



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



**ENSAYO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Platymiscium pinnatum* CONTRA CEPAS
BACTERIANAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS**

Trabajo de grado presentado ante la ilustre Universidad de Los Andes para
optar al título de Licenciado en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autor:

Jackelis Carolina Abreu Herrera

C.I: V-26.094.160

Tutor (a):

Dra. Johanna C. Hernández M.

Mérida, Diciembre de 2023

DEDICATORIA

Para mí es un orgullo y un enorme placer dedicarle este trabajo de grado a varias personas que fueron pilares y ejemplo a seguir durante este largo trayecto e importante etapa de mi vida.

Primeramente, a Dios. Por haberme enseñado lo que es la misericordia, la esperanza y el amor. Además, por haberme dado la fuerza para seguir adelante con mis propósitos y traerme a este mundo bajo el cuidado y el infinito amor de unos padres maravillosos.

A mi amada madre, Karelis Herrera, por ser mi amiga, mi refugio y apoyo incondicional. Eres una guerrera y una fuente de inspiración, el mejor ejemplo de humildad. Estoy muy orgullosa de ser tu hija. Te amo infinitamente.

A mi padre, Javier Abreu, por ser mi motor todos los días. Por su sacrificio y esfuerzo por darme una carrera para mi futuro, por siempre creer en mi capacidad, ser la fuente de mi motivación y por sus palabras de aliento. Te amo papá.

A ambos, les dedico este logro de muchos más, por su sacrificio, amor, entrega y por enseñarme a valorar todo lo que tengo y lo que soy. Gracias a ustedes, culmino esta meta y este sueño académico. Jamás me va alcanzar la vida para agradecerles.

A mi hermanito, Omar González, porque desde que llegaste a nuestras vidas nos has enseñado amar sin condiciones, límites o prejuicios. Dios tiene un propósito para cada uno de nosotros en esta tierra y estoy segura que el tuyo es hacernos felices.

A mis abuelas, Marfa Herrera y Elda Briceño, por su apoyo incondicional, su amor invaluable y su confianza en mí. Son una gran bendición de Dios, que dan muestra de las buenas cosas que una nieta tiene para agradecer. Las quiero.

Finalmente, a mí misma. Por nunca darme por vencida aun en los momentos en que desee desistir. Dios tiene buenas cosas preparadas para nosotras.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme la sabiduría, la fortaleza, el consejo y por ayudarme a vencer todos los obstáculos que se me presentaron a lo largo de este camino.

A mis Padres, por sus consejos, cariño y afecto. Gracias por forjarme con buenos valores que hoy día me representan como persona, por brindarme la oportunidad de tener una educación de calidad y por ser el estímulo del cumplimiento de mis objetivos que significan alegría y orgullo para mí y también para ellos.

A mi hermanito, Omar González por ser esa chispa de alegría en todo momento.

A mi tía, Karina González, mi madrina Carolina Urdaneta y mi tía Carolina González por su apoyo, confianza, paciencia y ánimo para culminar esta etapa de mi vida.

A mi tutora, la profesora Johanna Hernández, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también por haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis, sin su ayuda no hubiese podido llegar a este momento tan anhelado.

A todos aquellos docentes que dan vida a la facultad, quienes, con amor y entrega, comparten toda su sabiduría, sin nada a cambio, En especial a quienes aportaron un granito de esperanza en mi travesía universitaria: Rossy Ramírez, Jhender Fernández, Clarita Díaz, Sarai Dugarte, Rima Bahsas, Ysheth Millán, y el profe tóxico Julio Rojas. Asimismo, a las profesoras del Instituto quienes me transmitieron los conocimientos necesarios para llevar adelante este trabajo de grado: Ysbelia Obregón,

Yndra Cordero, Alida Pérez, Rosa Aparicio y el Señor Emilio Salazar, gracias por su aporte y compromiso para formar profesionales de calidad.

Al profesor Jesús Velázquez de la Universidad Nacional Experimental de Guayana por la donación de la corteza de *Platymiscium pinnatum*.

A María Rosa Rondón, quien sin esperar nada a cambio compartió sus conocimientos, alegrías, tristezas, sus chistes malos mientras redactaba cada capítulo, y sueños conmigo. A Andy Rosales, por su cariño, abnegación y ayuda incondicional. Igualmente a todos mis compañeros de carrera que durante todo este camino compartieron este sueño conmigo. Gracias por las horas compartidas, los trabajos realizados en conjunto y las historias vividas.

Agradecimientos a la Universidad de Los Andes, la cual me abrió sus puertas, en especial a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, por brindarme sus espacios e inculcar valores académicos, profesionales y humanos para mi formación, siempre me sentiré orgullosos de ser Ulandino.

Finalmente, a todas aquellas personas que siempre estuvieron a mi lado en las buenas y en las malas.

Jackelis Carolina Abreu Herrera

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA.....	3
Planteamiento del Problema.....	3
Justificación de la Investigación.....	5
Objetivos de la Investigación.....	6
Objetivo General.....	6
Objetivos Específicos.....	6
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	7
Alcances de la Investigación.....	7
Limitaciones de la Investigación.....	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	8
Trabajos Previos.....	8
Antecedentes Históricos.....	11
Bases Teóricas.....	13
Familia Fabaceae.....	13
Género <i>Platymiscium</i>	16
<i>Platymiscium pinnatum</i>	19
Productos Naturales.....	23
Extractos Vegetales.....	29
Preparación de los Extractos.....	29
Ensayo Fitoquímico.....	31
Generalidades de las Bacterias.....	33
Bacterias Gram Positivas.....	36

ÍNDICE DE CONTENIDO (Continuación)

Bacterias Gram Negativas.....	36
Microorganismos Patógenos.....	37
Antibióticos.....	41
Actividad Antibacteriana.....	43
Método de Difusión en Agar por Disco (Kirby-Bauer).....	44
Métodos de Dilución.....	45
Definición Operacional de Términos.....	47
Operacionalización de las Variables.....	49
Hipótesis.....	52
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO.....	53
Tipo de Investigación.....	53
Diseño de Investigación.....	53
Población y Muestra.....	54
Unidad de Investigación.....	54
Selección del Tamaño de la Muestra.....	54
Sistema de Variables.....	54
Instrumento de Recolección de Datos.....	55
Procedimiento de la Investigación.....	55
Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en los extractos de <i>Platymiscium pinnatum</i>	56
Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de la corteza de <i>Platymiscium pinnatum</i>	58
Preparación de pre-inóculos Bacterianos.....	59
Preparación del Inóculo Bacteriano.....	59
Preparación de las Placas.....	59
Preparación de los Discos.....	59

ÍNDICE DE CONTENIDO (Continuación)

Diseño de Análisis.....	60
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	61
Resultados.....	61
Ensayo Fitoquímico Preliminar.....	62
Evaluación de la Actividad Antibacteriana.....	65
Discusiones.....	69
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	73
Conclusiones.....	73
Recomendaciones.....	74
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS.....	75

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Compuestos aislados de la Familia Fabaceae.....	16
Figura 2. Flores del Género <i>Platymiscium</i>	17
Figura 3. Metabolitos aislados del Género <i>Platymiscium</i>	19
Figura 4. <i>Platymiscium pinnatum</i>	20
Figura 5. Corteza del <i>Platymiscium pinnatum</i>	20
Figura 6. Disposición de las Flores.....	21
Figura 7. Estructura química del Fenol.....	25
Figura 8. Estructura química de Flavonoides.....	25
Figura 9. Estructura química del Isopreno.....	26
Figura 10. Estructura química de la Saponina.....	27
Figura 11. Estructura química del Indol.....	27
Figura 12. Estructura química de los Taninos condensados.....	28
Figura 13. Pared Celular de las Bacterias Gram Positivas y Gram Negativas.....	37
Figura 14. <i>Staphylococcus aureus</i> en microscopia electrónica...	38
Figura 15. Frotis con tinción de Gram de <i>E. faecalis</i>	39
Figura 16. Cultivo de <i>Klebsiella pneumoniae</i> en Agar MacConkey.....	39
Figura 17. <i>Escherichia coli</i> en Microscopia electrónica.....	40
Figura 18. <i>Pseudomona aeruginosa</i> en Microscopia Electrónica.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción taxonómica de la familia Fabaceae.....	15
Tabla 2. Descripción taxonómica del <i>Platymiscium pinnatum</i>	22
Tabla 3. Operacionalización de la Variable Independiente.....	50
Tabla 4. Operacionalización de la Variable Dependiente.....	51
Tabla 5. Peso de la corteza de la planta, junto al peso del extracto, para obtener el porcentaje de rendimiento.....	61
Tabla 6. Reporte de los resultados del ensayo fitoquímico del extracto de la corteza <i>P. pinnatum</i>	62
Tabla 7. Reporte ilustrado de los resultados positivos del ensayo fitoquímico del extracto de <i>Platymiscium pinnatum</i>	63
Tabla 8. Resultados de la determinación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de <i>Platymiscium pinnatum</i>	65
Tabla 9. Reporte ilustrado de los de los resultados de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de <i>Platymiscium pinnatum</i>	66



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



LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: PRODUCTOS NATURALES

ENSAYO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Platymiscium pinnatum* CONTRA CEPAS BACTERIANAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS

Autor:

Jackelis Carolina Abreu Herrera

C.I: V-26.094.160

Tutor (a):

Prof. Johanna C. Hernández M.

RESUMEN

Platymiscium pinnatum, comúnmente conocido en Venezuela como roble blanco, es considerado una especie de hábitat arbórea perteneciente a la familia Fabaceae, rico en metabolitos de tipo flavonoides, isoflavonoides, pterocarpanos y cumarinas, los cuales han reportado una variedad de actividades biológicas como: estrogénicas, antioxidantes, antibacterianas y anticancerígenas. El objetivo de la investigación fue: Confirmar la actividad antibacteriana y la composición química del extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum* en cepas bacterianas Gram Positivas y Gram Negativas. El extracto etanólico fue obtenido mediante la técnica de reflujo en caliente, consecutivamente fue sometido a pruebas químicas preestablecidas para el análisis de su composición química mediante el ensayo fitoquímico, alcanzando la identificación de algunos metabolitos secundarios tales como: alcaloides, triterpenos, fenoles, flavonoides y cumarinas. Asimismo, la actividad antibacteriana se determinó mediante el método de difusión en agar por disco (Kirby-Bauer); con una concentración de 10 mg/mL del extracto etanólico, donde se confirmó que dicho extracto presentó actividad contra las cepas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, con halos de inhibición de 7 mm de diámetro. Sin embargo, no presentó actividad alguna con *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Cabe destacar que este es el primer reporte en Venezuela.

