja en reposo de 5 a 15 minutos. Luego se agrega el resto de agua hirviendo y se deja reposar por 30 minutos. Es preparación al igual que la decocción debe ser preparada ser refrigerada, ya que se conserva por pocos días; a menos que se congele o se agregue algún conservante. Se emplea para drogas de tejidos delicados, fácilmente penetrables (Lamarmaque y cols., 2008).

Bioactividad de fitoquímicos

Los fitoquímicos son sustancias biológicamente activas que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas o en sus partes como metabolitos secundarios y su estudio permite conocer su principio activo. Estas sustancias actúan como sistema de defensa y protegen a las plantas de infecciones dándoles color, aroma y propiedades particulares. La bioactividad de los fitoquímicos se centra en estudiar a las plantas y obtener beneficios ya sea para los tratamientos de enfermedades o terapias. Cabe mencionar que entre la actividad biológica que poseen ciertas plantas, se encuentran la actividad antioxidante y antibacteriana, estas contribuyen con la reactivación

de funciones o procesos orgánicos alterados (Gasaly, Gotteland y Riveros, 2020).

Los fitoquímicos se agrupan en clases de acuerdo a sus características y funciones principales como terpenos, fenoles y tioles; dentro de los terpenos existe una subclase donde se encuentran los carotenoides, fitoesteroles, capsaicina saponinas, estos son importantes en el sistema inmunológico, reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, favorecen a la producción de endorfinas, provocan efectos analgésico, antiinflamatorio, expectorante, antiviral, citotóxico y protector contra cáncer de estómago e intestino (Gasaly y cols., 2020).

Por otra parte, se encuentran los fenoles que a su vez se dividen en una subclase donde se incluyen los lignanos, isoflavonas, flavonoides, antocianina, catequinas y taninos, estos compuestos poseen diferentes funciones como disminuir el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares, previenen el cáncer de mama, endometrio y próstata, también previene la degeneración de la células de varios órganos, así mismo poseen propiedades antiartríticas, antiinflamatorias, antiulcéricas, antiagregantes, inmunoestimulantes o hepatoprotectoras, antidiarreicas y vasoconstrictoras. Por último, se ubican los tioles los cuales son un grupo de fitoquímicos que comprende los compuestos organosulfurados, en los cuales su función se relaciona con una menor incidencia de cáncer, especialmente de pulmón, estómago, colon y recto, también parecen prevenir la activación de carcinógenos intestino (Gasaly y cols., 2020).

Análisis Fitoquímico

Para determinar la presencia de ciertos grupos químicos en una planta se efectúan una serie de pruebas, que dependiendo de las características estructurales y de solubilidad permiten la identificación de los mismos (Domínguez, 1979). Entre estas pruebas se encuentran:

Determinación de Alcaloides: se lleva a cabo mediante la prueba de Dragendorff, Wagner y Mayer y se fundamenta en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal de combinarse con el yodo y metales pesados formando precipitados (Domínguez, 1979). Con el reactivo de Dragendorff los alcaloides se detectan por la formación de un precipitado naranja rojizo cuando se le adiciona el reactivo a una solución ácida de alcaloides; este precipitado es un compuesto formado por tres moléculas de alcaloides en coordinación electrostática con el bismuto del reactivo de Dragendorff. En cuanto al ensayo de Wagner, parte del iodo-ioduro de potasio reacciona con el alcaloide para formar el ioduro doble de alcaloide que produce un precipitado color café que indica la positividad de la prueba. En el ensayo de Mayer el reactivo usado es el Mercurio tetrayodado potásico y se observa un precipitado blanco-amarillento (Domínguez, 1979).

Determinación de Flavonoides: mediante la prueba de Shinoda se puede reconocer la presencia de flavonoides en un extracto vegetal, puesto que estos al ser tratados con magnesio (Mg) y ácido clorhídrico (HCl) dan complejos coloreados que dependen de la estructura del flavonoide presente. El Mg metálico es oxidado por el HCl dando como productos al hidrogeno molecular (H_2) que es eliminado en forma de gas y al cloruro de magnesio ($MgCl_2$) que es el que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características: anaranjado para flavonas, rojo para dihidroflavonas, rojo azulado para flavonoles y violeta para dihidroflavonoles

y xantonas. Todos los flavonoides dan positivos a esta reacción excepto chalconas, auronas e insoflavonas (Domínguez, 1979).

Determinación de Triterpenos: mediante la prueba de Liebermann-Buchard, es posible reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides, esta prueba utiliza una mezcla compuesta de ácido sulfúrico y anhídrido acético que produce sustancias cromóforas con el ciclopentano perhidrofenantreno, por el incremento de los dos dobles enlaces conjugados formados por la deshidratación e isomerizaciones en los terpenos y esteroides. Se considera positiva la prueba cuando aparecen coloraciones rojo o verde (Domínguez, 1979).

Determinación de Fenoles: el ensayo de cloruro férrico permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. Los fenoles dan prueba positiva en presencia de una solución de FeCl_3 , al cambiar el color de está que es amarillo-naranja a verde, violeta o pardo. El ion cloruro ataca al hidrogeno provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenóxido al hierro provocando una precipitación (Marcano y Hasewaga, 2002).

Determinación de Saponinas: mediante el ensayo de espuma se puede reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpenicas. La característica estructural de estos compuestos les confiere un carácter anfótero que les permite actuar como tensoactivos y formar espuma que es estable por lo menos 30 minutos (Domínguez, 1979).

Determinación de Taninos: se realiza por medio de la prueba de la gelatina al 1 % ya que estos son polifenoles que tienen la propiedad de unirse a las proteínas y precipitarlas, su presencia se observa por la aparición de un precipitado blanco (Domínguez, 1979).

Determinación de Quinonas: mediante la prueba de H_2SO_4 ; las quinonas son dicetonas insaturadas que por reducción se convierten en polifenoles los cuales fácilmente las regeneran por oxidación. Esta reacción da como resultado una coloración de amarilla a roja (Domínguez, 1979).

Determinación de Cumarinas: se realiza mediante la prueba de NH_4OH (Hidróxido de amonio concentrado) y se basa en la apertura y solubilización en medio básico, se caracteriza por su intensa absorción en la región ultravioleta del espectro, las cuales al ser examinadas a la luz ultravioleta presentan una coloración exaltada en presencia de amoniaco (Domínguez, 1979).

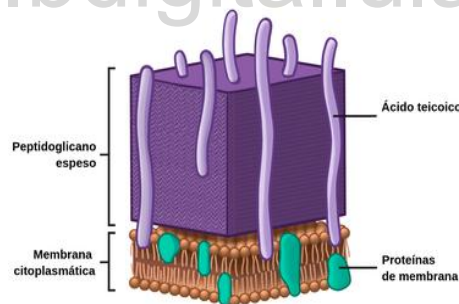
Generalidades de las bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares que pertenecen al grupo de los procariontes, se reproducen por fisión binaria, la mayoría son de vida libre a excepción de unas que son de vida intracelular obligadas como *Chlamydias* y *Reckettsias*. Poseen los mecanismos productores de energía y el material genético necesario para su desarrollo y crecimiento. Presentan una gran diversidad de formas conocidas como filamentos, cocos, bacilos, vibrios y espirilos. De este modo una bacteria esférica u ovalada se denomina coco, tienen un diámetro aproximadamente de 0,5 a 2 μ . Asimismo, los que presentan forma de bastoncillo se denominan bacilos, pueden ser pequeños y pleomorfos miden por lo general entre 1 a 10 μ de largo. Algunas bacterias forman agregados, como los acúmulos arracimados y los diplococos. (Sánchez, Gonzales, Ayola, Martínez y Pacheco, 2017; Murray, Rosenthal y Pfaller, 2007).

Bacterias grampositivas

Las bacterias grampositivas poseen una pared celular gruesa que consta de varias capas y está formada principalmente por peptidoglucano que rodea la membrana citoplasmática. El peptidoglucano es un exoesqueleto en forma de malla, esta característica lo hace lo suficientemente poroso como para permitir la difusión de los metabolitos a la membrana plasmática. En efecto, el peptidoglucano es un elemento clave para la estructura, replicación y la supervivencia de las células en condiciones normales hostiles en las que proliferan bacterias. Por otro lado, las grampositivas pueden presentar otros componentes, como el ácido teicoico, lipoteicoico y polisacáridos complejos. (Figura 13) (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2007).

Figura 13. Pared celular de las bacterias grampositivas



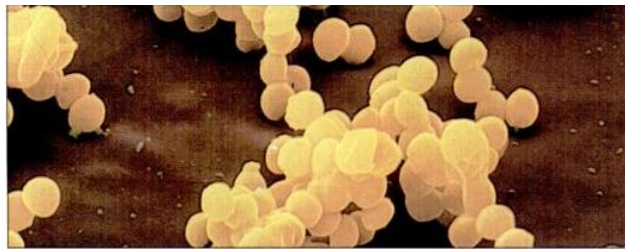
Tomado y modificado de Tortora, Carroll, Funke y Case, 2007.

Staphylococcus aureus

Son microorganismos que se caracterizan por presentar una disposición típica en forma de racimos de uva, son anaeróbicos facultativos y pueden asumir varias formas, crecen en condiciones de presión osmótica elevada y humedad reducida es por ello que pueden desarrollarse y crecer en secreciones nasales y en la piel. *Staphylococcus aureus* no son móviles y

no forman esporas, bajo la influencia de fármacos como la penicilina experimentan lisis. Además, producen toxinas que contribuyen a su patogenicidad ya que aumenta su capacidad de invadir el cuerpo y dañar tejido. (Figura 14) (Tortora y cols., 2007).

Figura 14. *Staphylococcus aureus*

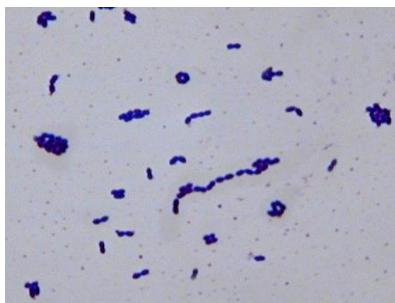


Tomado y modificado de Tortora y cols., 2007.

Enterococcus faecalis

Enterococcus faecalis, microbiológicamente se clasifica como coco grampositivo, no fermentador de endoesporas, presenta una disposición típica en pares o cadenas cortas. Son anaerobios facultativos, quimiórganotrofos, con metabolismo fermentativo y catalasa negativo. Estos microbios se encuentran principalmente en el tracto gastrointestinal como comensales y también pueden estar presentes en el tracto genitourinario y en la saliva, también ha demostrado adquirir una amplia gama de antibióticos. (Figura 15) (Tortora y cols., 2007).

Figura 15. *Enterococcus faecalis*

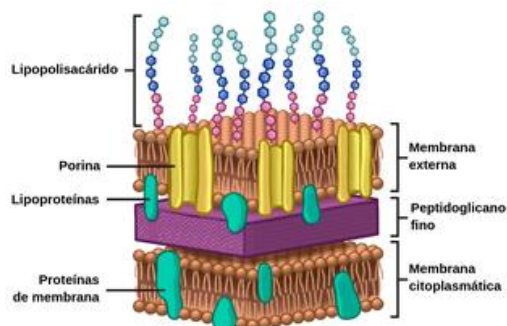


Tomado y modificado de Prisco y cols., 2020.

Bacterias gramnegativas

Las bacterias gramnegativas se caracterizan ya que poseen una pared muy compleja. Desde el punto de vista estructural, la pared contiene dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplasmática y fuera de esta, se encuentra una delgada capa de peptidoglucano y en la parte externa de esta delgada capa se halla la membrana externa. Además, poseen una zona entre la superficie externa citoplasmática y la superficie denominada espacio periplásmico, este espacio contiene diversas enzimas hidrolíticas importantes para la degradación y metabolización por la célula de las macromoléculas. La membrana externa está compuesta por una bicapa lipídica, que contiene los fosfolípidos y lipopolisacáridos. (Figura 16) (Murray y cols., 2007).

Figura 16. Pared celular de las bacterias gramnegativa



Tomado y modificado de Tortora y cols., 2007.