Palabras claves: *Platymiscium pinnatum*, actividad antibacteriana, ensayo fitoquímico.

INTRODUCCIÓN

Desde sus inicios, el hombre ha tratado de reducir sus sufrimientos con la utilización de medios a su alcance y el reino vegetal ha sido siempre el principal distribuidor de remedios en todas las culturas. Las civilizaciones antiguas, mesopotámica, egipcia, china, india, precolombina, africana, tienen una extensa colección de remedios vegetales que constituyen una farmacopea impresionante. Poco a poco, el hombre ha ido comprobando ciertas utilidades de las plantas al igual que su toxicidad. Es este conocimiento empírico tradicional el que ha dado paso al estudio científico de las plantas (Berdonces, 2003).

Por lo tanto, el estudio de los compuestos químicamente diversos presentes en los extractos de las plantas han sido vinculados a la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas que reduzcan, inhiban y en muchos casos eliminen el desarrollo y propagación de algunas especies de bacterias (Martín, 2018). Con el propósito, de poder combatir la prevalencia de ciertas enfermedades infecciosas y la creciente resistencia de las bacterias a los antimicrobianos. En este sentido, se podría promover, mantener y garantizar la salud individual y colectiva de las personas (Miranda, Espinosa, Centurión, Velázquez y Alor, 2012).

Bajo estas expectativas, el *Platymiscium pinnatum* es un árbol leguminoso mediano que se caracteriza por presentar un fuste recto, duro, con hojas compuestas que exhiben flores numerosas de color amarillo y naranja, con una corteza de color gris claro o blanco grisáceo, fisurada y longitudinalmente inerte (Devia, Moncaleano y Niño, 2014; Klitgaard, 2005). Con un ámbito de distribución que va desde México, América Central, Colombia y Venezuela (Román, De Liones, Sautu, Deago y Hall, 2012). Aunque, mayormente reconocido en el mercado maderero, en la fabricación

de muebles, gabinetes e instrumentos musicales (Xena y Angostini, 1987; López y Cárdenas, 2002)

El género *Platymiscium* posee una gran variedad de actividades biológicas y/o fitoalexinas para defenderse de los depredadores. Pues bien, investigaciones fitoquímicas sugieren la presencia de metabolitos secundarios de tipo flavonoides, Isoflavonoides, pterocarpanos y cumarinas en sus extractos (Veloso, Pimenta, de Sousa, Falcão, Gramosa, da Silva, Silveira y Lima, 2012). En efecto, los extractos de *Platymiscium* podrían presentar efectos antigastritis, anticancerígena, antidiabética, anti-VIH. De igual manera, ayudar a prevenir trastornos posmenopáusicos, quimiopreención de la osteoporosis y actividades cardiovasculares (Sannomiyaa, Ninga, Pereira, Lima y Honorio, 2018). Lamentablemente la explotación maderera y su uso excesivo ha reducido drásticamente la población de especies de *Platymiscium* por lo que existen pocos estudios sobre la composición química, propiedades biológicas y farmacológicas del *Platymiscium pinnatum* (Cuellar, Martínez, Rojano, Gil y Durango, 2020).

El presente trabajo está estructurado siguiendo las normas APA, organizado en cinco capítulos: Capítulo I, denominado El Problema, conformado por el Planteamiento del Problema, Justificación, Elaboración de los Objetivos, Alcances y Limitaciones de la Investigación. Capítulo II, conformado por los Trabajos Previos; Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Definición Operacional de Términos, Operacionalización de las Variables e Hipótesis. Seguidamente, el Capítulo III; Marco Metodológico, relacionado con el Tipo de Investigación, Diseño, Población y Muestra, Unidad de Investigación, Selección del Tamaño de la Muestra, Sistema de Variables, Instrumentos de Recolección de Datos, Procedimiento de la investigación y Diseño de Análisis. Asimismo, el capítulo IV titulado como Resultados y Discusiones, y el capítulo V titulado y conformado por, Conclusiones y Recomendaciones.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

En la actualidad, el uso indiscriminado de los antibióticos y la capacidad de las bacterias de desarrollar mecanismos para eludir la acción antibacteriana ha aumentado significativamente, lo que ha puesto en riesgo a todas las naciones. Es por esta razón, que la investigación de nuevos fármacos y estrategias de prevención se han visto afectadas; de ahí cada vez son mayores los fracasos terapéuticos, la morbimortalidad y los costos; bajo esta perspectiva, la resistencia a los antimicrobianos se considera un problema de salud pública (Bisso, 2018).

Del mismo modo, se debe acotar que el descubrimiento de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos, surgió poco después del inicio del uso de la penicilina (Martin, 2002). En base a ello, hubo un aumento exponencial en la tasa de descubrimiento de nuevos antibióticos. Sin embargo, la introducción de los mismos dio lugar al desarrollo de nuevos mecanismos resistentes a dichos antibióticos (Cardenas, Castillo, De Camara y González, 2018). Sumado a ello, según la Organización Mundial de la Salud (2021), hubo un incremento de las resistencias como consecuencia del uso excesivo de antibióticos a raíz de la aparición del COVID-19.

Por esta razón, esta situación ha dado como resultado la necesidad imperante del desarrollo de terapias alternativas a los antibióticos convencionales (Cardenas y cols., 2018). Existen reportes en la literatura que hay numerosas investigaciones encaminadas a la búsqueda de nuevos compuestos con actividades biológicas a partir de fuentes naturales (Avellaneda, Rojas, Cuéllar y Fonseca, 2005). El estudio científico de las

plantas medicinales es una fuente relevante para el descubrimiento de nuevos fármacos (Vivot, Sánchez, Cacik y Sequin, 2012). Aunque, uno de los problemas más comunes es que existen plantas medicinales que tienen una actividad antimicrobiana conocida por la población, pero no han sido analizadas a fondo, para determinar cuáles son sus beneficios, pasando muchas veces desapercibidas (Azüero, Jaramillo, San Martín, y D'Armas, 2016).

Venezuela por ser un país ubicado en el trópico presenta una amplia biodiversidad en flora que alberga especies botánicas pertenecientes a diferentes familias, que en su mayoría no han sido estudiadas. Entre ellas, la familia Fabaceae, comprende 770 géneros y más de 19.500 especies que son de importancia etnobotánica y algunas de estas plantas presentan potencial actividad biológica (Owais, Ahmad, Rehman, Mumtaz, Bilal y Arshad, 2018).

En esta investigación, se llevó a cabo el estudio del potencial antibacteriano de los metabolitos secundarios presentes en la especie *Platymiscium pinnatum*, para lo cual, se procedió a la evaluación fitoquímica de esta especie y su posible capacidad antibacteriana frente a bacterias Gram Positivas y Gram Negativas, con la finalidad de brindar información segura y verificada de la existencia de posibles fármacos que contrarresten la resistencia. Una vez descrita la situación actual del problema; la autora de la investigación se formuló el siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál será la relación que existe entre la composición química de los extractos obtenidos de la corteza de *Platymiscium pinnatum* y la actividad antibacteriana frente a cepas bacterianas Gram Positivas y Gram Negativas?

Justificación de la Investigación

Desde la antigüedad el ser humano ha buscado remedios con los que aliviar y prevenir ciertos procesos infecciosos, así como también disminuir algunas de sus manifestaciones sintomatológicas, como la fiebre o el dolor, mediante la ingestión de plantas medicinales. El uso de estas plantas pudo haberse originado por la observación de animales que reunían plantas, o que comían determinadas hierbas cuando sufrían de algún mal específico. Poco a poco se fueron señalando propiedades a las plantas, ya fuesen de sus flores, cortezas o raíces, surgiendo así los primeros registros del uso de hierbas para tales fines (Mesa, 2017).

En efecto, las plantas superiores son una fuente de millones de moléculas, con una gran variedad de estructuras diferentes que pueden presentar funciones específicas para las mismas, pero que también representan un depósito de moléculas con importante actividad biológica útil para la sociedad (Mesa, 2017). Estas moléculas conocidas como metabolitos secundarios tienen la capacidad de defender a la planta contra depredadores y patógenos, inhibiendo el desarrollo de insectos, nematodos, hongos y bacterias. Asimismo, administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades de los hombres y de los animales en general (Gallegos, 2016).

Por tal motivo, las especies vegetales han constituido la principal fuente de medicamentos para tratar distintas enfermedades y en la actualidad son objeto de estudio en diferentes áreas científicas, debido a que juegan un papel significativo en el descubrimiento y desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas (Sierra y León, 2019). Al mismo tiempo, son apreciados por su bajo costo y por los reducidos índices de toxicidad, en comparación con los productos de síntesis (Gallegos, 2016).

En conclusión, el alcance de este recurso ha conllevado a la lucha contra el incremento constante de bacterias multirresistentes, producto del mal uso y abuso de antibióticos y a los patrones de resistencia intrínseca de las bacterias (Cárdenas y cols., 2018). Así como también, ofrece una opción asequible para el 80% de la población mundial que tiene dificultades económicas para acceder a los medicamentos comerciales, reduciendo la tasa de morbimortalidad a nivel mundial (Velasco, Pabón y Hernández, 2019).

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la actividad antibacteriana y la composición química del extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum* en cepas bacterianas Gram Positivas y Gram Negativas.

Objetivos Específicos

- Obtener el extracto de la corteza de *Platymiscium pinnatum*, mediante el método de reflujo en caliente, utilizando como disolvente el etanol.
- Determinar la composición química del extracto de la corteza de *Platymiscium pinnatum* mediante pruebas cualitativas preliminares.
- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto de *Platymiscium pinnatum* mediante el método de difusión en agar con discos (Kirby-Bauer) en cepas bacterianas Gram Positivas y Gram Negativas.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

El alcance de esta investigación se relacionó con la profundidad con la que se abarcó el tema de estudio durante el proceso de investigación. Además, es un evento de estudio que se puede investigar desde varios grados de elaboración, tales como; exploratorio, descriptivo, analítico, comparativo, explicativo, predictivo, proyectivo, interactivo, confirmatorio y evaluativo (Hurtado, 2010). En este sentido, el alcance de esta investigación fue confirmar la actividad antibacteriana y la composición química del extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum* en cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas, para la búsqueda de estrategias terapéuticas de origen vegetal como alternativa a la creciente problemática de resistencia bacteriana.