Escherichia coli

La especie bacteriana *Escherichia coli* es uno de los habitantes más comunes del tracto intestinal y tal vez el microorganismo más familiar en la microbiología. Este microorganismo mide aproximadamente entre 1-3 μm de largo por 0,5 μm de ancho, se presenta sólo en pares, en cortas cadenas o formando grupos. Por otro lado, *E. coli* no suele ser un microorganismo patógeno pero puede causar infecciones urinarias y cierta cepas segregan enterotoxinas. (Figura 17) (Tortora y cols., 2007).

Figura 17. *Escherichia coli*



Tomado y modificado Brooks, Carroll, Butel, Morse y Mietznert, 2011.

Klebsiella pneumoniae

Son bacterias agrupadas de morfología bacilar, inmóviles y capsuladas miden entre 0,3 a 1,5 x 0,6 a 6 μ , agrupadas en pares o cadenas cortas. Se encuentran en las vías respiratorias y en las heces, frecuentemente en suelo o en agua. Esta especie puede producir una forma grave de neumonía en los seres humanos. (Figura 18) (De la Parte-Pérez, Brito, Guzmán y Carmona, 2001).

Figura 18. *Klebsiella pneumoniae*



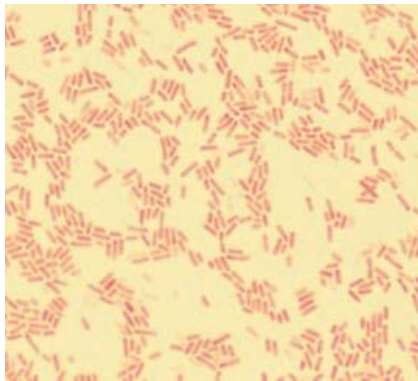
Tomado y modificado de Brooks y cols., 2011.

Pseudomonas aeruginosa

Son bacilos gramnegativos móviles, miden casi 0,6 x 2 μ y muestran una disposición en bacterias individuales, en pares y a veces en cadenas cortas. Además, son aerobios obligados que se multiplica fácilmente en muchos tipos de cultivos, algunas producen hemólisis, forman colonias redondas y lisas con un color verdoso fluorescente. Esta bacteria tiene una amplia distribución en la naturaleza y suele estar presente en medios húmedos de los hospitales. Puede infectar el tracto urinario, las quemaduras y las heridas,

así como causar sepsis, abscesos y meningitis. (Figura 19) (Brooks y cols., 2011).

Figura 19. *Pseudomonas aeruginosa*



Tomado y modificado de Brooks y cols., 2011.

www.bdigital.ula.ve
Mecanismos de resistencia de bacterias

La resistencia exitosa de las bacterias a la acción de los antimicrobianos requiere la interrupción o la alteración de uno o más de los pasos esenciales para una acción antimicrobiana eficaz. Estas alteraciones o mecanismos de resistencia pueden aparecer de diversas maneras, pero el resultado final es la pérdida parcial o completa de la eficacia antibiótica (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009). Estos mecanismos han formado parte de la evolución de las bacterias como un medio de supervivencia. Sin embargo, con la introducción de los antibióticos en la práctica médica, los microorganismos de importancia clínica tuvieron que adoptar medidas de resistencia adecuadas para adaptarse a las presiones del ataque. Una amplia variedad de bacterias de importancia clínica o cualquier microorganismo aislado puede adquirir

numerosos genes y volverse resistente a todo el espectro de agentes antimicrobianos disponibles (Forbes y cols., 2009).

Las bacterias se hacen resistentes a los antibióticos desarrollando mecanismos que impiden al mismo ejercer su función, estos son:

- Inactivación del antibiótico por enzimas: La bacteria produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las betalactamasas y muchas bacterias son capaces de producirlas (Daza, 1998).
- Modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana: las bacterias producen mutaciones en las porinas de la pared que impiden la entrada de ciertos antibióticos (betalactámicos) o alteran los sistemas de transporte (aminoglucósidos en los anaerobios). En otras ocasiones pueden provocar la salida del antibiótico por un mecanismo de expulsión activa, impidiendo que se acumule en cantidad suficiente para que actúe eficazmente (Daza, 1998).
- Alteración por parte de la bacteria de su punto diana, impidiendo o dificultando la acción del antibiótico: aquí podemos contemplar las alteraciones a nivel del ADN girasa (resistencia de quinolonas), (macrólidos) de las enzimas PBPs (proteínas fijadoras de penicilina) necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a betalactámicos). Una misma bacteria puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos de diversas especies bacterianas, todo lo cual complica excesivamente el estudio de la resistencia de las bacterias a los distintos antimicrobianos (Daza, 1998).

Antibióticos

Se denomina a cualquier sustancia química producida por un microorganismo, utilizada para eliminar o inhibir el crecimiento de otros microorganismos infecciosos. Una propiedad común a todos los antibióticos es la toxicidad selectiva: presentan una toxicidad hacia los organismos invasores superior a la que muestran frente a animales o seres humanos (Velázquez, 2008). En un principio, el término antibiótico solo se empleaba para referirse a los compuestos orgánicos de origen biológico, los cuales se obtienen de cultivos de bacterias (*Bacillus*, *Streptomyces*) u hongos (*Penicillium*, *Cephalosporium*), que resultan tóxicos para otros microorganismos. En la actualidad también se emplea para denominar compuestos sintéticos, los producidos exclusivamente por síntesis química o semisintéticos, cuando a partir de un núcleo básico del antibiótico producido por el microorganismo, se modifican algunas de sus características químicas para mejorar sus propiedades farmacocinéticas o su espectro, incluso, para disminuir su toxicidad (Velázquez, 2008).

Mecanismo de acción de los antibióticos

Para conseguir destruir o inhibir a los microorganismos, los antibióticos deben atravesar la barrera superficial de la bacteria y después fijarse sobre su diana, es decir, sobre alguna de las estructuras o mecanismos bioquímicos que le son necesarios para multiplicarse o para sobrevivir. Los mecanismos de acción de los antibióticos son diversos y a veces múltiples, pero todos operan en alguno de los siguientes puntos: impidiendo la síntesis de ácidos nucleicos, de proteínas o de la pared celular, o bien alterando la membrana celular de la bacteria sobre la que actúan (Daza, 1998). Los antibióticos pueden ejercer su acción a través de los siguientes mecanismos

Inhibición de la síntesis de la pared

Las bacterias poseen una pared celular que les confiere rigidez y resistencia a la lisis osmótica. La síntesis de dicha pared es un proceso complejo en el que intervienen numerosas enzimas y que tiene lugar en diferentes fases. La mayor parte de los antibióticos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular son bactericidas, ejercen su acción cuando la bacteria está en fase de crecimiento activo, dando lugar a la muerte de la bacteria por lisis celular (Daza, 1998).

Alteración de la membrana citoplasmática

Actúa como una barrera selectiva regulando el medio intracelular bacteriano. Las polimixinas se comportan como compuestos catiónicos con afinidad específica por los receptores de polifosfato situados en la membrana celular de las bacterias, ocasionando una alteración de la permeabilidad de la membrana bacteriana. Son bactericidas, presentando más actividad sobre las bacterias gramnegativas (Daza, 1998).

Inhibición de la síntesis proteica

Hay algunos antibióticos que se unen a los ribosomas de la bacteria y bloquean la acción del ARN mensajero (ARNm), inhibiendo la síntesis de proteínas. El ribosoma bacteriano consta de dos subunidades denominadas 50S y 30S (Daza, 1998).

Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos

Los antimicrobianos pueden bloquear la síntesis de ácidos nucleicos interfiriendo la replicación del ADN o impidiendo la transcripción. Estos actúan frente a diversas bacterias anaerobias y protozoos; en presencia del sistema de transporte anaerobio se producen unos productos intermedios transitorios que actúan lesionando el ADN bacteriano (Daza, 1998).

Actividad antifúngica

Los hongos son microorganismos eucariontes y cada célula fúngica posee al menos un núcleo y membrana celular, retículo endoplásmico, mitocondrias y aparato secretor, la mayoría son aerobios obligados o facultativos. Así mismo, los hongos constituyen un grupo de organismos muy diversos y extendidos, incluyen a los mohos, las setas y las levaduras. Por otra parte, los hongos son beneficiosos tienen importancia en la cadena alimentaria porque descomponen la materia muerta y de ese modo reciclan elementos vitales. Además, mediante enzimas extracelulares, como las celulasas, los hongos son los principales descomponedores de las plantas (Brooks y cols, 2011; Rivas, Orandy y Verde, 2016).

Candida albicans

Candida albicans es una levadura oval levaduriforme de la familia de los Sacaromicetos, mide aproximadamente entre 2 a 4 μ , sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable. Es un patógeno oportunista ya que se comporta como un organismo comensal al formar parte del microbiota normal de los tractos respiratorios, gastrointestinales y genitourinarios, además poseen

características intrínsecas que promueven su habilidad de causar enfermedad. Cabe mencionar que en sus factores de virulencia se incluyen las adhesinas, la conversión morfológica del microorganismo de la fase levaduriforme a la fase filamentosa, la secreción de enzimas como proteasas, fosfolipasas y la inmunomodulación de los mecanismos de defensa del hospedero. (Figura 20) (Panizo, Reviàkina, 2001; Pardi y Cardozo, 2002).

Figura 20. *Candida albicans*



Tomado y modificado de Brooks y cols., 2011

Candida krusei

Es una levadura diploide y diamórfica que habita en la membrana mucosas de individuos sanos. *Candida krusei* pertenece al grupo de agentes etiológicos de las Candidiasis, y aunque no se aísla con tanta frecuencia, las infecciones causadas por este organismo son de relevancia en el ámbito clínico debido a su resistencia intrínseca al fluconazol y una susceptibilidad disminuida a la anfotericina y la flucitocina. (Figura 21) (Bedout y Gómez, 2010).

Figura 21. *Candida krusei*



Tomado y modificado de Bedout y Gómez, 2010.

Mecanismos de Resistencia de los Hongos

La pared celular de los hongos es una estructura de gran plasticidad, compuesta por glucanos, quitina y glicoproteínas, que actúan protegiendo a la célula de diferentes tipos de estrés ambiental, entre los que destacan los cambios osmóticos. Esta pared celular les permite la interacción con el medio externo, puesto que algunas de sus proteínas adhesinas y receptores, así mismo algunos de sus componentes tienen una alta capacidad inmunogénica. Por consiguiente, al no estar presente los componentes de la pared celular fúngica en el ser humano, esta estructura es una diana o sitio blanco excelente para el ataque por parte de la terapia antifúngica (Pontón, 2008).

Clasificación de los Antifúngicos y Mecanismo de Acción

El número de antifúngicos para tratar las micosis es muy escaso y la eficacia de estos para el tratamiento de micosis graves es delicada. Esto puede explicarse por la falta de técnicas que diagnostiquen de forma precoz la infección, así como por la toxicidad de los antifúngicos, las limitaciones

que presenta la dosificación de algunos fármacos (como anfotericina B convencional), las escasas alternativas terapéuticas y por la aparición de cepas con resistencia secundaria a los antifúngicos o especies con resistencia intrínseca a los mismos (Mellado, Cuenca y Rodríguez, 2002). En cuanto a su clasificación, de los antifúngicos se tienen los siguientes:

- Polienos: Los polienos se unen a los esteroides de membrana fundamentalmente (ergosterol) y esta unión genera la formación de canales por lo que las células fúngicas pierden iones y moléculas carbonadas. La anfotericina B se mantiene como fármaco de primera línea en el tratamiento de las infecciones fúngicas invasoras, al tener perfil de actividad amplio (levaduras, hongos miceliales y hongos patógenos primarios), no obstante, su uso es limitado debido a su elevada toxicidad (Mellado y cols., 2002).
- Azoles: Los azoles bloquean la síntesis del ergosterol uniéndose fundamentalmente a la enzima 14- α -demetilasa y de esta forma se acumulan esteroides metilados que resultan tóxicos para las células. Este grupo de antifúngicos revolucionó la micología médica por su espectro de actividad y sus limitados efectos adversos, el único inconveniente de los mismos es la escasa utilidad que hasta la fecha han demostrado en las infecciones invasoras graves por hongos miceliales, así como la aparición de cepas con resistencia secundaria (Mellado y cols., 2002).
- Equinocandinas: Es una nueva clase de antifúngicos que actúa inhibiendo la síntesis del 1-3- β -glucano, uno de los principales componentes de la pared celular fúngica. Este mecanismo de acción le confiere ciertas ventajas, ya que no demuestra resistencia cruzada

con los antifúngicos que actúa sobre la membrana, permitiendo utilizar terapia combinada con azoles o anfotericina B (Mellado y cols., 2002).