Limitaciones de la Investigación

En cuanto a las limitaciones de esta investigación es importante considerar los aspectos relacionados con las teorías, los trabajos previos que la sustentan y el presupuesto disponible para realizar la investigación. Específicamente, en esta fase de proyecto el principal factor limitante fue la escasa documentación existente de la planta, ya que su género y especie han sido poco estudiados. Asimismo, limitaciones de algunos servicios básicos como el servicio eléctrico, el transporte, e internet y el presupuesto; influenciado a la crisis económica del país.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Okoli, Umaru y Olawale (2022), desarrollaron un trabajo de investigación titulado: Detección fitoquímica, efecto antibacteriano y actividad antioxidante del extracto etanólico de corteza de *Pterocarpus erinaceus*, el objetivo principal fue: Determinar la composición fitoquímica, el efecto antibacteriano y la actividad antioxidante de la corteza de *Pterocarpus erinaceus*, el método utilizado para el análisis y la cuantificación de los fitoquímicos fue por cromatografía de gases con detector de ionización de llama, por sus siglas en inglés: GC-FID y la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de *Pterocarpus erinaceus* se llevó a cabo por el método de difusión en pozo de agar contra bacterias tales como: *Staphylococcus aureus*, *Bacilo subtilius*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Asimismo, emplearon la Gentamicina como control positivo. De esta manera, el resultado que lograron obtener fue el siguiente: el análisis cromatográfico reveló flavonoides, alcaloides, esteroides y taninos. El extracto etanólico de la corteza de *P. erinaceus* exhibió una actividad antibacteriana significativa contra las cepas bacterianas seleccionadas en las concentraciones probadas (0,1; 0,15 y 0,2 mg/mL); En este orden de ideas, respecto a la concentración de 0,1 mg/mL del extracto, produjo halos de inhibición con diámetros de 2,20 mm en *Bacilo subtilius*, 3,47 mm en *Escherichia coli*, 1,53 mm en *Pseudomonas aeruginosa* y 0 mm *Staphylococcus aureus*. En el caso de la concentración de 0,15 mg/mL, originó halos de inhibición con diámetros de 5,57; 4,57; 3,30 y 0 mm, correspondientemente. Finalmente, con la concentración de 0,2 mg/mL del extracto, se produjo halos de inhibición con diámetros de 8,10 mm en *Bacilo subtilius*, 8,8 mm en *Escherichia coli*, 7,10

mm en *Pseudomonas aeruginosa* y 2,80 mm en *Staphylococcus aureus*. Los autores concluyeron que el extracto etanólico de la corteza de *P. erinaceus* contenía compuestos farmacológicamente activos.

Seguidamente, Mphande, Kataba, Muzandu y Gono-Bwalya (2022) en su trabajo de investigación titulado: Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de la corteza de *Pterocarpus tinctorius* contra bacterias entéricas causantes de gastroenteritis, el objetivo principal fue: Evaluar la actividad antibacteriana del extracto de corteza de *Pterocarpus tinctorius* contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, y *Shigella dysenteriae*. En este estudio, se utilizó la técnica de maceración continua en frío para la preparación de los extractos metanólicos, seguido de la partición de dicho extracto crudo para obtener subextractos de hexano, cloroformo y metanol. El análisis fitoquímico cualitativo de los extractos de la corteza de *Pterocarpus tinctorius* reveló la presencia de fenoles, flavonoides, taninos y saponinas. Asimismo, la actividad antibacteriana de los extractos y fracciones se realizó mediante el método de difusión en pozos de agar, por lo tanto, los pozos se llenaron con 50 µL de los subextractos de hexano, cloroformo y metanol a una concentración de 100 mg/mL y 200 mg/mL. De esta manera, el resultado que obtuvieron fue el siguiente: El subextracto de metanol mostró actividad antibacteriana contra *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* *Escherichia coli*, con zonas de inhibición media de 12,3; 11,9; 8,3 mm, respectivamente. El subextracto de cloroformo solo mostró actividad antibacteriana en *Shigella dysenteriae* con zonas de inhibición media de 10 mm, mientras que el subextracto de hexano no mostró actividad antibacteriana contra ninguna de las bacterias probadas. Todos los subextratos anteriores a una concentración de 100 mg/mL. Seguidamente, el subextracto metanólico mostró actividad antibacteriana contra *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, con zonas de inhibición 14,3; 13,7 y 12,2 mm, correspondientemente. El subextracto de cloroformo solo mostró actividad

antibacteriana en *Shigella dysenteriae* con zonas de inhibición media de 11,2 mm y finalmente el subextracto de hexano tampoco mostró actividad antibacteriana contra ninguna bacteria. Todos los subextratos anteriores a 200 mg/mL. Los resultados de este estudio apoyan el uso de *Pterocarpus tinctorius* en la medicina tradicional.

Finalmente, Cuellar, Martínez, Rojano, Gil y Durango (2020), en su trabajo de investigación: Composición química, actividad antioxidante y antibacteriana de *Platymiscium gracile* Benth: Una especie en peligro de extinción, tuvieron como objetivo principal: Analizar la composición química, actividad antioxidante y antibacteriana de *P. gracile*. El método utilizado para la preparación de los extractos de la corteza fue por percolación usando n-hexano, acetato de etilo y metanol. Para el ensayo microbiológico, emplearon el método de difusión en disco de los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de la corteza de *P. gracile*, contra cuatro cepas bacterianas; *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*, donde el control positivo fue la Ampicilina® y los extractos se encontraban en diferentes concentraciones (1 y 0,1 %). Los autores obtuvieron como resultados, que la actividad antibacteriana del extracto de hexano al 1% provocó halos de inhibición en *E. coli* de 11 mm, en *S. aureus* de 12 mm, en *B. cereus* de 9 mm y en *E. faecalis* de 7 mm. Asimismo al 0,1% produjo halos de inhibición de 10, 9, 8 y 7 mm, correspondientemente. El extracto de acetato de etilo al 1% originó halos en *E. coli* de de 8 mm, en *S. aureus* de 7 mm, en *B. cereus* de 9 mm y en *E. faecalis* de 8 mm. Al 0,1% se reportaron halos de inhibición 8 mm, 7 mm, 8 mm, 7 mm, respectivamente. Finalmente, la actividad antibacteriana del extracto de metanol al 1%, obtuvieron halos de inhibición de 9 mm en las especies *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* y 8 mm en *E. faecalis* y al 0,1% halos de 9, 9, 9 y 7 mm, respectivamente. Además, en cuanto a la investigación fitoquímica de los extractos activos condujo a la identificación de una chalcona, una flavanona, un triterpeno, una isoflavona y

tres pterocarpanos, lo que ha informado que muestra una amplia gama de propiedades biológicas y farmacológicas.

Antecedentes Históricos

Es de resaltar que el ser humano desde su origen ha procurado su bienestar y en gran parte lo ha encontrado en la naturaleza, en muchos casos, asociado al pensamiento mágico-religioso, el espontáneo, el empírico y el científico (Sierra y León, 2019; Cortez, Macedo, Hernández, Arteaga, Espinosa y Rodríguez, 2004). En este sentido, el estudio científico y el uso adecuado de las sustancias de origen natural con fines terapéuticos, ha sido sin duda tan antiguo como la astronomía, la física y la medicina (Cortez y cols., 2004). Pues bien, durante milenios las especies vegetales han constituido la principal fuente de metabolitos secundarios, con una gran variedad de estructuras diferentes que pueden presentar funciones específicas para las plantas, pero que también pueden tener actividades útiles para el ser humano por lo que son objeto de estudio en diferentes áreas del conocimiento científico, debido a sus aplicaciones y usos (Mesa, 2017).

No obstante, para llegar a este descubrimiento las sociedades antiguas empleaban de manera empírica y a base de prueba y error muchas plantas para aliviar malestares, desinfectar heridas y prevenir ciertos procesos infecciosos (Sierra y León, 2019). En consecuencia, los registros más antiguos del uso de las plantas inician con ideogramas sumerios, datados aproximadamente 2500 años a.C., quizás uno de los primeros documentos detallados es el Código de Hammurabi, rey de Babilonia (1730 - 1685 a.C.), el cual contiene numerosas referencias sobre el uso de plantas que hasta nuestros días siguen siendo utilizadas (Cortez y cols., 2004).

Por otro lado, Teofrasto (300 a.C.), llamado el “padre de la botánica” es reconocido por sus observaciones y escritos relacionados con las cualidades medicinales de las hierbas (Repici, 2003). Asimismo, el Sueco Scheele preparó el camino para el aislamiento de los ácidos orgánicos a partir de las plantas y demostró la importancia de una nueva clase de sustancias orgánicas denominadas alcaloides, gracias a esto la farmacia empezó a diferenciarse de la medicina (Marek, 2011).

Sin embargo, la investigación de las plantas y sus potencialidades biológicas comenzaron con Claude Bernard, que junto con Louis Pasteur (1822–1895) revolucionaron el concepto de los anti-infecciosos con el descubrimiento del mundo de los microorganismos (Rosenfeld, 2002). Además con Alexander Fleming con la penicilina dieron un giro espectacular a la terapéutica y a la farmacología (Macnalty, 1955). Posteriormente las primeras investigaciones de sustancias de plantas con actividad antibacteriana comenzaron hace más de 70 años, ya en 1949 se conocían algunas (Florey, 1949).

Por eso, es importante mencionar que entre los años 1998 y 2005, estudios realizados en el género *Platymiscium* han informado que contiene metabolitos como; pterocarpos, isoflavonoides y cumarinas con propiedades antimicrobianas (Reyes, Gómez, Moreno, Jiménez, y Quiroz, 1998; Falcão, Pouliquem., Lima, Gramosa, Costa, Militão, Pessoa, De Moraes, y Silveira, 2005). Sin embargo, existen pocos estudios sobre su composición química, propiedades biológicas y farmacológicas (Veloso y cols., 2012; Vila-Nova, de Moraes, Falcão, Alcantara, Ferreira, Cavalcanti, Vieira, Campello y Wilson, 2013). En consecuencia, se debe dar prioridad a la investigación química de especies en peligro de extinción, puesto que su pérdida conduciría a la carencia permanente de potenciales farmacológicos y nuevos usos químicos (Zhou, Oh, Li, Kim, Lee, y Na, 2013). En efecto, muchas de ellas se emplean como materia prima para la fabricación de medicamentos semisintéticos más

complejos y tales principios se pueden utilizar como marcadores taxonómicos en la búsqueda de nuevos medicamentos (Bermúdez, Oliveira y Velázquez, 2005).

Bases Teóricas

Familia Fabaceae o Leguminosae

La familia Fabaceae es considerada una de las familias más grandes y diversas del mundo dentro de la botánica, debido a su gran variabilidad morfológica, fisiológica y ecológica. Además, son plantas ampliamente reconocidas por su importancia económica y cultural, vinculada a la seguridad alimentaria, provisión de servicios y fuentes nutracéuticas (Castañeda, Gutiérrez, Carrillo y Sotelo, 2017). Las Fabáceas comprenden formas de vida como árboles, arbustos, hierbas perennes o anuales y plantas en cojín (Cantero, Núñez, Bernardello, Amuchastegui, Mulko, Brandolin, Palchetti, Iparraguirre, Virginil, y Ariza, 2019). Aunque la primordial característica reside en la tenencia de un tipo de fruto seco, generalmente dehiscente, pluriseminado conocido como legumbre. De hecho, es la característica que le da el nombre también de familia Leguminosae y además por eso se denomina comúnmente “legumbres” a las especies con frutos comestibles (Llamas y Acedo, 2016).

Sumado a ello, está compuesta por unos 770 géneros y 19.500 especies e integrada por seis subfamilias: Cercidoioideae, con 12 géneros y aproximadamente 355 especies, Detarioideae, con 84 géneros y 760 especies aproximadamente. Duparquetioideae, subfamilia monotípica. Dialioideae, la cual abarca 17 géneros y cerca de 85 especies. Caesalpinioideae, consta de 148 géneros y 4400 especies aproximadamente

y Papilionoideae, con 503 géneros y 14000 especies (Tabla 1) (Tarazona, Valdez Lezama, 2022).

De acuerdo a la necesidad de esta clasificación de subfamilias se plantean importantes temas sobre el mejor enfoque para nombrar los clados dentro de las mimosas. Las nuevas filogenias de muchos grupos de leguminosas han demostrado inequívocamente las insuficiencias de las clasificaciones tribales (Lewis, Schrire, Mackinder y Lock, 2005) debido a la no monofilia de la mayoría de las tribus tradicionalmente reconocidas (The Legumene Phylogeny Working Group, 2017). Además, sigue habiendo dudas sobre la monofilia y la ubicación de varios géneros, con una incertidumbre considerable en torno a la delimitación genérica y las relaciones. Sin embargo, se están realizando numerosos estudios filogenéticos y se revisarán las clasificaciones tribales de subfamilias en un futuro próximo. Por lo tanto, dado que los principales grupos dentro de las subfamilias antes mencionadas siguen estando mal resueltas, los autores de esta nueva clasificación se abstienen de establecer una nueva clasificación tribal y/o por clados (The Legumene Phylogeny Working Group, 2017).

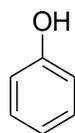
Del mismo modo, las Fabáceas se encuentran distribuidas de forma cosmopolita en todos los biomas (menos regiones árticas y antárticas), formando un importante componente ecológico de climas templados, mediterráneos, tropicales, áridos, ecosistemas de sabana, selvas tropicales y estacionalmente secas (Foresto, 2021).

Tabla 1. Descripción taxonómica de la familia Fabaceae

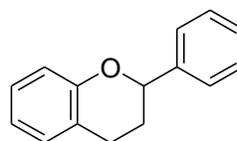
Reino Plantae	División Magnoliophyta	Clase Magnoliopsida
Orden Fabales	Familia Fabaceae	Subfamilias: Caesalpinioideae, Cercidoideae, Detarioideae, Dialioideae,, Duparquetioideae, Papilionoideae
Tribus: Inespecíficas.		

Tomado y modificado de Tarazona y cols., 2022.

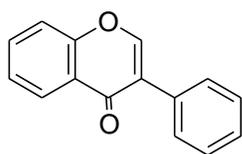
En efecto, algunos autores sugieren que poseen numerosos fitoquímicos en pequeñas cantidades como: fenoles [1], flavonoides [2], isoflavonoides [3], taninos [4], cumarinas [5], derivados de ácidos fenólicos y además de alcaloides [6] (Ver figura 1), los cuales presentan actividades biológicas como antioxidante, anticancerígena, antimicrobiana y anticolesterolémica (Simbaña, 2022; Gómez, Espino, Guerrero, Morán, López, Montenegro, Olmedo, y Gupta, 2014). En definitiva, la presencia de numerosas sustancias bioactivas de diversa naturaleza química en las cortezas, hojas y raíces comprenden un potencial farmacológico como antimicótico, antibacterial, analgésico, antiinflamatorio y sobre todo antidiabético (Martínez, Ocampo, Galvis y Valencia, 2011).



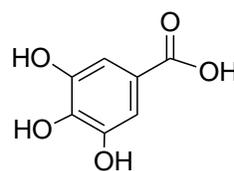
[1] Fenol



[2] Flavonoide



[3] Isofavonoide



[4] Tanino



[5] Cumarina



[6] Alcaloides

Figura 1. Compuestos aislados de la Familia Fabaceae

Género *Platymiscium*

El *Platymiscium* es un género neotropical de árboles forestales que incluye unas 19 especies (29 taxones), 4 de estas especies son morfológicamente variables y geográficamente extendidas, 15 son más restringidas, algunas de ellas endémicas (Klitgaard, 2005). Este género, pertenece a la tribu Dalbergieae, la cual agrupa únicamente géneros leñosos con frutos indehiscentes con una o pocas cámaras seminales (Xena y

Angostini, 1987; Klitgaard, 2005). A su vez, la tribu forma parte de la Familia Leguminosae (Xena y Angostini, 1987). El *Platymiscium* se define de forma única dentro de las Leguminosae por la siguiente combinación de características: hojas opuestas, estípulas interpetiolares, y flores amarillas papilionoides en racimos axilares (Figura 2). Además, varias especies tienen entrenudos huecos y muestran una asociación con las hormigas (Klitgaard, 2005).



Figura 2: Flores del Género *Platymiscium*

Tomado y modificado de Xena y Angostini., 1987.

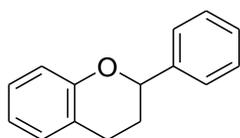
Por otra parte, económicamente el género es de gran importancia pues ha sido ampliamente explotado por su madera, conocida en el mercado maderero como "Panama redwood". Esta madera es de color pardo rojizo o blanco grisáceo, muy dura, pesada de grano muy fino, resistente, fácil de trabajar y de pulir (Xena y Angostini, 1987) razón por la cual se ha empleado para la fabricación de muebles, gabinetes, ebanistería, molduras e instrumentos musicales. (López y Cárdenas, 2002). Por otra parte son árboles, frecuentemente cultivados, para sombra en plantaciones y como ornamental en plazas, jardines y avenidas (Xena y Angostini, 1987).

En Venezuela es comúnmente conocido como roble, roble colorado y roble blanco (Xena y Angostini, 1987). En Colombia, es comúnmente conocido como granadillo o guayacán trébol (López y Cárdenas, 2002), A su vez, en Panamá y Costa Rica como Quira. Finalmente en El Salvador y México como aceituno montés y granadillo (Huber, 1909).

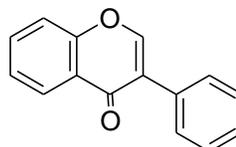
No obstante este género, se distribuye en la región Neotropical, cubriendo desde México, Guatemala, Costa Rica, Panamá, Venezuela, hasta el sur de Brasil y Bolivia. Asimismo, se han identificado dos centros de diversidad: México con seis especies (6 taxones) y el este de Brasil con cinco especies (12 taxones) (Klitgaard, 2005), mientras que en Venezuela, el género *Platymiscium* está ampliamente distribuido en diversos ecosistemas del país. Su rango altitudinal va desde pocos metros sobre el nivel del mar (Anzoátegui, Falcón) hasta aproximadamente unos 1500 msnm (Cordillera de La Costa, Sierra de San Luis) (Xena y Angostini, 1987).

Desde el punto de vista químico, la especies más estudiadas hasta la fecha son: *P. yucatanum*, *P. floribundum* Vogel Var, y *P. trinitaris* (Sannomiya, y cols., 2018). Pues bien, los estudios en sus diferentes órganos vegetales mostraron la presencia de metabolitos secundarios de tipo; flavonoides [7], isoflavonoides [8], pterocarpanos [9] y cumarinas [10] en sus extractos (Figura 3) (Sannomiya y cols, 2018; Cuellar y cols, 2020). Por consiguiente, la literatura ha reportado una variedad de actividades biológicas en este género, como: estrogénicas, antiangiogénicas, antioxidante, quimiopreención de la osteoporosis, prevención de otros trastornos posmenopáusicos, actividades cardiovasculares, antigastritis, anticancerígenas, antidiabética y anti-VIH (Sannomiya, y cols., 2018). Sin embargo, lamentablemente la explotación maderera y su uso intensivo han reducido drásticamente la población de especies de *Platymiscium*. Por lo tanto, existen pocos estudios sustentables sobre su composición química,

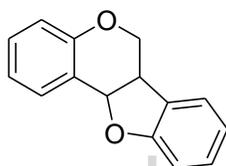
propiedades biológicas y farmacológica (Falcão y cols., 2005; Veloso y cols., 2012; Vila-Nova y cols., 2013;).



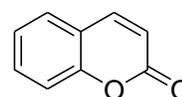
[7] Flavonoide



[8] Isoflavonoide



[9] Pterocarpano



[10] Cumarina

Figura 3. Compuestos aislados del Género *Platymiscium*

Platymiscium pinnatum

Es un árbol de 7 a 30 metros de altura y diámetros de hasta un metro, la especie crece a bajas y medianas elevaciones, en bosques secos o húmedos (Román y cols., 2012). El fuste es recto, cilíndrico, con un fuerte olor a frijol, sin ramas en los dos tercios basales, de base alargada o con raíces tabloides cóncavas (Devia, Moncaleano y Niño, 2014; López y Cárdenas, 2002). Su copa es obovada o redondeada, follaje verde oscuro y denso, con ramas grandes y ascendentes (Figura 4). Asimismo, presenta una corteza de color gris claro o blanco grisáceo, áspera, fisurada longitudinalmente e inerte (Figura 5) (Devia y cols., 2014). Además, sus hojas

son compuestas, opuestas de 4 a 7 foliolos de 5 a 20 cm de largo y 2,5 a 8 cm de ancho y presenta flores numerosas, de color amarillo o naranja, de 11-14 mm de largo (Figura 6), a veces con tenue guía de néctar marrón en el estandarte, poco perfumadas (López y Cárdenas, 2002; Klitgaard, 2005; Devia y cols., 2014).