- Alilaminas: Ejercen su acción mediante la inhibición del escualeno epoxidasa, una enzima implicada en la síntesis del ergosterol. La Terbinafina es el único fármaco comercializado de esta clase en forma de presentación oral y posee actividad frente a dermatofitos, levaduras y hongos filamentosos, además de mostrar efectos sinérgicos con los azoles (Mellado y cols., 2002).

Métodos de Sensibilidad Antimicrobiana

Descritos por García y Cantón (2000) como aquellos métodos que permiten definir la actividad *in vitro* de un antimicrobiano frente a un microorganismo determinado, reflejando su capacidad para inhibir el crecimiento del posible patógeno en cuestión. Estos métodos deben estar convenientemente normalizados y sujetos a procesos de control que aseguren su reproducibilidad, siendo los más utilizados y aceptados los métodos de difusión y dilución.

Método de Kirby-Baüer

Es el método más utilizado para evaluar la sensibilidad de las bacterias hongos y levaduras a los agentes antimicrobianos. Esta técnica solo aporta información cualitativa o semicuantitativa sobre la sensibilidad de un microorganismo a un antibiótico o antifúngico determinado. Las pruebas de sensibilidad están indicadas para apoyar a la terapia antimicrobiana en procesos infecciosos causados por bacterias y hongos, donde la identidad del microorganismo no es suficiente para predecir de forma confiable su

sensibilidad. El método Kirby-Baüer consiste en depositar en la superficie del agar previamente inoculado con el microorganismo discos impregnados con concentración conocida de diferentes antibióticos. Una vez que el disco entra en contacto con la superficie del agar, este difunde gradualmente formando un gradiente de concentración. La incubación debe hacerse durante 24-48 horas, una vez incubado, el diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente y deben ser comparados con los diámetros de zonas establecidas en las tablas de interpretación internacional (Ramírez y Díaz, 2010).

Método de dilución

El método de dilución de susceptibilidad antimicrobiana se utiliza con la finalidad de determinar la concentración mínima bactericida (MBC) y la concentración mínima inhibitoria (CMI), la cual es definida como la concentración más baja de sustancias que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de incubar por 24 horas y la concentración mínima bactericida como la concentración más baja que previene el crecimiento de un organismo después de subcultivar en un medio libre del compuesto evaluado. Estas variables son una herramienta para el estudio de nuevos antimicrobianos. Estos métodos tienen la ventaja de no depender de la difusión de los compuestos en el medio (Ramírez y Díaz, 2010).

El método de dilución en caldo es apropiado para el estudio simultáneo de varios antimicrobianos frente a un microorganismo. Las diluciones del antimicrobiano se realizan en el propio caldo dispuesto en tubos o en microplacas y la concentración mínima inhibitoria es determinada después de la incubación. Por otro lado, la dilución es un método adecuado para probar varias cepas simultáneamente, capaz de detectar heterogeneidad o

contaminación microbiana. Se siembran por profundidad con una concentración determinada de extracto vegetal, luego se inoculan con el microorganismo de estudio y se incuban por 24 horas, después de ésta, se examina si el microorganismo crece o no (García, Fernández, Paredes, 1994).

Definición operacional de términos

Fitoterapia

La fitoterapia es la ciencia que se encarga de estudiar la utilización de los productos de origen vegetal con fines terapéuticos, bien sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico (Cañigual, Dellacassa y Bandoni, 2003).

www.bdigital.ula.ve

Fitoquímica

La fitoquímica es una disciplina que se encarga de la obtención de los compuestos producidos por las plantas a través de la extracción, el aislamiento, la purificación y elucidación de la estructura química. Además, se involucra en la caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias elaboradas por los vegetales que pueden ya sea, afectar o beneficiar la salud humana, a las plantas, animales y microorganismos (Sánchez, 2022).

Microorganismos

Son organismos que por su pequeño tamaño son imperceptibles a la vista, colonizan todo ambiente desde el suelo, el agua y aire, participan de forma vital en todos los ecosistemas. Se agrupan en dos categorías: procariotas y eucariotas. En la primera se encuentran las archaeas y las bacterias, mientras que en la segunda se encuentran los hongos, las algas y los protozoos. Cabe mencionar que, los microorganismos son claves para el funcionamiento de los sistemas biológicos y el mantenimiento de la vida sobre el planeta, ya que participan en procesos metabólicos, ecológico y biotecnológicos (Montaño, Sandoval, Camargo y Sánchez, 2010).

Antimicrobianos

Los antimicrobianos son agentes o sustancias de cualquier procedencia (microorganismos, plantas, sintéticos o semisintéticos), que actúan contra el crecimiento y actividad de cualquier microorganismo, tales como bacteria, micobacterias, hongos, parásitos y virus (Organización Mundial de la Salud, 2018).

Cepas

Son un grupo de microorganismos que pertenecen a la misma especie y comparten las mismas características. Suelen identificarse por letras, números o nombres que siguen al epíteto específico. Las cepas con diferentes antígenos se denominan serotipos, serovariedades, o biovariedades (Tortora y cols., 2007).

Operacionalización de variables

Según Palella y Martins (2012) las variables son conceptos abstractos que no se pueden medir. Por esto, la operacionalización es un proceso en el cual se define, categorizan y determinan los indicadores que caracterizan las variables de una investigación. A continuación, se presenta el cuadro de operacionalización de las variables (tablas 1 y 2).

www.bdigital.ula.ve

Operacionalización de las Variables

Tabla 1. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de los extractos de la raíz de *Erythrina edulis*.

1. Variable	2. Tipo de variable	3. Definición Conceptual ¿Qué es?
Composición química de los extractos de <i>Erythrina edulis</i>	Independiente Cualitativa	Metabolito secundario o Producto natural que se usa como sinónimo, aquel que es propio de una especie, se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza (Marcano y Hasegawa, 2002).
4. Definición operacional ¿Cómo se mide?	5. Dimensiones	6. Indicador
Pruebas químicas cualitativas Tamizaje fitoquímico.	Para las pruebas químicas cualitativas puede haber presencia y ausencia de: - Alcaloides. - Esteroles y/o triterpenos. - Saponinas. - Compuestos fenólicos simples. - Taninos. - Flavonoides. - Quinonas y Antraquinonas. - Glicósidos cardiotónicos. - Cumarinas. - Sesquiterpenlactonas.	Alcaloides: La aparición de turbidez o precipitados. Esteroles y/o triterpenos: Coloración azul o verde para esteroides; coloración es rosa, rojo, magenta o violeta para triterpenos. Saponinas: Formación de abundante espuma Compuestos fenólicos: coloración de azul a negro. Taninos: Un precipitado blanco indica presencia de taninos. Flavonoides: coloración naranja a rojo, para flavonas; si es rojo flavonoles y magenta flavononas. Antraquinonas y quinonas: una coloración roja. Glicósidos cardiotónicos: coloración púrpura o violácea. Cumarinas: La presencia de fluorescencia azul-violeta. Las coloraciones roja, violeta o rosa para sesquiterpenlactonas.

Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Tabla 2. Operacionalización de la variable dependiente: Actividad antimicrobiana de los extractos de la raíz de *Erythrina edulis*.

1. Variable	2. Tipo de variable	3. Definición Conceptual ¿Qué es?
Actividad antimicrobiana de los extractos de la raíz de <i>Erythrina edulis</i>	Dependiente Cualitativa	Actividad antimicrobiana, es la propiedad de ciertas sustancias que forman un compuesto, o que se hallan en una muestra capaces de eliminar agentes bacterianos y fúngicos o la inhibición de su crecimiento sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo. (Torres, León, Tomas, 2017).
4. Definición operacional ¿Cómo se mide?	5. Dimensiones	6. Indicador
-Método de difusión en disco (Kirby-Baüer).	Cepas grampositivas: - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 - <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 Cepas gramnegativas: - <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 - <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357 Cepas fúngicas <i>Candida albicans</i> CDC 385 <i>Candida krusei</i> ATCC 6258	-Presencia o ausencia del halo de inhibición frente a cepas grampositivas y gramnegativas. -Presencia o ausencia de actividad antifúngica <i>in vitro</i>

Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Hipótesis

Investigaciones previas han demostrado que especies del género *Erythrina* biosintetizan metabolitos secundarios (alcaloides, flavonoides, cumarinas, quinonas) que poseen actividades biológicas, por lo que se espera que los extractos Hexano y metanol de la raíz de *Erythrina edulis* presenten actividad antimicrobiana.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Hernández, Fernández, y Baptista (2006) refirieron que el conocimiento generado por un proceso investigativo define el alcance y el tipo de investigación. Adicionalmente, Hurtado (2012) refirió que existen diferentes tipos de investigación: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. Específicamente, la investigación confirmatoria requiere de una explicación previa a una serie de respuestas o hipótesis, los cuales se desean confirmar (Hurtado, 2012). Es por ello que, durante esta investigación se confirmó la composición química de los extractos obtenidos de la raíz de *Erythrina edulis* y la actividad antimicrobiana.

Diseño de Investigación

Hace explícitos los aspectos operativos de la misma. Si el tipo de investigación se define con base en el objetivo, el diseño de investigación se define con base en el procedimiento, el cual se debe determinar a través de las estrategias que se implementan para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber (Hurtado, 2010).

De acuerdo con lo antes expuesto, la presente investigación es de tipo confirmatoria, con un diseño experimental, donde se interviene sobre las variables independientes o sobre los procesos de causa-efecto y los modifica

de manera intencional y planificada para ver los efectos, pero además hace un control estricto de variables extrañas para descartar que los cambios hayan sido originados por otros factores distintos a las variables independientes (Hurtado, 2010). Por tal motivo, las muestras recolectadas fueron procesadas en el Laboratorio de Toxicología Analítica, Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usabillaga del Hierro”, Laboratorio de Actinomicetos “Dr. José A. Serrano R, y en el Laboratorio de Micología “Dr. Corrado Capretti”, todos pertenecientes a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

La población es el conjunto de elementos que se quiere conocer o investigar algunas de sus características (Arias, 2006). La unidad de investigación está representada por la especie *Erythrina edulis*, la misma fue extraída de Tabay Mucunutan, Municipio Santos Marquina, Mérida Edo Mérida, Venezuela. La muestra de colección Voucher M.K N° 01 fue identificada por el “Dr. Pablo Meléndez” en el herbario MERF “Dr. Luis Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Selección del Tamaño de la Muestra

La muestra es un subconjunto representativo de un universo o población (Arias, 2006). La muestra estuvo representada por 1500 gramos de raíz de la especie *Erythrina edulis*. El tipo de muestra utilizada fue no probabilística, respecto a que la elección de los elementos no depende de la probabilidad,

sino de causas relacionadas con las características de la investigación o de quien hace la muestra. Aquí el procedimiento no es mecánico ni con base en fórmulas de probabilidad, sino que depende del proceso de toma de decisiones de un investigador o de un grupo de investigadores (Hernández, Fernández y Baptista, 2006).

Sistema de Variables

Existen diferentes tipos de variables, la variable dependiente es la que se modifica por acción de la variable independiente, constituye los efectos o consecuencias que se miden. En relación a la variable independiente es la causa que genera y explica los cambios en la variable dependiente (Arias, 2006). Las variables que guardan relación con el objetivo de la investigación son las siguientes; variable dependiente (VD): Actividad antimicrobiana presente en los extractos de *Erythrina edulis*. Variable independiente (VI): Composición química de los extractos de *Erythrina edulis*.