Figura 4. *Platymiscium pinnatum*

Tomado y modificado de Devia y cols., 2014.



Figura 5. Corteza del *Platymiscium pinnatum*

Tomado de López y Cárdenas., 2002.

En referencia, los frutos corresponden a vainas indehiscentes y aplanadas que contienen una sola semilla de forma arriñonada, con testa de color café oscuro, lisa o ligeramente rugosa. A su vez, las semillas son grandes de 2,5-3,5 cm de largo, 1-1,5 cm de ancho, reniforme, plana comprimida de color pardo y comúnmente dispersadas por el viento (Xena y Angostini, 1987; Devia y cols., 2014; Róman y cols., 2012) Sin embargo, el *Platymiscium pinnatum* se diferencia de otras especies del género existentes en el país por el tamaño de sus flores (1-1,4 cm de largo), el color amarillo claro de sus pétalos, el color verde claro del cáliz y por presentar 5-7 foliolos ovado-elípticos más o menos abruptamente acuminados. (Xena y Angostini, 1987).



Figura 6: Disposición de las Flores

Tomado y modificado de Devia y cols, 2014

En efecto, es endémico del Neotrópico y su ámbito de distribución va desde México hasta Venezuela, en el país, se encuentra ampliamente distribuido en diversos ecosistemas. Sin embargo, aun cuando no se ha reportado en los Territorios Federales, no se descarta su existencia en ellos (Román y cols., 2012). Asimismo, es un importante componente del bosque tropófilo, del cual se encuentra formando parte a lo largo del país y de donde

han sido algunas de las especies largamente explotadas. Además es frecuente observarlo como componente de los bosques de galera de nuestros Llanos y como un verdadero árbol sabanero, de baja altura, tronco retorcido, localizado únicamente en el Oriente del país (Xena y Angostini, 1987).

El *Platymiscium pinnatum* se ha descrito como una especie variable y extendida. Pues, Jacquin en 1788 lo describió como *Amerimnon pinnatum* de Colombia. No obstante, fue transferida por primera vez a *Platymiscium* desde el tratamiento de Bentham en 1860 y Dugand (Klitgaard, 2005). Posteriormente en 1938 se reconoció como *Platymiscium pinnatum*. En la tabla 2, se muestra la clasificación botánica de esta especie vegetal.

Tabla 2. Descripción taxonómica del *Platymiscium pinnatum*

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Subfamilia	Papilionoidae
Tribu	Dalbergieae
Genero	<i>Platymiscium</i>
Especie	<i>Pinnatum</i>
Autor	(Jacq.) Dugand

Tomado y modificado de Xena y Angostini., 1987; Klitgaard., 2005.

Productos Naturales

Un tejido vegetal, como toda materia viva, se encuentra en un estado dinámico desde el punto de vista químico. Hay una constante síntesis y degradación de biomoléculas o metabolitos que determina el dinamismo de los sistemas biológicos, pero a su vez, al estar en equilibrio, las concentraciones de los mismos se mantienen aproximadamente constantes. De manera que los compuestos químicos celulares (metabolitos) pueden ser clasificados en primarios y secundarios. Por lo tanto, los compuestos primarios son todos aquellos necesarios para el funcionamiento de toda materia viva, responsables de su estructura y de todas las reacciones esenciales para mantener el estado vital y posibilitar el crecimiento, el desarrollo y la reproducción, comprendidos por los hidratos de carbono, los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos (Ringuelet y Viña, 2013).

Mientras tanto, los compuestos secundarios cumplen funciones que no resultan estrictamente importantes en los tejidos y representan en ocasiones compuestos de desecho del metabolismo. Es decir, no están involucrados directamente con el crecimiento y desarrollo, ni en la obtención de energía. Muchos de ellos son aprovechados por la planta que los sintetiza para relacionarse con el medio, ya sea para atraer insectos, repeler predadores, impedir la competencia con otras plantas, adaptarse a condiciones adversas de suelo o clima. En pocas palabras, cumplen funciones ecológicas (Ringuelet y Viña, 2013).

Sin embargo, gran variedad de metabolitos secundarios han sido y son utilizados por el hombre para aplicarlos en la industria farmacéutica, terapéutica de cultivos, perfumística y alimenticia (como suplementos, aditivos o colorantes). Éstos son los comúnmente llamados productos naturales vegetales y representan moléculas con variadas estructuras, diferentes propiedades de solubilidad y distintos orígenes biosintéticos. En

muchos casos los metabolitos secundarios pueden ser materia prima para sintetizar otros compuestos útiles, originando productos de semisíntesis. La utilidad de los mismos está solamente limitada por la imaginación humana o por el avance de los conocimientos científicos (Ringuelet y Viña, 2013).

Los metabolitos secundarios se pueden dividir en varios grupos principales basados en sus estructuras químicas, siendo los mejores estudiados los terpenoides, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos, alcaloides y compuestos fenólicos (Buchanan, Grisse, y Jones, 2015). Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario del carbono. La ruta del ácido malónico es una fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, pero es poco empleada en las plantas vasculares. La ruta del ácido shikímico es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de las plantas. A partir de eritrosa-4-fosfato y de ácido fosfoenolpirúvico se inicia una secuencia de reacciones que conduce a la síntesis de ácido shikímico y, derivados de éste, aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina) (Kasote, Katyare, Hegde y Bae, 2015).

Fenoles: Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol (Martin, 2018), conformados con al menos un grupo hidroxilo unido a uno o más anillos aromáticos en su estructura química, la mayoría hidrosolubles y derivados biosintéticamente del ácido shikímico (Ringuelet y Viña, 2013). Ellos constituyen una de las familias más importantes de metabolitos secundarios en las plantas, en su mayoría, son derivados de la fenilalanina y en menor cantidad, de la tirosina, con diferentes actividades metabólicas (Figura 7). A su vez, los tres grupos más importantes de compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles (Soriano, 2020). Asimismo, poseen características asépticas y

citotóxicas; ya que aquellos que son clorados pueden atravesar la membrana celular (Ávalos y Pérez, 2009).

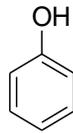


Figura 7. Estructura química del Fenol

Flavonoides: son los compuestos polifenólicos más numerosos, estos comprenden quince átomos de carbono, con dos anillos aromáticos conectados por un puente de tres carbonos (Figura 8). Los polifenoles se encuentran en todo el reino vegetal, están presentes en altas concentraciones en la epidermis de las hojas y cáscaras de las frutas (Crozier, Jaganath y Clifford, 2006). Las principales clases de flavonoides son: flavonas, flavonoles, flavanonas, isoflavonas y antocianidinas (Patra y Saxena, 2010). En las plantas, algunos flavonoides confieren resistencia contra la fotooxidación de la luz ultravioleta del sol, además, resistencia a las infecciones fúngicas y virales (Ávalos y Pérez, 2009).

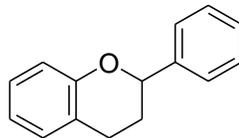


Figura 8. Estructura química de Flavonoides

Terpenos: también llamados terpenoides, o isoprenoides, se forman por la polimerización de unidades de isoprenos (Figura 9) y esteroides, son liposolubles, y biosintéticamente asociados a la vía del ácido mevalónico o a la vía gliceraldehído fosfato - ácido pirúvico (Sarin, 2005; Ringuélet y Viña,

2013). Se dividen en seis grupos: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y esteroides (Shilpa, Varun y Lakshmi, 2010). También es importante mencionar, que de acuerdo al número de unidades de isopreno que contengan, los terpenos se clasifican en monoterpenos, con dos unidades; en sesquiterpenos, con tres; en diterpenos, con cuatro; en triterpenos, con seis; en tetraterpenos, con ocho, y en politerpenos con más de 20 unidades (Ringuelet y Viña, 2013). Muchos terpenos son comercialmente interesantes por su uso, como aromas y fragancias, en alimentación y cosmética o por su importancia en la calidad de productos agrícolas. Asimismo, tienen importancia medicinal por sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimalariales, antimicrobianas (Ávalos y Pérez, 2009).

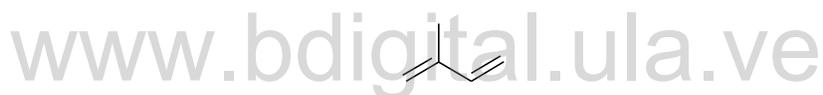


Figura 9. Estructura química del Isopreno

Saponinas: Son compuestos bioactivos encontrados principalmente en plantas, pero también en algunos organismos marinos e insectos. De acuerdo al carácter químico de la aglicona (conocido como sapogenina) las saponinas se dividen en esteroides y triterpenoides. Este último es el más encontrado especialmente en leguminosas (Vélez, Campos y Sánchez, 2014). Las saponinas (Figura 10) ofrecen una alta actividad superficial debido a la combinación estructurada de un grupo polar (azúcar) y uno no polar (esteroide o triterpeno), propiedad que permite su uso como un detergente natural, agente estabilizante, emulsificador en productos de limpieza y cosméticos (Ávalos y Pérez, 2009).

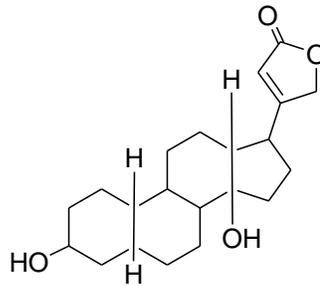


Figura 10. Estructura química de la Saponina

Alcaloides: son una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que tienen en común tres características: son solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula, y exhiben actividad biológica. La mayoría son heterocíclicos aunque algunos son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos). Se encuentran en el 20% aproximadamente de las plantas vasculares. En humanos, los alcaloides generan respuesta fisiológicas y psicológicas la mayoría de ellas consecuencia de su interacción con neurotransmisores. A dosis altas, casi todos los alcaloides (Figura 11) son muy tóxicos. Sin embargo, a dosis bajas tienen un alto valor terapéutico como relajantes musculares, tranquilizantes, antitusivos o analgésicos. Se sintetizan normalmente a partir de lisina, tirosina y triptófano, aunque algunos como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina (Ávalos y Pérez, 2009).