Instrumento de Recolección de Datos

Según Palella y Martins (2017), un instrumento permite recolectar los datos relacionados con los objetivos y los indicadores obtenidos de la operacionalización de las variables. En este trabajo de investigación se empleó la observación estructurada; como técnica, la cual consiste en visualizar la presencia o ausencia de los diferentes fitocompuestos presentes en los extractos de la especie a través de reacciones químicas cualitativas. Además de describir, la sensibilidad o resistencia de los diferentes microorganismos en estudio mediante la medición de los halos de inhibición frente a la concentración de 10 mg/mL de los extractos obtenidos de *Erythrina edulis*.

Procedimiento de la investigación

Recolección y preparación del material vegetal

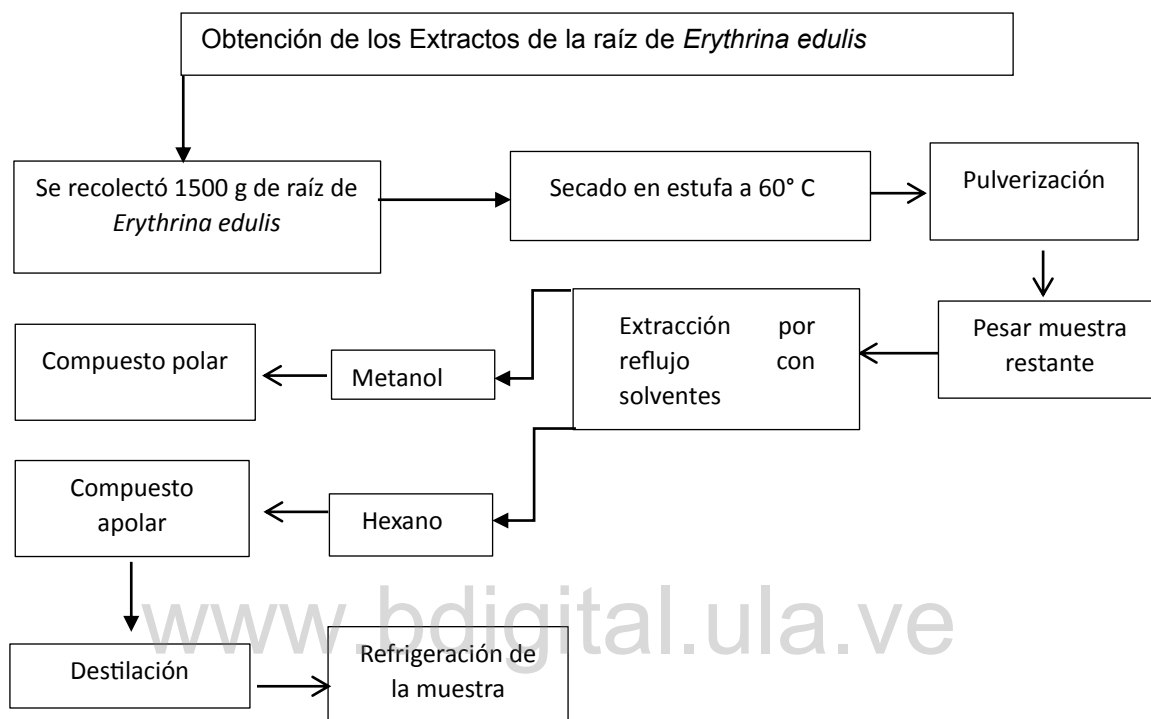
La raíz de *Erythrina edulis* colectadas en el estado Mérida. Se obtuvo un total 1500 g en un ambiente controlado y con las normas de seguridad que permitieron que la especie se mantenga fresca para su posterior análisis. Se utilizó el Laboratorio de Toxicología Analítica de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes para su procesamiento.

Se realizó el lavado de las raíces para despojarla de contaminantes, posteriormente se procedió el secado por varias semanas a temperatura ambiente, y luego a estufa a 60°, seguidamente se realizó el molido y se pesó con una balanza analítica para conocer su peso final, quedando 265,5 g de raíz. Luego se realiza un proceso de extracción usando como solventes hexano y metanol la cantidad de 600 mL de cada uno.

Obtención de los extractos

Se utilizó la técnica de Reflujo en la cual se evapora el solvente, se condensa y cae de nuevo al balón, este en 60 °C hasta ebullición durante una hora. Luego se realizó el proceso de filtración; posteriormente se procede a separar los solventes del extracto a través de la destilación logrando concentrar cada extracto, por último, se coloca en la estufa a 60 °C hasta secar en su totalidad obteniendo como resultado final la cantidad de extracto de hexano: 0,32 g y metanol: 2,37 g (esquema 1).

Esquema 1. Procedimiento empleado para la obtención de los extractos de hexano y metanol.

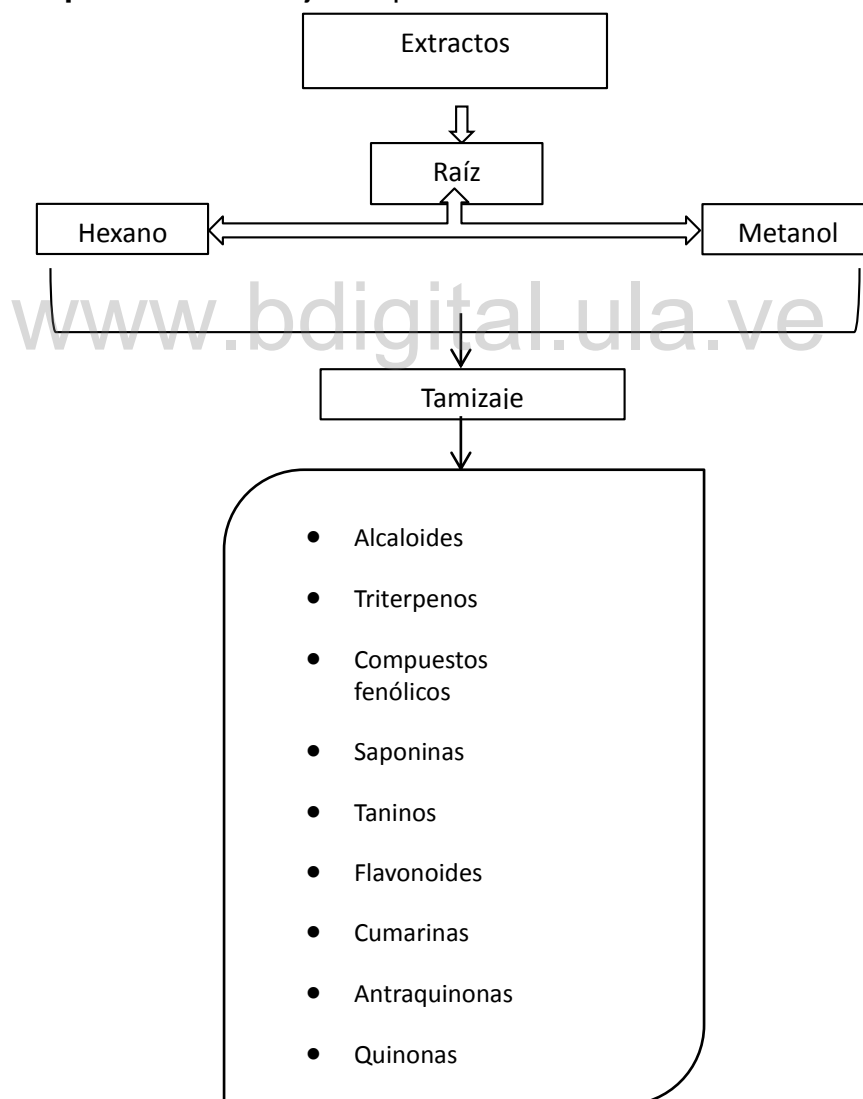


Fuente: Moros, Vallera y Rojas (2024).

Tamizaje fitoquímico

El estudio fitoquímico preliminar se llevó a cabo mediante reacciones químicas destinadas a determinar la presencia de metabolitos secundarios en el material vegetal (esquema 2) siguiendo el procedimiento según Miranda y Cuellar (2000). En tal sentido, se realizaron los siguientes ensayos:

Esquema 2. Tamizaje fitoquímico de la raíz de *Erithrina edulis*



Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Reconocimientos de alcaloides

En este ensayo se tomó una porción de los extractos en 3 tubos de ensayo y se le adicionaron 2 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 5 % y posteriormente se introdujo en el Ultrasonic durante 2 min, para finalmente añadir 3 gotas del reactivo de Mayer, Wagner y Dragendorff respectivamente. Se considera la prueba positiva cuando aparece turbidez o precipitado en los tubos (Miranda y Cuellar, 2000).

Determinación de esteroides y/o triterpenos

En un tubo de ensayo limpio y seco se introdujo una pequeña cantidad del extracto y se añadió 0,5 mL de anhídrido acético ($(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$) y dos gotas de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). La prueba se considera positiva al formarse una coloración azul o verde en la interfase que indica la presencia de esteroides, mientras que, si se torna de color rosa, rojo, magenta o violeta estaremos en presencia de triterpenos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Determinación de saponinas

Se preparó una solución acuosa del extracto y se agita vigorosamente durante 1 minuto. En caso de presentarse espuma es necesario tomar su altura y observar si se forma de manera abundante y estable por al menos 5 minutos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Reconocimiento de Compuestos fenólicos

Se le adicionó unas gotas de cloruro férrico (FeCl_3) al 1 %. La presencia de compuestos fenólicos está determinada por la formación de una

coloración que varía de azul a negro e indica la presencia de derivados del ácido gálico (Miranda y Cuellar, 2000).

Determinación de flavonoides

Se utilizaron las pruebas para la determinación de flavonoides la reacción de Shinoda y la reacción de hidróxido de sodio al 10 % que se describen a continuación:

Reacción de Shinoda

Se mezclaron virutas de Magnesio, HCl concentrado y el extracto de la especie. Después de algunos minutos el color rosa muestra la presencia de flavonoides (Marcano y Hasegawa, 2002).

Hidróxido de sodio al 10%

Se adicionan 0,5 mL de NaOH si se forma una coloración amarilla a rojo indica la presencia de xantonas y flavonas, de café a naranja flavonoles: de purpura a rojizo chalconas y azul de antocianidas (Marcano y Hasegawa, 2002).

Determinación de Quinonas

Mediante la prueba de H_2SO_4 ; las quinonas son dicetonas insaturadas que por reducción se convierten en polifenoles los cuales fácilmente las regeneran por oxidación. Esta reacción da como resultado una coloración de amarilla a roja (Domínguez, 1979).

Reconocimiento de antraquinonas y cumarinas

A una porción del extracto se le adicionó una gota de hidróxido de amonio concentrado (NH_4OH). Se considera la prueba positiva para antraquinonas al tener la presencia de una coloración roja que aparece en los dos primeros minutos, posteriormente la muestra se visualiza bajo la luz ultravioleta, la emisión de fluorescencia de color azul, indica la presencia de cumarinas (Miranda y Cuellar, 2000).

Reconocimiento de taninos

El ensayo de la gelatina se tomó 1-2 mg de la muestra y se disolvió en 2 mL de solución de gelatina al 1%. Si se observa la presencia del precipitado blanco indica la positividad de la prueba (Miranda y Cuellar, 2000).

Determinación de glucósidos cardiotónicos

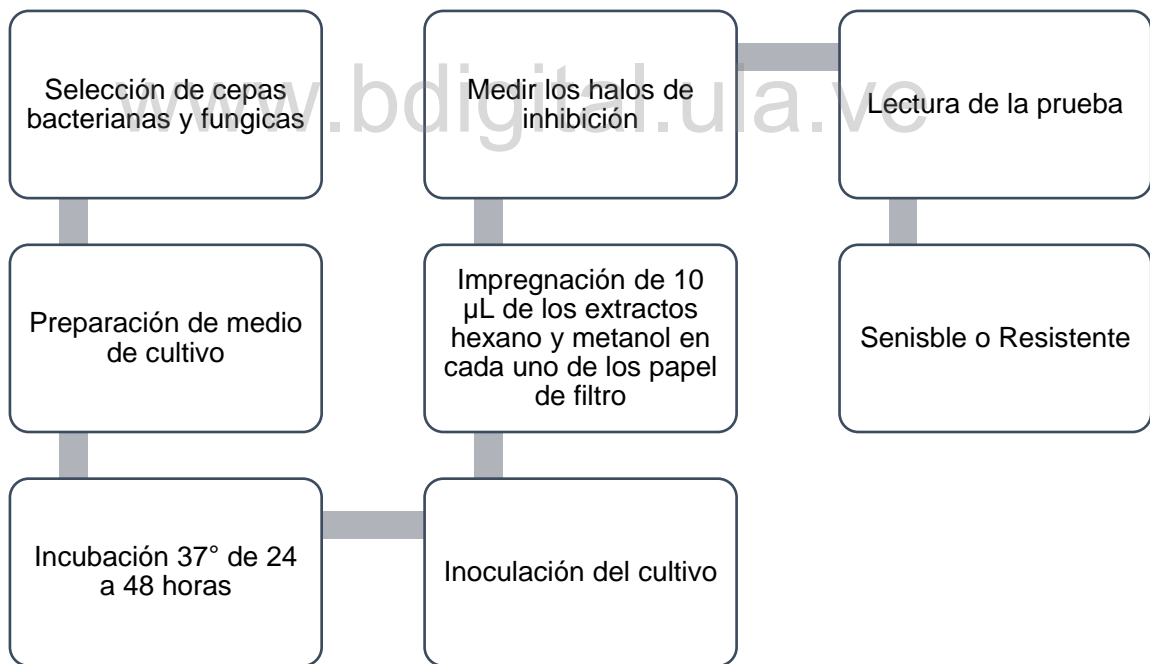
En un tubo se colocaron 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, en otro tubo se realizó una mezcla que contenía una porción de extracto de Metanol, 2,5 mL de agua destilada, 2,5 mL de ácido acético glacial y una gota de cloruro férrico, finalmente la mezcla se adiciona al primer tubo, la presencia de un anillo marrón indica la positividad de la prueba (Marcano y Hasegawa, 2002).

Actividad antimicrobiana

Para la preparación de la actividad antimicrobiana de los extractos se procedió a preparar el medio de cultivo sólido (Müeller-Hinton), las temperaturas de incubación, varían dependiendo del microorganismo en

cuestión, siendo la temperatura de 37 °C para la mayoría de las bacterias; el tiempo de incubación varia de 16 a 24 h. Una vez cultivadas las cepas, en el medio inoculado, se debe realizar la preparación de inóculo bacteriano, se toman con el asa en aro estéril inóculos del cultivo y se colocan en un tubo con solución salina (0,85 %) y se debe ajustar a 0,5 unidades 10^8 UFC según la escala de McFarland y se verifica con la absorbancia a 625 nm cercana al 25 % (esquema 3) (Sánchez, Castillo y García, 2016).

Esquema 3. Procedimiento para determinar la Actividad antimicrobiana de los extractos de la raíz de *Erythrina edulis*, por el método de Difusión en agar con Disco (Kirby- Baüer).



Fuente: Moros, Vallera y Rojas (2024).

Determinación de la Actividad Antibacteriana

El estudio de la actividad antibacteriana se realizó mediante el método de difusión con disco (Kirby-Baüer) anteriormente descrito. Probando cada extracto de (Hexano y Metanol) a una concentración determinada (10 mg/mL) frente a cepas grampositivas y gramnegativas de referencia internacional. Esta investigación se desarrolló en el Laboratorio de Actinomicetos “Dr. Jose A. Serrano R” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

Bacterias estudiadas

Para este estudio se seleccionaron cinco especies de bacterias: dos especies pertenecen a las bacterias grampositivas y tres pertenecientes a las bacteria gramnegativas de referencia internacional de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC), estas bacterias fueron obtenidas del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (**tabla 3**).

Tabla 3. Cepas de referencia internacional de la Colección de Cultivos Tipo Americano (ATCC).

Bacterias Grampositivas (ATCC).	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
Bacterias Gramnegativas(ATCC).	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 23357
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853

Preparación de placas

Las placas se prepararon utilizando aproximadamente 20 mL de Agar Müller Hinton (HIMEDIA ®) estéril, dejándose solidificar a temperatura ambiente.

Preparación de las muestras

Se pesó 10 mg del extracto y se disolvió en 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) para obtener una solución de una concentración de 10000 ppm (10 mg/mL).

Preparación de los inóculos bacterianos

Una vez que se obtuvieron las cepas bacterianas frescas y purificadas, se preparó el inóculo bacteriano con la ayuda de un asa estéril, tomándose de esta manera una pequeña cantidad de colonias para luego ser suspendidas en tubos previamente estéril con solución salina, hasta que alcanzó una turbidez equivalente al patrón de MacFarlán N° 0,5 ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL).

Inoculación de las placas

Una vez preparada las placas, se inocularon en forma homogénea en la superficie de cada una de ellas con cada uno de los inóculos bacterianos previamente preparados en solución de NaCl al 0,85 % (bacterias en estudio), utilizando para ello un hisopo de algodón estéril.

Preparación de los discos

Se utilizaron discos de papel filtro Whatmann N° 1 de 6 mm de diámetro para realizar la actividad antibacteriana, los cuales se esterilizaron con luz ultravioleta (LUV), por 24 horas. Previo a la preparación del inóculo se impregnaron los discos de papel con 10 µL de la muestra en estudio a una

concentración de 10 mg/mL. También se utilizaron discos de antibióticos comerciales como controles positivos con el fin de medir la sensibilidad de los microorganismos a estudiar (**tabla 4**) y como control negativo dimetilsulfóxido (DMSO).

Tabla 4. Antibióticos empleados como control positivo para el estudio de la actividad antibacteriana.

Bacterias (ATCC).	Antibióticos comerciales		
	E (15 µg)	AMP (10 µg)	PIP (100 µg)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	32 mm	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	-	32 mm	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	27 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	-	-	27 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	27 mm

Leyenda: E: Eritromicina ®. AMP: Ampicilina ®. PIP: Piperacilina ®. mm: milímetros

Colocación de los discos impregnados

En las placas de Petri con Agar Müeller Hinton previamente inóculados con cada cepa en estudio, se colocaron los discos impregnados con 10 µL de la solución en estudio, adicionalmente se colocaron los discos de antibióticos comerciales como controles positivos (**tabla 4**), además del control negativo; usando una pinza metálica previamente esterilizada.

Pre-incubación e incubación de las placas

Después de haber colocado los discos en las placas con Agar Müller Hinton previamente inóculados, estas se dejaron en la nevera a temperatura de 4 °C aproximadamente durante 30 min (pre-incubación), con la finalidad de que los discos impregnados con sus diferentes muestras difundieran a través del Agar, para luego llevarlas a la estufa durante 24 h a temperatura de 37 °C en posición invertida en atmósfera aeróbica (incubación).

Lectura de las placas

Luego de ser incubadas cada una de las placas por un lapso de tiempo de 24 horas, estas fueron revisadas para realizar la lectura de las mismas con una regla milimétrica. Donde se consideró un resultado positivo o sensible (presencia de actividad antibacteriana) cuando se observó un halo de inhibición alrededor del disco y se tomó como resultado negativo o resistente (sin actividad antibacteriana) la ausencia de dicho halo. El diámetro de la zona de inhibición producto de la actividad antibacteriana de las muestras en estudio se expresó en milímetros (mm).

Determinación de la Actividad antifúngica

El estudio de la actividad antifúngica se realizó mediante el método de difusión en agar con disco (Kirby-Baüer). Probando cada extracto de (Hexano y Metanol) a una concentración determinada (10 mg/mL) frente a cepas de *Cándidas* de referencia internacional. Esta investigación se desarrolló en el Laboratorio de Micología “Dr. Corrado Capretti” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

Materiales utilizados:

- Extracto de Hexano y Metanol de la raíz de *Erythrina edulis*
 - Cepas de referencia internacional de *Candida albicans* CDC 385 y *Candida krusei* ATCC 6258
 - Discos de papel de filtro (6 mm)
 - Disco de Fluconazol de 25 µg (control positivo) para *Candida albicans*
 - Disco de Voriconazol de 25 µg (control positivo) para *Candida krusei*
 - Solvente de hexano para el extracto de (hexano) y DMSO para el extracto de (metanol) como controles negativos
- 1) Los discos de papel de filtro se impregnaron con 10 µL de los extractos dentro de una placa de Petri y luego se llevaron a esterilizar 90 minutos en luz ultravioleta, 24 horas antes del ensayo.
 - 2) Preparación del inóculo. A partir de las cepas frescas (24 horas), se preparó una suspensión ajustada al patrón McFarland N° 0,5 ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL) en Solución salina fisiológica estéril.
 - 3) Medio de cultivo. El agar Müller-Hinton modificado (HIMEDIA®) se suplementó con 2 % de glucosa y azul de metileno (NCLS, 2004). A cada placa se le agregan 20 mL del medio de cultivo y preparado de cada cepa; en forma de colchón con un hisopo se mezcla y se dejó solidificar. Luego se colocaron los discos impregnados con 10 µL de las muestras y los antifúngicos como controles positivos (Fluconazol® para *Candida albicans* y Voriconazol® para *Candida krusei* y los solventes como controles negativos.

- 4) Incubación. Una vez colocados los discos, se dejan las placas a temperatura ambiente durante 20 minutos. Luego se llevaron a 4° C por 4 horas para permitir la difusión de los extractos. Luego se incuban a 37° C por 48 horas en presencia de oxígeno.
- 5) Lectura del ensayo. Transcurrido el tiempo de incubación, se observó la presencia o no de halos de inhibición alrededor del disco, lo cual indica Sensibilidad o Resistencia respectivamente, y se mide en milímetros (mm).

Diseño de Análisis

Sampieri, Fernández y Baptista (2010), refirieron que existen dos tipos de enfoques de investigación: cualitativo y cuantitativo. La metodología cuantitativa se basa en métodos de recolección de datos con medición numérica y análisis matemático. Por lo tanto, esta investigación tiene un enfoque cuantitativo ya que se analizaron numéricamente los datos recolectados de la unidad de estudio con el fin de medir la actividad antimicrobiana, por otro lado, tiene un enfoque cualitativo puesto que se evaluó la composición química mediante pruebas colorimétricas usando los extractos de *Erythrina edulis* en cepas bacterianas y fúngicas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

RESULTADOS

Se recolectaron 1500 gramos de la raíz de *Erythrina edulis*, los cuales fueron sometidos a secado y molienda, obteniéndose un peso final de 265,5 gramos de raíz, este material vegetal se llevó a extracción, con disolventes de distintas polaridades como: hexano (apolar) y metanol (polar). Luego de la extracción se realizó la concentración de los extractos hasta sequedad, obteniéndose dos extractos hexano y metanol (tabla 5).

Para la determinación del porcentaje de rendimiento (%R) se utilizó la siguiente formula:

$$\%R = \frac{\text{peso final del extracto obtenido}}{\text{peso inicial de la muestra}} \times 100$$

Tabla N° 5. Determinación del porcentaje de rendimiento de los extractos de hexano y metanol de la raíz de *Erythrina edulis*.

Peso muestra inicial Secada y molida 265,5 g		
Muestra inicial utilizada para la extracción de Hexano	Extracto hexano	% de Rendimiento del extracto hexano
115 g	0,32 g	0,28 %
Muestra inicial utilizada para la extracción de Metanol	Extracto Metanol	% de Rendimiento del extracto Metanol
100 g	2,37 g	2,37 %

Fuentes: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Análisis fitoquímico preliminar

El análisis fitoquímico de los extractos de hexano y metanol obtenidos de la raíz de *Erythrina edulis*, se realizó cualitativamente mediante pruebas químicas en la cual se colocaron en contacto con diversos reactivos químicos observando así reacciones de coloración, precipitación, turbidez, formación de anillo, producción de espuma y fluorescencia por exposición a luz ultravioleta (UV) características de cada prueba para la determinación de metabolitos secundarios.