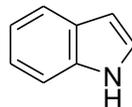


Figura 11. Estructura química del Indol

Taninos son polímeros polifenólicos solubles en agua, de alto peso molecular que se unen a proteínas desnaturalizándolas. Se pueden encontrar en arbustos y árboles forrajeros, leguminosas, frutas, cereales y granos (Patra y Saxena, 2011; Makkar y Becker, 2007). Los taninos se dividen en dos grupos: hidrolizables (TH) y condensados (TC) (Figura 12). Los Taninos hidrolizables son moléculas complejas con un poliol como núcleo central (glucosa, glucitol, ácidos quínico, quercitol y siquímico); los cuales son esterificados parcial o totalmente con un grupo fenólico (Vélez y cols., 2014).

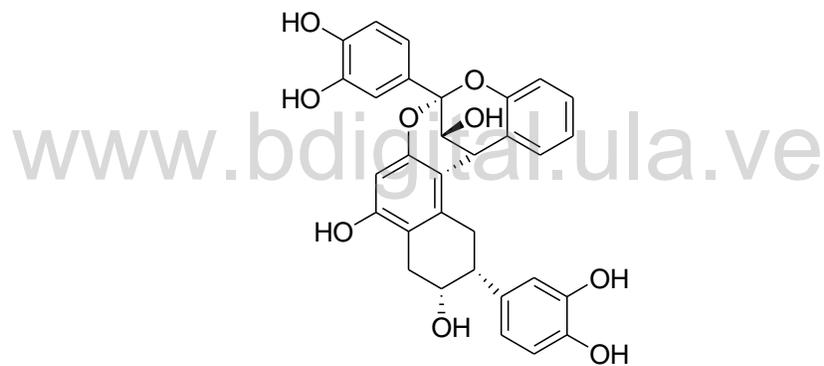


Figura 12. Estructura química de los taninos condensados

Extractos Vegetales

Son preparaciones líquidas o en polvo obtenidas por la retirada de los principios activos de fuentes vegetales (raíces, hojas, corteza, flores y semillas) por algunas metodologías (Do Nascimento, Diniz, Mezquita, Martins y Costa, 2008). Dichos principios activos son también conocidos como metabolitos secundarios, los cuales forman parte de las estrategias defensivas de las plantas, y que pueden ser agrupados en compuestos nitrogenados, fenólicos y terpenoides. Estos compuestos le proporcionan importantes características a los extractos, como son antialimentarios, antivirales, antimicrobianos, repelentes e inhibidores de germinación de semillas (Álvaro, Mendoza, y Pachón, 2009).

www.bdigital.ula.ve

Preparación de los Extractos

Principalmente se debe extraer los principios activos de: raíces, hojas, flores y tallos, de acuerdo a la metodología encontrada. Sin embargo, la manera más sencilla, puede ser por medio de una infusión o decocción. En cambio, para analizar las propiedades medicinales de una droga vegetal, se debe recurrir a métodos de extracción más complejos, que permitan lograr metodologías reproducibles, con cuantificación de principios activos en lo posible. Los métodos extractivos más empleados son: (Rivas, Oranday y Verde-Star, 2016):

Maceración: es un método de extracción solido-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 pedazos, molido, fresco o seco y se coloca en recipientes adecuados, añadiendo el solvente seleccionado por polaridad: hexano, cloroformo y finalmente metanol o etanol en reposo, a temperatura ambiente durante 5 días cada extracción (Rivas y cols., 2016).

Reflujo en caliente: Es una técnica que se encarga de extraer y preservar los compuestos activos de las especies vegetales, para ello se utiliza un equipo de reflujo que consta de un balón de destilación (que contiene el material a extraer más el disolvente) el cual tiene acoplado un refrigerante. Durante este proceso, el material fragmentado disuelto en un disolvente convenientemente escogido, se calienta, el disolvente evaporado se condensa sobre las paredes interiores del condensador, donde se refrigera con el agua que fluye por una camisa envolvente a su alrededor y vuelve a mezclarse con el material vegetal. 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 (Lamarque, Zygadlo, Labuckas, López, Torres y Maestri, 2008; Canales, Carazo y Centeno, 2011).

Lixiviación: En este método se produce el desplazamiento de sustancias solubles por medio de un disolvente líquido, este proceso se utiliza industrialmente para preparar elixires. El material vegetal fresco se coloca en un recipiente a temperatura ambiente, durante unos 3 días, con acetona o algún otro solvente. Después de este tiempo se decanta y se evapora la acetona en un rotavapor (Rivas y cols., 2016).

Digestión: consiste en el aumento gradual de la temperatura, lo que permite un mayor rendimiento de la extracción, disminuyendo la viscosidad del

solvente lo que hace éste pueda ingresar más rápidamente al interior de las células y así extraer los principios activos (Carrión y García, 2010).

Infusión: proceso mediante el cual se somete a la droga previamente humedecida al contacto con el solvente a una temperatura equivalente a la de ebullición del agua por cinco minutos, se deja enfriar a temperatura ambiente y se prepara al 5 % (Carrión y García, 2010).

Decocción: consiste en mezclar la droga más el disolvente, posteriormente se lleva a 100 °C, manteniendo esta temperatura durante un periodo de tiempo de entre 15 a 20 minutos (Carrión y García, 2010).

www.bdigital.ula.ve **Ensayo Fitoquímico**

El ensayo fitoquímico o “screening” fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica. Pues bien, permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta, a partir de allí, orientar al aislamiento e identificación de compuestos biológicamente activos, especialmente dirigidos a atacar dolencias que afectan a toda la humanidad y que cobran a diario más vidas (Sharapin, 2000 ;Marcano y Hasegawa, 2002). Este método debe permitir la evaluación rápida con reacciones sensibles reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse en conjunto con los resultados de un screening farmacológico. Entre las distintas pruebas químicas de identificación tenemos (Sharapin, 2000).

Determinación de Alcaloides; a través de la prueba de Wagner; Mayer y Dragendorff; fundamentada en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal de combinarse con el yodo y metales pesados formando precipitados (Domínguez, 1979).

Determinación de Saponinas; se lleva a cabo por la prueba de altura de la espuma, este método está basado en la propiedad físico-química que presentan las soluciones acuosas de las saponinas, de disminuir la tensión superficial de los líquidos acuosos, provocando abundante espuma por agitación (Valencia, MacDonald, Cuyos y Dueñas, 2005).

Determinación de Flavonoides; a través de la prueba de Shinoda; se basa en la oxidación del magnesio metálico por el HCl concentrado, provocando el desprendimiento de H_2 en forma de gas y el $MgCl_2$ que es el que forma complejos con los flavonoides. Si en estas condiciones se observa la aparición de coloración rojiza, violeta o naranja, se considera positivo para (flavonas, flavanonas, flavonoles, isoflavonoides, flavanonoles y xantonas) (Domínguez, 1979).

Determinación de Fenoles; es por la prueba de tricloruro férrico; se debe al ataque producido por el ion cloruro al hidrógeno del grupo hidroxilo induciendo una ruptura de enlace y la unión del grupo fenóxido al hierro, permitiendo una precipitación (Domínguez, 1979).

Determinación de Triterpenos; mediante la prueba de Lieberman-Burchard, la presencia de color se debe al grupo hidroxilo (-OH) del colesterol, lo que provoca un aumento en la conjugación de la insaturación del anillo, fusión adyacente (Domínguez, 1979).

Determinación de Taninos: se lleva a cabo por la prueba de la gelatina al 1 %, se basa en la capacidad de los polifenoles para unirse a las proteínas presentes en la gelatina y precipitarlas. La presencia de taninos se observa por un precipitado blanco (Carvajal, Hata, Sierra y Rueda, 2009).

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

Determinación de Cumarinas: es por la prueba de NH_4OH (Hidróxido de amonio concentrado), se fundamenta en la apertura y solubilización en medio básico, se determina por su intensa absorción en la región ultravioleta del espectro, las cuales al ser inspeccionadas a la luz ultravioleta presentan una coloración en presencia de amoníaco (Domínguez, 1979).

Generalidades de las Bacterias

Las bacterias son microorganismos procariotas unicelulares que poseen un tamaño medio que oscila entre 2-10 micras, se reproducen mediante fisión binaria y presentan tres formas básicas: las bacterias esféricas o cocos, las alargadas o bacilos y las bacterias curvadas o espiroquetas. Sin embargo, existen cocos denominados cocobacilos por ser achatados (Vargas y Kuno, 2014). Asimismo, el citoplasma de las bacterias está repleto de ribosomas; el material genético, constituido por ácido desoxirribonucleico (ADN), forma un conglomerado compacto (nucleoide) carente de membrana nuclear. La membrana citoplasmática está rodeada externamente por una

pared dura y elástica, de peptidoglicano (glicopéptido, mureina), que confiere la forma a la célula (Prats, 2012).

En este sentido, es importante mencionar que el organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas se encuentran de forma temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente. También se encuentran bacterias en el ambiente y en los alimentos que se comen; aunque muchas de ellas son relativamente inofensivas, otras son capaces de provocar enfermedades potencialmente mortales (Musto e Iserte, 2013). Por lo tanto, para el oportuno diagnóstico etiológico de las infecciones, dependen en gran medida de las características biológicas de los microorganismos que se pretende detectar. Algunas bacterias pueden ser observadas individualmente a través de un microscopio mediante tinciones bacteriológicas o a simple vista si estas están en conjunto al formar colonias en medios de cultivos (Prats, 2012; Vargas y Kuno, 2014).

Distinción Macroscópica

Las bacterias crecen en colonias y cada una de ellas equivaldría a una ciudad con un millón o más de organismos. La suma de sus características condiciona los rasgos que definen a una colonia, como su color, tamaño, forma u olor. Al igual que, la capacidad de resistir frente a determinados antibióticos, de fermentar azúcares específicos, de lisar eritrocitos o de hidrolizar los lípidos, estas características se pueden determinar mediante el uso de los medios de cultivo adecuados. Por lo tanto, el crecimiento bacteriano fuera de su hábitat natural se denomina crecimiento en cultivo. Un cultivo es una población de microorganismos que crece en un ambiente artificial, y el soporte que permite su crecimiento fuera de su hábitat se llama medio de cultivo (Musto e Iserte, 2013).