Mediante este análisis cualitativo se revelaron la presencia de compuestos tales como: triterpenos y esteroides con la reacción de Liebermann-Burchard en el extracto (hexano y metanol), compuestos fenólicos con la reacción de FeCl_3 (solo en el extracto de metanol), quinonas con la prueba de H_2SO_4 concentrado en el extracto (hexano y metanol).

Mientras que no se halló la presencia de alcaloides, saponinas flavonoides, lactonas, antraquinonas, cumarinas, glicósidos cardiotónicos, por lo tanto se podría deducir que dichos compuestos no se hallan en la raíz de la especie *Erythrina edulis* o sus concentraciones son tan bajas que no se lograron detectar (tabla 6 y 7).

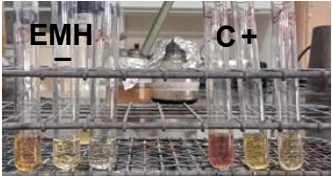
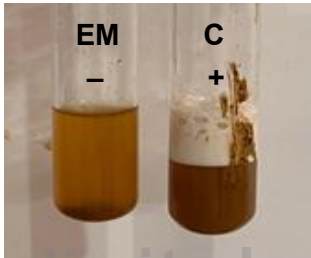
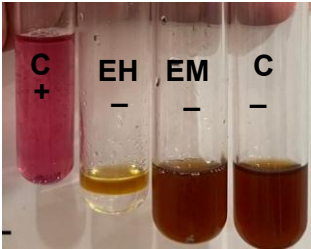
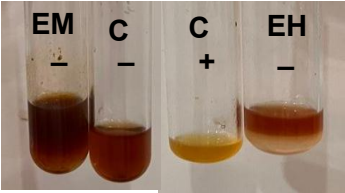
Tabla N° 6. Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de la raíz de *Erythrina edulis*.

Metabolitos	Pruebas químicas	Extracto hexano	Extracto Metanol
Alcaloides	Dragendorff	-	-
	Wagner	-	-
	Mayer	-	-
Triterpenos/esteroles	Liebermann-Burchard	+	+
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	ND	+
Saponinas	Espuma	ND	-
Taninos	Gelatina 1%	-	-
Flavonoides	Shinoda	-	-
	NaOH al 10%	-	-
Cumarinas	Hidróxido de amonio concentrado NH ₄ OH []	ND	-
Antraquinonas	Hidróxido de amonio concentrado NH ₄ OH []	ND	-
Quinonas	Ácido sulfúrico concentrado H ₂ SO ₄ []	+	+
Glicósidos Cardiotónicos	Ensayo de Keller's	ND	-
Lactonas (sesquiterpénicas)	NaOH al 10% con HCL	-	-

ND: No determinado; **+**: Positivo; **-**: Negativo

Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Tabla N° 7. Reporte ilustrado de los resultados del ensayo fitoquímico de los extractos de la raíz de *Erythrina edulis*.

Metabolito	Prueba	Resultado	Extracto Hexano	Extracto Metanol
Alcaloides	Dragendorff Wagner Mayer	 <p>EMH - C+</p> <p>No se observó cambio de color</p>	- - -	- - -
Saponinas	Reacción de Espuma	 <p>EM - C+</p> <p>Ausencia de espuma</p>	ND	-
Flavonoides	Reacción de Shinoda	 <p>C+ EH- EM- C-</p> <p>Ausencia de color rojo</p>	-	-
	Prueba con NaOH al 10 %	 <p>EM- C- C+ EH-</p> <p>Ausencia de color naranja</p>	-	-

Fuente: Moros, Vallera y Rojas 2024.

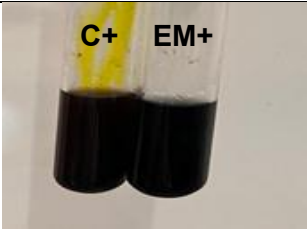
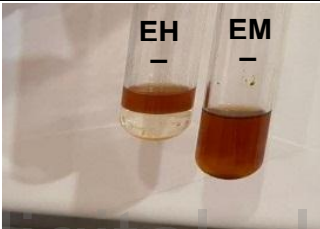

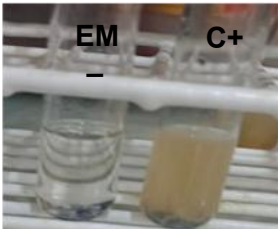
EM: extracto de metanol; **EH:** extracto de hexano; **C:** control

Tabla N° 7. Reporte ilustrado de los resultados del ensayo fitoquímico de los extractos de la raíz de *Erythrina edulis* (Continuación).

Metabolito	Prueba	Resultado	Extracto Hexano	Extracto Metanol
Cumarinas	Prueba con NH_4OH []	 <p>Ausencia de fluorescencia azul- violeta</p>	ND	—
antraquinona	Prueba con NH_4OH []	 <p>No se observo cambio de color (rojo-cereza)</p>	ND	—
Quinonas	Prueba con H_2SO_4 []	 <p>Presencia de Coloración rojiza</p>	+	+
Glicósidos cardiotónicos	Ensayo de Keller's	 <p>Ausencia de anillo color marrón</p>	ND	—

Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Tabla N° 7. Reporte ilustrado de los resultados del ensayo fitoquímico de los extractos de la raíz de *Erythrina edulis* (Continuación).

Metabolito	Prueba	Resultado	Extracto Hexano	Extracto Metanol
Compuestos fenólicos	Tricloruro de hierro FeCl ₃	 <p>Presencia de color verde oscuro</p>	ND	+
Lactonas sesquiterpenos	Ensayo de Baljet	 <p>Se mantuvo la coloración amarillo o naranja</p>	—	—
Triterpenos/esteroles	Liebermann –Burchard	 <p>Formacion de interface azul Formación de interface roja</p>	+	+
Taninos	Gelatina al 1%	 <p>Ausencia de precipitado blanco</p>	—	—

Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Evaluación de la actividad antibacteriana

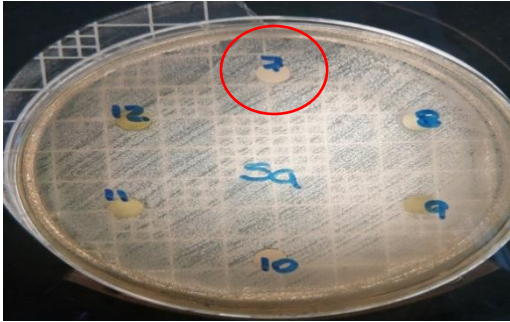
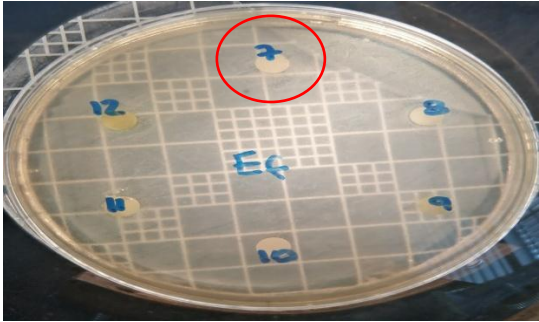
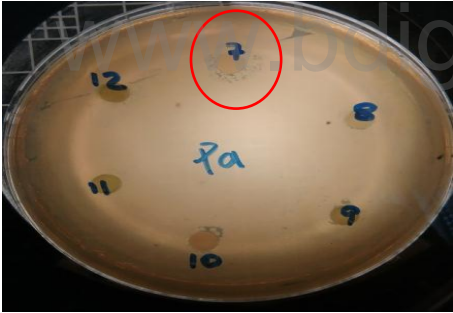
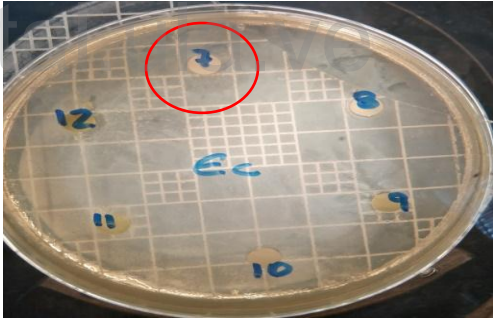
Se determinó a través del método de difusión de agar con disco (Kirby-Baüer), en los extractos correspondientes a los solventes hexano y metanol de la raíz de la especie *Erythrina edulis*, frente a cepas bacterianas grampositivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), así como también; en bacterias gramnegativas: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Los resultados de la actividad antimicrobiana se muestran a continuación (tabla N° 8, 9 y 10).

Tabla N° 8. Resultados obtenidos en la determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de hexano y metanol de la raíz de *Erythrina edulis*

Muestras ensayadas	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Extracto de hexano de la raíz	—	—	8 mm	7 mm	7 mm
Extracto de metanol de la raíz	7 mm	—	7 mm	7 mm	—
Controles positivos					
Eritromicina (E) 15 µg	32 mm	—	—	—	—
Ampicilina (AMP) 10 µg	—	32 mm	—	—	—
Piperacilina (PIP) 100 µg	—	—	27 mm	27 mm	27 mm
Controles negativos					
DMSO	—	—	—	—	—

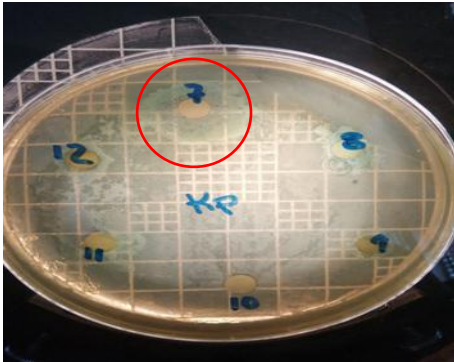
Fuente: Moros, Vallera y Rojas 2024.

Tabla N° 9. Reporte ilustrado de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de hexano de la raíz de *Erythrina edulis* (Muestras N° 7).

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>
	

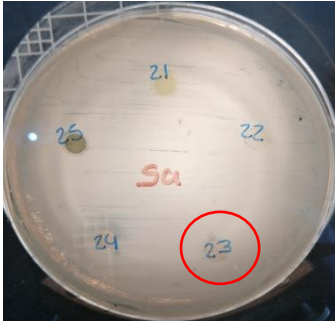
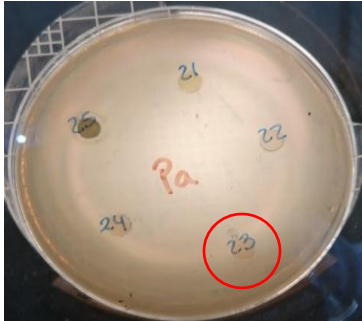
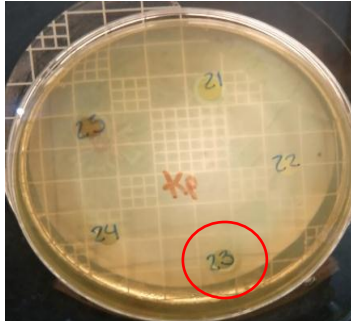
Fuente: Moros, Vallera y Rojas 2024.

Tabla N° 9. Reporte ilustrado de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de hexano de la raíz de *Erythrina edulis* (Muestra N°7) (continuación).

<i>Klebsiella pneumoniae</i>


Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Tabla N° 10. Reporte ilustrado de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de metanol de la raíz de *Erythrina edulis* (Muestras N° 23).