Distinción Microscópica

El aspecto microscópico incluye el tamaño, la forma y la disposición de las bacterias (cocos, bacilos, curvos, espirales) al igual que la capacidad de captar un colorante (Gram). Todas estas características son herramientas que se utilizan para la identificación. De esta forma, una bacteria esférica, como *Staphylococcus* es un coco, mientras que una bacteria en forma de bastón como *Escherichia coli*, es un bacilo. Asimismo el *Treponema*, que adopta una forma serpenteante es un espirilo (Musto e Iserte, 2013).

Tinción de Gram

Esta tinción es un procedimiento de gran utilidad empleado en los laboratorios donde se manejan pruebas microbiológicas. Es definida como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram Negativas y bacterias Gram Positivas. Fue desarrollada por el científico danés Hans Christian Gram en 1884; hoy en día, sigue siendo una de las tinciones más utilizadas universalmente debido a lo económico, sencillo y eficaz que resulta. Los principios de la tinción de Gram están basados en las características de la pared celular de las bacterias, la cual le confiere propiedades determinantes a cada microorganismo (López, Hernández, Colín, Ortega, Cerón y Franco, 2014).

En la primera parte de la tinción la preparación se baña con violeta de genciana, quedando todas las bacterias teñidas de color violeta intenso. Al cubrir posteriormente la preparación con una mezcla de alcohol y acetona algunas bacterias conservan dicha coloración, mientras que otras se decoloran y la pierden totalmente. Las que conservan la coloración violeta se denominan Gram Positivas, y las que la pierden, Gram Negativas. En la

segunda parte de la tinción se hace actuar un colorante que contraste notablemente con el primero para teñir las bacterias Gram Negativas que han quedado decoloradas. Se utiliza safranina, por lo que adquieren el color rosado (Prats, 2012).

Bacterias Gram Positivas

En este orden de ideas, las Gram Positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano a modo de malla entrelazada que rodea a la célula (Figura 13). Sin embargo, no cuentan con membrana celular externa (López y cols., 2014). El peptidoglicano constituye aproximadamente un 60 % de dicha pared mientras que un porcentaje relativamente bajo las componen los ácidos teicoico y teicuronicos (Barrios, 1996).

Bacterias Gram Negativas

La pared celular de las bacterias Gram Negativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano con un espacio periplasmico (Figura 13). Además cuenta con una membrana celular externa constituida por una doble capa de fosfolípidos y lipopolisacáridos. Sin embargo, esta membrana externa es soluble a la acción de solventes orgánicos, por lo cual no retiene el complejo violeta de genciana-yodo (Barrios, 1996; López y cols., 2014).

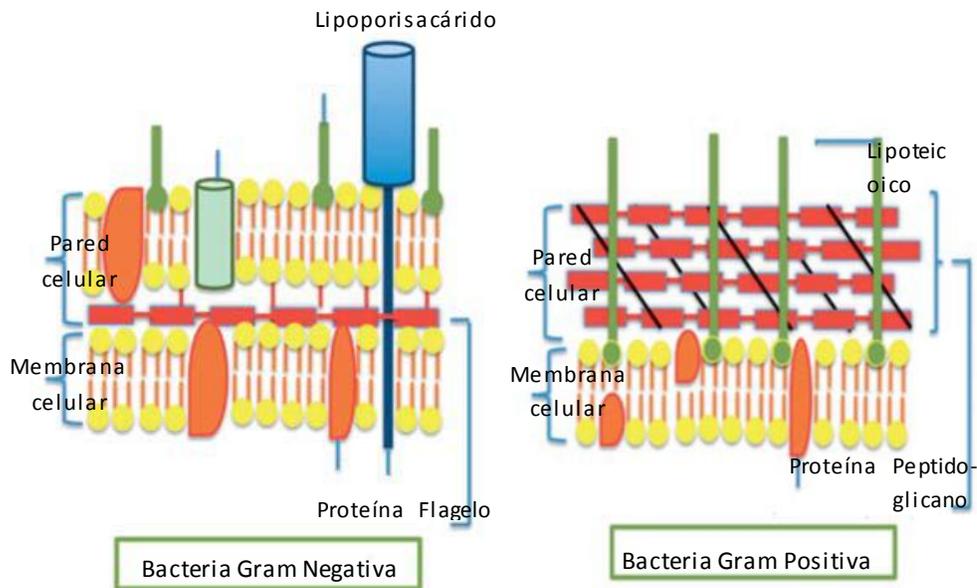


Figura 13. Pared celular de las bacterias Gram Positivas y Gram Negativas.
Tomado y modificado de López y cols., 2014.

Microorganismos Patógenos

***Staphylococcus aureus*:** Es un coco Gram Positivo coagulasa y catalasa positiva, inmóvil, anaerobio facultativo, no capsulado con un diámetro de 0,5 a 1,5 μm , agrupado como célula única, en pares, cadenas cortas o formando racimos de uva (Figura 14) (Cervantes, García y Salazar, 2014). Asimismo, este microorganismo es un habitante normal de la piel y las mucosas, alrededor del 20% de la población es portadora permanente del microorganismo en las fosas nasales y un 30% lo es de manera intermitente. Sin embargo, causa gran variedad de infecciones, desde lesiones cutáneas como forúnculos, ampollas y abscesos cutáneos; hasta lesiones a nivel pulmonar como la neumonía estafilocócica primaria, la neumopatía bullosa

estafilocócica de los niños, endocarditis, síndrome del shock tóxico y sepsis. Por lo tanto, es importante acotar que existen ciertos grupos poblacionales como el personal sanitario, residentes en instituciones, adictos a las drogas parenterales, y diabéticos que son más propensos a la portación de *S. aureus* (Musto e Iserte, 2013).



Figura 14. *Staphylococcus aureus* en microscopía electrónica
Tomado y modificado de Musto e Iserte 2013

***Enterococcus faecalis*:** son cocos Gram Positivos (Figura 15), que bajo el microscopio pueden observarse en cadenas o parejas cortas, no tienen cápsula ni forman esporas y son anaerobios facultativos. Estos, forman parte de la microbiota gastrointestinal del ser humano y animales, esencialmente en yeyuno e íleon. Tienen la capacidad de causar infecciones dentro y fuera de sitios hospitalarios. Evidentemente, las infecciones nosocomiales son las más comunes, por lo que los pacientes que están sometidos a procedimientos intrahospitalarios (diálisis, hemodiálisis, cirugías), así como a largas estancias hospitalarias, son los más afectados (Arredondo, Echeguren, Arzate y Medina, 2018).

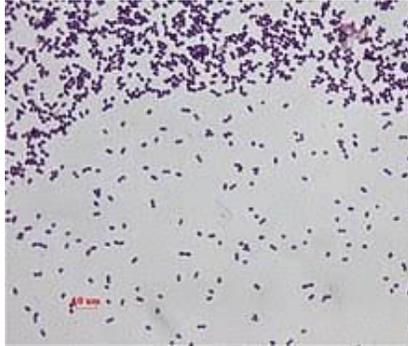


Figura 15: Frotis con tinción de Gram de *E. faecalis*
Tomado y modificado de Arredondo y cols., 2018

***Klebsiella pneumoniae*:** Es un bacilo Gram Negativo, no móvil, fermentador de la lactosa (Figura 16), perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Usualmente desarrolla una cápsula que actúa como factor determinante en la virulencia de la bacteria. Por esta razón, es el agente causal de infecciones del tracto urinario, neumonías, sepsis, infecciones de tejidos blandos, e infecciones de herida quirúrgica. Son especialmente susceptibles los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos, neonatos, y pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica, diabetes mellitus o alcohólicos. Además, está implicada principalmente en infecciones nosocomiales (López y Echeverri, 2010).



Figura 16. Cultivo de *Klebsiella pneumoniae* en Agar MacConkey
Tomado y modificado de López y Echeverri., 2010

Escherichia coli: Es un bacilo Gram Negativo (Figura 17) anaerobio facultativo prevalente de la microbiota intestinal del hombre y los animales de sangre caliente. Sin embargo, este microorganismo tiene características que le permiten vencer las defensas del huésped, ganar la competencia con otras bacterias de la microbiota intestinal y sobrevivir al medio colónico. Logra así establecer infecciones ya sea a nivel intestinal, extraintestinal o bien intrahospitalarias. *E. coli* posee numerosos factores de virulencia que no están presentes en todas las cepas, así la mayor parte no representa peligro para el ser humano. Aquellas cepas que si tienen esos factores pueden causar infecciones urinarias, intestinales, intrabdominales, intrahospitalarias, sepsis, meningitis y bacteriemias (Musto e Iserte, 2013).



Figura 17. *Escherichia coli* en microscopía electrónica

Tomado y modificado de Musto e Iserte., 2013

Pseudomonas aeruginosa: es un patógeno ubicuo, oportunista, móvil y bastante persistente en el medio ambiente. Esta bacteria tiene forma de bastón aproximadamente de 0,5-1 μm de diámetro (Figura 18). Se considera como una bacteria aerobia facultativa por lo que puede llegar a persistir en el ambiente de manera eficaz y se caracteriza por crecer entre 20-43 $^{\circ}\text{C}$, además de ser del grupo de no fermentadores. Cabe mencionar que las

capacidades para persistir en condiciones medio ambientales adversas y sus mecanismos de patogenicidad la han convertido en el microorganismo responsable aproximadamente de 10 a 15 % de las infecciones nosocomiales mundiales. De igual forma a nivel comunitario, puede ocasionar afectaciones en el tracto respiratorio e infecciones corneales y queratitis (Zarza, Mangwani, Martínez, Álvarez, Solano, y Vázquez, 2019).