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
		

Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Evaluación de la actividad antifúngica

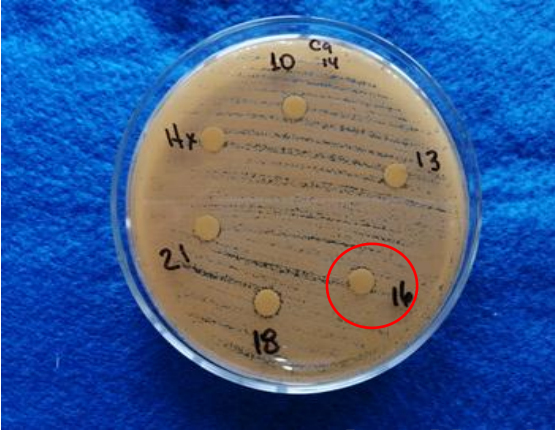



Los resultados obtenidos de los extractos (hexano y metanol) de la raíz de la especie *Erythrina edulis*, fueron determinados mediante la técnica de difusión en agar con disco (Kirby-Baüer) y posteriormente se diluyo el extracto de hexano con su solvente de origen (hexano), mientras que el extracto de metanol fue disuelto con dimetilsulfóxido (DMSO), para comprobar así su efecto frente a cepas de *Cándida* de referencia internacional tales como: *Candida albicans* CDC 385 y *Candida krusei* ATCC 6258. Los resultados de la actividad antifúngica se muestran a continuación (tablas N° 11 y N° 12)

Tabla N° 11. Resultados obtenidos en la determinación de la actividad antifúngica de los extractos de hexano y metanol de la raíz de *Erythrina edulis*

Muestras ensayadas	<i>Candida albicans</i> CDC 385	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258
Extracto de hexano de la raíz	7 mm	9 mm
Extracto de metanol de la raíz	—	—
Control de positivo		
Fluconazol (25 µg)	50 mm	—
Voriconazol (25 µg)	—	20 mm
Control negativo		
(Hexano) para el extracto de hexano.	—	—
(DMSO) para el extracto de metanol.	—	—

Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2024.

Tabla N° 12. Reporte ilustrado de los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de hexano y metanol de la raíz de *Erythrina edulis*. (Muestras N° 16 y 17)

<i>Candida albicans</i>	<i>Candida krusei</i>
	
	

Fuente: Moros, Vallera y Rojas, 2019.

DISCUCIONES

En la presente investigación se obtuvieron mediante extracción por reflujo extractos de hexano y metanol de la raíz de la especie *Erythrina edulis*, dichos extractos a través de las pruebas químicas cualitativas evidenciaron la presencia de metabolitos como: Triterpenos, esteroides, compuestos fenólicos y quinonas (tabla N° 6).

En cuanto al estudio de la actividad antimicrobiana, este fue realizado posterior al tamizaje fitoquímico a través del método de difusión en agar con disco (Kirby-Baüer), logrando determinar que dichos extractos ensayados si presentaron actividad frente a cepas de referencia internacional a la concentración empleada en el estudio (10 mg/mL). Los resultados obtenidos en esta investigación correlacionan con estudios de otras especies del género *Erythrina* recolectados en diversos países y continentes.

Lo descrito anteriormente, coincide con lo reportado por Bioltift y cols., (2020). Demostraron que los extractos de *Erythrina senegalensis* posee metabolitos secundario como: alcaloides, flavonoides, esteroides, taninos, fenoles, quinona, saponina, triterpenos y antraquinona. Del mismo modo nuestra investigación deja en evidencia la presencia de compuestos fenólicos en el extracto de metanol de la raíz de la especie, quinonas en los extractos de hexano y metanol, esteroides y triterpenos en ambos extractos, la positividad de cada metabolito se logró observar por el cambio de coloración a verde, roja e interface azul y rojiza respectivamente.

Por otra parte, Worku (2021). Evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* y detección fitoquímica de extractos de hojas de especies de *Erythrina*, obteniendo como resultado que la máxima actividad fue de (33 mm) contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* a la concentración de 35 mg/mL, mientras que con los extractos de éter de petróleo, cloroformo y agua obtuvieron la menor actividad. Sin embargo, la

actividad antibacteriana evaluada en esta investigación revelo cierta sensibilidad en los extractos ensayados contra cepas bacterianas grampositivas, gramnegativas y fúngicas de referencia internacional, siendo el extracto de la raíz con hexano el de mayor sensibilidad (8 mm) frente a *Klebsiella pneumoniae* seguido de *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* (7 mm). Mientras que el extracto de metanol presento un halo de inhibición de (7 mm) para los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. No obstante, el microorganismo con mayor resistencia fue *Enterococcus faecalis* ya que no presento actividad inhibitoria en ninguno de los extractos ensayados (hexano y metanol), seguido *Staphylococcus aureus* resistente únicamente para el extracto hexano y *Escherichia coli* para el extracto de metanol.

En el mismo orden de ideas, Chitopoa y cols., (2019). Demostraron en su investigación que los extractos de hexano, diclorometano y acetato de etilo de las hojas de *Erythrina abyssinica* poseen actividad antimicrobiana frente a *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Lo cual coincide con lo determinado en esta investigación en los extractos analizados. Sin embargo, los autores obtuvieron resultados diferentes en el análisis de su actividad antimicrobiana, puesto que todos los extractos arrojaron sensibilidad a las concentraciones de 500 µg/mL, siendo el extracto acetato de etilo el de mayor zona inhibitoria (25 mm) frente a *Candida albicans*, y el extracto de hexano el de mayor zona inhibitoria (23 mm) contra *Staphylococcus aureus*. Mientras que, en la presente investigación solo el extracto hexano a la concentración de 10 mg/mL mostró sensibilidad frente a *Candida albicans* y *Candida Krusei* con una zona de inhibición de (7 mm) y (9 mm) respetivamente, por otra parte como se había descrito anteriormente el estudio antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* revelo una zona inhibitoria de (7 mm) únicamente para el extracto de metanol.

Por consiguiente, basándose en las discusiones de los resultados anteriormente presentados para diferentes especies del género *Erythrina*, se pudo inferir que los extractos de la raíz de la especie *Erythrina edulis* demostraron resultados favorables en la evaluación de la actividad antimicrobiana, debido a la presencia de una composición química rica en metabolitos secundarios, siendo así ésta especie una fuente alternativa para obtener opciones terapéuticas, frente a microorganismos bacterianos y fúngicos.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- La composición química de los extractos de la raíz de *Erythrina edulis* fue analizada cualitativamente mediante el tamizaje fitoquímico, logrando así la determinación de metabolitos como: compuestos fenólicos, triterpenos, esteroides y quinonas.
- La evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos frente a cepas bacterianas y fúngicas de referencia internacional, se realizó a través del método de difusión en agar con disco (Kirby-Baüer) a una concentración de 10 mg/mL. Pudiéndose evidenciar inhibición del crecimiento de *Candida albicans* y *Candida Krusei* (7 mm) y (9 mm) respectivamente. Del mismo modo reveló una susceptibilidad en las bacterias grampositivas: *Staphylococcus aureus* (7 mm); además en las bacterias gramnegativas: *Klebsiella pneumoniae* (8 mm) para extracto hexano y (7 mm) para metanol, *Pseudomonas aeruginosa* (7 mm) para ambos y *Escherichia coli* (7 mm) únicamente para hexano.
- Estos resultados abren nuevos horizontes terapéuticos, ya que podría utilizarse para la elaboración de fármacos de tipo antibacteriano y antifúngico.
- Además representa un aporte significativo para futuras investigaciones, puesto que, es uno de los pocos estudios de actividad antimicrobiana en la especie *Erythrina edulis*. Del estado Mérida-Venezuela.

RECOMENDACIONES

- Analizar un estudio de tamizaje fitoquímico y actividad antimicrobiana de la especie *Erythrina edulis* utilizando otras partes de la planta como: (hojas, flores, fruto), lo cual permita identificar otros metabolitos secundarios diferentes a los reportados en esta investigación.
- Realizar la obtención del extracto vegetal de la raíz de *Erythrina edulis* utilizando otros solvente y métodos de extracción distintos a los empleados en esta investigación que pudiera conferirle mayor actividad biológica.
- Evaluar la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en pozos.
- Determinar la actividad antioxidante y citotóxica de la raíz de *Erythrina edulis*, dado que existe diversos estudios previos que afirman que esta especie presenta dichas actividades, la cual pudiera ser aprovechada para la realización de futuras investigaciones.
- Es importante ampliar estudios sobre los extractos de la raíz de la especie *Erythrina edulis*, lo cual permitirá la incorporación de este recurso natural en el campo de la medicina natural.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRAFICAS

- Anon, A. (2003). Determination of minimum inhibitory concentration (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and Infection*, 9, (1), 14-18
- Arias, F. (2006). *El Proyecto de Investigación: Introducción a la Metodología Científica*. (5ª Ed). Caracas-Venezuela: Editorial Episteme.
- Ávalos, B. y Pérez, E. (2009). Metabolitos secundarios de plantas. *Revista Biológica Serie Fisiología Vegetal*, 2 (3), 119-145
- Avello, M. y Cisternas, I. (2010). Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Revista Médica de Chile*, 138 (10), 1288- 1293.
- Ávila, J., García, M., Gavillan, G., León, C., Méndez, S., Cendejas, G., Rodríguez, P., Vela, A., Mendoza, S., Santos, A y Soto, M. (2009). *Química orgánica experimental con un enfoque ecológico*. (2ª ed.). México: UNAM.
- Bauer, A., Kirby W., Sherris J., y Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45, 493-496.
- Barrios, A. (1988). *Bacteriología y Virología Básicas*. Trabajo de ascenso no publicado. Universidad de Los Andes, Mérida.
- Barrera, N. (1998). El Chachafruto, *Erythrina edulis*. Cuaderno de educación ambiental [Internet]. 1st ed. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Bata, L. (2014). Efecto de la actividad antimicrobiana de los extractos de flor de colorin (*Erithrina americana Miller*) sobre cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. (Trabajo de investigación para obtener el grado de Maestrías

- en Investigación Médica con Línea Terminal en Biomedicina).
Universidad Autónoma de Querétaro-Facultad de Medicina. México.
- Bedout, C. y Gómez, B. (2010). *Candida* y Candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. *Ifetio*, 14 (2), 159-171.
- Bioltif, E., Sase, J. y Tongkum, N. (2020). Phytochemical screening and review of the pharmacological importance of *Erythrina senegalensis*. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, 4 (3), 292-296.
- "Botanic Gardens and Plant Conservation". *Botanic Gardens Conservation International*.
- Bil, C., Lilechi, D. Mutai, C. y Oguyo, A. (2012). Análisis fitoquímico y actividad antimicrobiana de *Phytolacca dodecandra*, *Cucumis aculeatus* y *Erythrina excelsa*. *Revista internacional de ciencias biológicas y Química*, 6 (2), 692-704 Recuperado de <https://www.ajol.info/index.php/ijbcs/article/view/80616>
- Brooks, F., Carroll, C., Butel, S., Morse, A., y Mietznert, A. (2011). *Microbiología médica*. (25ª Ed). México: Mcgraw-Hill Intenamericana.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales*. Segunda edición. Zaragoza, España: Acribia.
- Bruneau, A. (1997). Evolution and homology of bird pollinationsyndromes in *Erythrina* (Leguminosae). *American JournalBotany* 84: 54-71
- Cabrera Y, Fernández, A. y Guerrero, L. (2005). Antibióticos naturales. Mito o realidad. *Revista cubana de medicina general integral*, 2 (4), 13-18.
- Cabrera, J. (2020). Identificación primaria de metabolitos secundarios de *Ulex europaeus* L retamo espinoso y su actividad biológica. [Tesis de grado] Universidad Lolo. México. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/97>

- Cañigual, S., Dellacassa, E. y Bandoni, A. (2003). Plantas medicinales y fitoterapia: ¿Indicadores de dependencia o factores de desarrollo? Acta. Framacia. Bonaerense, 22 (3), 265- 78.
- Castañeda, R., Gutiérrez, H., Carrillo, É., y Sotelo, A. (2017). Leguminosas (Fabaceae) silvestres de uso medicinal del distrito de Lircay, provincia de Angaraes (Huancavelica, Perú). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 16 (2), 136-149. ISSN: 0717-7917.
- Castrillón, W., Matulevich, J. Medina, J. y Rodrigo, L. (2021). Estudio fitoquímico y evaluación de la capacidad antioxidante de flores de *Senna spectabilis* obtenidas en la región andina Colombia. Rev. Cienc, 42 (3), 315-327
- Chitopoa, W., Muchachaa, I., y Mangoyi, R. (2019). Evaluation of the antimicrobial activity of *Erythrina abyssinica* leaf extract. J. Microb. Biochem. Technol, 11 (2), 43-46
- Daza, R. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud, 3 (3), 19-29.
- De la Parte, M., Brito, A. Guzmán, M. y Carmona, O. (2001). Resistencia de *Klebsiella penumoniae* a los antimicrobianos en Venezuela. Análisis de una década. Revista. Venezolana. Microbiología, 21 (2), 14-22
- Dominguez, X. (1979). Métodos de investigación Fitoquímica. México: Editorial Limusa.
- Elmogahzy, Y. (2020). Textiles de ingeniería. Tejidos con acabado antimicrobiano. Madrid: Editorial Scienc Diret.
- Estévez, A. y Gutiérrez, A. (2009). Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en S. XXI. Revista Académica Ciencias.103 (2), 409-419

- Fernández, M., Silva, P. Costa, M. Bruno, Y. y Galli, L. (2019). Evaluación del poder inhibitorio de extractos obtenidos de las plantas medicinales sobre enterobacterias patógenas de importancia en salud pública. *Aanlecta Veterinaria*, 39 (2), 30-40
- Forbes, B., Sahm, D., y Weissfeld, A., (2009). Bailey y Scott; Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires, Argentina: Medica Panamericana.
- García J, Cantón R. (2000). Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. *Procedimientos en Microbiología Clínica*.11:4-5
- García, M., Fernández, M. y Paredes, F. (1994). *Microbiología clínica práctica*. España: Ediciones EPUC.
- García, S., Rivas, C. y Verde. (2016). Metodología científica para el estudio de las plantas medicinales. En C. Rivas, M. Orandy y Verde, J. (Eds.), *Investigación en plantas de importancia médica*. (pp 1-40). Barcelona-España: OmniaScience.
- Gasaly, N., Gotteland, M. y Riveros, K. (2020). Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Revista Chilena de Nutrición*, 47 (2), 25-29
- Hart, C. (1998). La resistencia a los antibióticos, ¿un problema creciente? *Br Med J (Ed Latinoam)*; 6:147-8.
- Hernández, R., Fernández, C y Baptista, P. (2006). Metodología de la Investigación. México: Mc Graw Hill Interamericana.
- Hernández, J. A. Rodríguez, G. Acero, A. Juárez, A. y Rivera, N. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en medicina veterinaria. *Abanico veterinario*, 8 (1), 33-36
- Hernández, R. Fernández, C. y Baptista, P. (2010). *Metodología de investigación*. (5ª Ed). México: Editorial McGRAAW-HILL.

- Hurtado, J. (2010). El Cómo, o los procesos metodológicos de la investigación. En el proyecto de investigación, comprensión holística de la metodología y la investigación 6ª Ed., 9-162. Bogotá: Quirón.
- Hurtado, J. (2010). Guía para la comprensión holística de la ciencia. (3ª Ed). Caracas: Venezuela Fundación Sygal. 12 (1), 31-12.
- Hurtado, J. (2012). El Proyecto de Investigación. Séptima Edición. Venezuela.
- Horna, G., Silva, M. Taboada, V. y Ortiz, T. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Revista Médica Heredero, 16 (1), 39-45.
- Inciarte, I. Pérez, A. Hernández, E. Sandoval, C. Luna, F, Márquez, M. y Páez, O. (2015). Presencia del chachafruto (*Erythrina edulis* Triana ex Michelli) en el instituto Mérida, Venezuela. Ceditel, 9 (16), 111-134
- Jiménez, D., Márquez, R. Torres, C. y Pabón, A. (2016). Actividad antiplasmodial y antibacterial *in vitro* de extractos de la corteza de *Erythrina fusca* Lour (Fabaceae). Actividades biológicas, 38 (105), 139-144
- Kagale, S., Marimuthu, T. Thayumanavan, B, Nandakuman, R. y Samiyappan, R. (2004). Actividad antimicrobiana e inducción de resistencia sistémica en arroz por extractos de *Datura met* contra *Rhizoctonia solani* y *Anthonomus oryzae*. Patología fisiología y molecular de plantas, 65 (2), 91-100.
- Khaomek, P.; Ichino, C.; Ishiyama, A.; Sekiguchi, H.; Namatame, M.; Ruangrunsi, N. y Yamada, H. (2008). *In vitro* antimalarial activity of prenylated flavonoids from *Erythrina fusca*. Journal of natural medicines, 62 (2), 217-220.
- Krukoff, B. (1939). The American species of *Erythrina*. Brittonia, 3 (2), 205-337. ORTON.

- Lamarmaque, A., Zygadlo, J., Labucas, D., López, L., Torres, L., y Maestri, D. (2008). *Fundamentos teóricos prácticos de Química Orgánica*. Editorial Brujas México.
- Lewis G, Schire B, Mackinder B y Lock M. (2005). Legumes of the World. Roy Bot Gard Kew, 33 (1), 201-214.
- Loyola, C. (2016). Obtención de extractos, aislamiento y caracterización de metabolitos secundarios de *Erythrina edulis*. (Trabajo de investigación para optar el título de Bioquímico Farmacéutico). Universidad Técnica Particular de Loja Venezuela.
- LPWG. (2017). Phylogeny and classification of the Leguminosae A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon* 66 (1), 44–77
- Marcano, D. y Hasegawa, M. (2002). Fitoquímica orgánica. Universidad Central de Venezuela. Caracas: Ciencias.
- Maisuthisakul, P.; Pasuk, S. y Ritthiruangdej, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21 (3), 229-240
- Medina, D., Machado, M y Machado, J. (2015). Resistencia a antibióticos, una crisis global. *Revista Médica de Risaralda*, 3 (21), 122-667
- Mellado, E., Cuenca, C., y Rodríguez, J. (2002). Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los Hongos filamentosos a los antifúngicos. *Enfermedad Infecciosas de Microbiología Clínica*, 20 (10), 523-530.
- Miranda, M y Cuellar, A. (2000). Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana, Cuba: Editorial Félix Varela. 21: 12-18
- Mohammed, B., Sutramay, P., Ahmadi, F., Askani, S., Jambiga, T., Dharavath, S., Taduri S. (2023). Phytochemical screening and

- antibacterial activity of *Erythrina variegata* extracts of leaves, stems and roots. *Plant Development*. 30: 77-87.
- Montaño, N., Sandoval, A. Camargo, S. y Sánchez, J. (2010). Los microorganismos; pequeños gigantes. *Elementos: Ciencia y Cultura*, 17 (23), 15-23.
- Murray, P. Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2007). *Microbiología médica*. (5ª Ed). Madrid- España: ELSEVIER. 33 (1), 10-23.
- National Committee for Clinical Laboratory*. (1997). Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. *National Committee for Clinical Laboratory standards*, Villanova. 17 (1), 232-241
- OMS (1979) The selection of essential drugs. WHO Technical Report Series 641: 1-44
- Oliveros E. (2009). Estudio por espectrofotometría UV-VIS de la reacción entre los iones cianuro y picrato. Un ejemplo práctico de aplicaciones analíticas y estudios cinéticos. *Revista Colombiana de química*. 38 (1), 61-82
- Organización Mundial de la Salud. (2018). Programas de optimización de los antimicrobianos en instituciones sanitarias de los países de ingresos bajos y medianos. Manual Práctico de OMS.
- Organización Mundial de la Salud OMS, (2013). Las investigaciones en salud son fundamentales para avanzar hacia la cobertura sanitaria universal.
- Palella, S. y Martins, F. (2012). *Metodologías de la investigación cuantitativa*. Caracas-Venezuela: FEDUPEL.
- Palella, S. y Martins (2017). Técnica de recolección de datos. Séptima edición. Caracas-Venezuela: FEDUPEL.
- Panizo, M. y Reviàkina, V. (2001). *Candida albicans* y su efecto patológico sobre las mucosas. *Revista Sociedad Venezolana Microbiana*, 21 (2), 16-19

- Pardi, G. y Cardozo, E. (2002). Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de Candidiasis bucal. Acta Odontología Venezolana, 40 (1), 113-123
- Pascual, R., Pérez, Y. Morales, I. Castellano, T. y Gonzales, H. (2014). Algunas consideraciones sobre surgimientos y la evolución de la medicina natural y tradicional. Medical, 18 (10), 1444-1451.
- Pontón, J. (2008). La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. Revista Iberoamicrobiología, 25: 78-82.
- Preeti, K., Subhankar, K y Chadrawati, K. (2017). Análisis fitoquímico y actividad antibacteriana del *Erythrina variegata* L. (extracto de hoja). J. Curso Microbiología. App. Ciencia, 6 (6), 133-137
- Pino, R., Prieto, G., Pérez, R., Molina, T. (2004) Género *Erythrina*: Fuente de Metabolitos Secundarios con Actividad Biológica. Acta Farmacia Bonaerense 23 (2), 252-8
- Prisco, L. Reyes, M. Valencia, D. y Vesga, M. (2020). Screening de actividad biológica de extractos de *Erythrina edulis* (chachafruto). Efecto antimicrobiano, antioxidante y citotóxico. (Tesis de grado para obtener el título de especialistas en Terapéuticas Alternativas y Farmacología General). Fundación Universitaria Juan N. Corpas.
- Ramírez, L., y Cataño, M. (2009). Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia et Technica, 15 (42), 263-268.
- Ramírez, N., y Díaz, A. (2010). El mal uso de antibióticos genera resistencia. *Saber más*, 14(1). 4-5.
- Ramírez, A., García, E. Longa, A. Mosquera, N. Nieves, M. Araque, M, y Sánchez, K. (2010). Manual práctico de bacteriología general. (1ª Ed). Universidad de Los Andes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

- Rivas, C., Oranday, M., y Verde, M. (2016). Investigación en plantas de importancia médica. En D. García, C. Rivas y C. Leos. (Eds.) *Actividad antifúngica* (pp. 101-103). México: OmniaScience.
- Sánchez, F. (2022). Fitoquímica. México: Editorial FES Zaragoza México.
- Sánchez, E., Castillo, S. y García, P. (2016). Actividad antimicrobiana. En C. Rivas, M. Oranday y M. Verde. (Eds.), Investigación en plantas de importancia médica. 77-100. Barcelona- España: OmniaScience.
- Sánchez, A., Gonzales, T. Ayola, T. Martínez, Z. y Pacheco, N. (2017). ¿Qué son los microbios? *Ciencia*, 68 (2), 21-25
- Santiago, D., y Contreras, L. (2020). Actividad antibacteriana de los extractos de *Tradescantia zebrina* En cepas grampositivas y gramnegativas. Trabajo de grado II. Universidad de Los Andes, Mérida.
- Santizo, I. (2004). Identificación de la familia de metabolitos secundarios en *Mirica cerífera*. (Trabajo de grado para obtener el título de Químico Biólogo). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de ciencias químicas y farmacia-Guatemala.
- Tejeda, L., Meza, P. Altamiranda, D. y Berrocal, M. (2014). Uso del extracto de plantas como inhibidores de corrosión. *Informador Técnico*, 78 (2), 155-164.
- Torres, J., León, J., Tomas, G. (2017). Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray arrayán frente a patógenos de origen clínico. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 37 (1), 10-16.
- Tortora, G., Carroll, Funke, B. y Case, C. (2007). Introducción a la microbiología (9ª Ed). Buenos Aires- Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Villafuerte, F., Perez, E., Mahfou, A., Valero, Y., Enriquez, M., Yanez, K. (2018). Characterization Of *Erythrina Edulis* Triana And Obtaining Protein Isolate. 1st ed.

- Velázquez, L. (2008). Farmacología básica y clínica. Buenos Aires; Madrid: Medica Panamericana.
- Velásquez, L., Montoya, D. Jiménez, A, Murillo, W. y Méndez, J. (2019). Género *Erythrina*: en la investigación y perspectivas de desarrollo científico (Trabajo de investigación). Universidad de Tolima Peru.
- Watson, L.; Dallwitz, M. (2007) «Leguminosae». The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval.
- Westram, J. (2005). Bacteriología Clínica. Disponible en <https://books.google.co.ve/books?id=Z6onofK2TOEC&printsec=frontcover&dq=Struthers,+.+Ba>
- Worku, F. (2021). In Vitro Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of Leaf Extracts of *Erythrina* Species. J Biochem Cell Biol 4: (1); 2-7

www.bdigital.ula.ve