Figura 18. *Pseudomonas aeruginosa* en microscopía electrónica
Tomado y modificado de Zarza y cols., 2019

Antibióticos

Los antibióticos son sustancias químicas que inhiben el crecimiento de bacterias (bacteriostáticos) o matan bacterias (bactericidas), estas sustancias son producidas por una variedad de organismos tales como bacterias y hongos. Desde el descubrimiento de la penicilina, hace ya casi tres cuartos de siglo, se han venido produciendo numerosos antibióticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Esto ha dado como resultado una importante disminución de este tipo de enfermedades y, en consecuencia,

del número de muertes por esta causa (Muñoz, Arango, y Jaramillo, 2004). Por lo tanto, los mecanismos por el cual un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento o destruir una célula bacteriana, se divide en:

Antimicrobianos que inhiben la síntesis de la pared bacteriana: Los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared necesitan para ejercer su acción que la bacteria se halle en crecimiento activo, y para su acción bactericida requieren que el medio en que se encuentre la bacteria sea isotónico o hipotónico, lo que favorece el estallido celular cuando la pared celular se pierde o se desestructura. Suelen ser más activos sobre las bacterias Gram Positivas por su mayor riqueza en peptidoglucano. Los β -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenemos, y monobactámicos) actúan a nivel de las PBP (penicillin-binding-protein) por sus siglas en inglés, los glucopéptidos interfieren en la síntesis del peptidoglucano, y la bacitracina que actúa en la síntesis y transporte de los precursores del peptidoglucano (Calvo y Martínez, 2009).

Antibióticos inhibidores de la síntesis proteica: La síntesis proteica es uno de los procesos más frecuentemente afectados por la acción de los antimicrobianos, y su inhibición selectiva es posible gracias a las diferencias estructurales entre los ribosomas bacterianos y eucariotas. Este proceso es llevado a cabo por un gran grupo de antibióticos; los aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicoles, macrólidos, clindamicina, oxazolidinonas y streptograminas (Calvo y Martínez, 2009).

Inhibición de los ácidos nucleicos: Dentro de este grupo incluimos las rifamicinas y las quinolonas que actúan en enzimas que participan en los procesos de transcripción y replicación, y los nitroimidazoles y nitrofuranos que actúan directamente sobre el ADN, dañándolo. La mayoría de los

antibióticos que actúan sobre el ADN son bactericidas rápidos y normalmente independientes del inóculo y de la fase de crecimiento bacteriano (Calvo y Martínez, 2009).

Inhibición de la membrana externa: Las sustancias que alteran esta estructura modifican la permeabilidad, y provocan la salida de iones potasio, elementos esenciales para la vida bacteriana, o la entrada de otros que a altas concentraciones alteran el metabolismo bacteriano normal, lo que provoca la muerte de la bacteria. A este grupo pertenecen las polimixinas, como la colistina (Calvo y Martínez, 2009).

Actividad Antibacteriana de las Plantas

Los productos naturales tales como los extractos de plantas y/o sus compuestos puros proveen oportunidades ilimitadas para el desarrollo de nuevas drogas que puedan ser utilizadas para el control microbiano (Rivas y cols., 2016). Esto se debe a que las plantas tienen la capacidad ilimitada de sintetizar compuestos, la mayoría relacionadas con el fenol y sus derivados. Los cuales tienen la capacidad de lograr una defensa frente a los ataques de microorganismos, insectos y otros animales (Domingo y López, 2003).

Aunado a ello, existen pruebas estandarizadas *in vitro* conocidas como bioensayos de susceptibilidad antimicrobiana, las cuales son técnicas esenciales en la búsqueda de actividades biológicas de nuevos compuestos naturales. Dentro de los principales métodos de evaluación preliminar de la actividad antimicrobiana se encuentran los métodos de difusión en disco y difusión del pozo en agar, mediante los cuales se determina en forma cualitativa el efecto antimicrobiano de los extractos de plantas sobre los microorganismos de interés, los resultados obtenidos se expresan midiendo el diámetro de los halos de inhibición producido por los extractos. Por otro

lado los métodos de dilución son apropiados para la determinación cuantitativa de la actividad antimicrobiana, la técnica más utilizada es la denominada concentración mínima inhibitoria (CMI), con la cual se define la concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento visible del microorganismo (Rivas y cols., 2016).

Por otra parte, los ensayos de sensibilidad deben estar estandarizados y sujetos a procesos de control que aseguren su reproducibilidad. A pesar de que no existe una estandarización de la metodología para la evaluación de la capacidad inhibitoria de los extractos de plantas, como está establecido para los antibióticos, la mayoría de los métodos están basados en los utilizados para evaluar la resistencia y/o susceptibilidad a antibióticos. Los métodos para evaluar la actividad de extractos sobre bacterias y hongos suelen ser similares, variando la preparación del inóculo, medio de cultivo, temperatura y el tiempo de incubación (Cowan, 1999).

Método de Difusión en Agar por Disco (Kirby-Bauer)

El método de difusión en agar presenta la ventaja que sus resultados son altamente reproducibles, la técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer y colaboradores. Este método de difusión en disco o en pozo fue estandarizado y es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad, por sus siglas en inglés, NCCLS, de Estados Unidos. No obstante, el fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos (Ramírez y Castaño, 2009). En este sentido, el método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de

una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia. A continuación se procede a su incubación a la temperatura adecuada por 24 horas, luego se mide el halo de inhibición y se comparan los efectos de las distintas sustancias sobre el microorganismo estudiado, con el antibiótico control. La lectura de los resultados representa la actividad *in vitro* de la sustancia (Ramírez y Castaño, 2009).

Métodos de Dilución

El método de dilución en agar o en caldo como test de susceptibilidad microbiana es utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibitoria (CMI), la cual es definida como la concentración más baja de sustancia que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de incubar por 24 horas, mientras que la (CMB) es la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento de un organismo después de subcultivar en un medio libre del compuesto evaluado. En la técnica de dilución en caldo, son utilizados tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones crecientes del extracto vegetal. El organismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las microplacas y la CMI es determinada después de la incubación (Ramírez y Castaño, 2009).

De tal manera, en el método de dilución en caldo, las cajas se siembran por profundidad con una determinada concentración de extracto vegetal, luego se inoculan con el microorganismo en estudio y se incuban por 24 horas, después de ésta, se examina si el microorganismo crece o no en cada

una de las cajas, la principal desventaja de este método es la cantidad necesaria de muestra a evaluar. Sin embargo, la ventaja sobre los métodos de difusión radica en un aumento de la sensibilidad para cantidades pequeñas, lo cual es importante cuando se trabaja con productos naturales, además permite diferenciar entre un efecto bactericida o bacteriostático (Ramírez y Castaño, 2009).

www.bdigital.ula.ve

Definición Operacional de Términos

Dehiscente: es la facultad que tienen algunos frutos, especialmente los secos pluriceminados, de abrirse de forma más o menos especializada para permitir que salgan las semillas. Este proceso se produce por la abertura de poros en la parte superior del fruto (dehiscencia foraminal) por el hendimiento longitudinal de tejidos diferenciados (dehiscencia longitudinal) o por una línea transversal al fruto (dehiscencia transversal) (Troiani, Prina, Muiño, Tamame y Beinticinco, 2017).

Entrenudo: se denomina a la porción de tallo comprendida entre dos nudos consecutivos, portadora de una yema basal (Troiani y cols., 2017).

Foliolo: Cada uno de los segmentos en los que componen una hoja compuesta, puede ser sésil o peciolado, pero presenta siempre una articulación en su base y la morfología de los mismos es similar en la misma hoja (Troiani y cols., 2017).

Fuste: denominado también tronco, el cual es un elemento estructural del árbol que soporta las ramas y todo el resto del mismo (hojas, flores, frutos). Además, actúa como canal de los nutrientes, distribuyéndolos por todo el sistema hasta la copa (Troiani y cols., 2017).

Infección nosocomial: se denomina a las infecciones contraídas por pacientes ingresados en un recinto de atención a la salud (no sólo hospitales). Debido a que el personal de salud, en muchos casos es también propagador de enfermedades, como en el caso de la sepsis puerperal (Baños, Somonte y Morales, 2015).

PBP: Las PBPs (protein binding penicillin) son proteínas fijadoras de β -lactámicos, las cuales se encuentran en la membrana citoplasmática de las bacterias. Se han descrito numerosas PBPs, de las cuales 6 son las más conocidas, y de ellas son cuatro: 1a, 1b, 2 y 3 las que aparentemente son responsables del mecanismo de acción antimicrobiano de los β -lactámicos. Este mecanismo parece ser comúnmente el responsable de la resistencia en bacterias Gram Positivas y especialmente en *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina, las cuales producen PBP estructuralmente alteradas con baja afinidad por este antibiótico (Martín, 2002).

Peptidoglicano: es un heteropolímero constituido por largas cadenas glucídicas entrecruzadas por cadenas peptídicas cortas que constituyen una macromolécula con forma de malla, íntegra y elástica que rodea por completo la célula (Silhavy, Kahne y Walker, 2010).

Pluriseminado: Es un fruto con varios o numerosos óvulos o sacos embrionarios, que originan a su vez, varias semillas (Troiani y cols., 2017).

Reniforme: Se refiere a un tipo de hojas simples cuya lámina tiene forma de frijol o riñón. De este último término deriva su nombre; reniformis (Troiani y cols., 2017).

Operacionalización de las Variables

Las variables son características, que puede sufrir cambios; es objeto de análisis, medición o control en una investigación, pueden clasificarse según su función en dependiente e independiente. La variable independiente (Tabla 3), son las causas que generan y explican los cambios de la variable dependiente. Mientras que la dependiente (Tabla 4), son aquellas que se modifican por acción de la variable independiente, constituyen los efectos o consecuencias que se miden y que dan origen a los resultados de una investigación (Arias, 2004).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 3. Operacionalización de la Variable Independiente

Variable	Tipo	Definición conceptual ¿Qué es?
Composición química del extracto etanólico de la corteza de <i>Platymiscium pinnatum</i>	Independiente Cualitativa	Son compuestos de naturaleza química diversa sintetizados por las plantas cuya función principal es protegerla frente a distintos tipos de estrés, tanto biótico como abiótico (Gasaly, Riveros y Gotteland, 2020).
Definición Operacional ¿Cómo se mide?	Dimensiones	Indicador
Mediante pruebas químicas cualitativas, reacciones de coloración, precipitación, y fluorescencia.	Alcaloides Saponinas Flavonoides Fenoles Taninos Polifenoles Esteroles Triterpenos Quinonas Antraquinonas	<ul style="list-style-type: none"> • Prueba de Wagner, Mayer y Dragendorff: presencia de precipitado. • Prueba de altura de la espuma: espuma que perdura en tiempo y tamaño. • Prueba de Shinoda: presencia de color • Prueba de Tricloruro Férrico: cambio de color. • Prueba de la gelatina 1 %: precipitado blanco • Prueba de Lieberman-Burchard: cambio de color • Prueba de H₂SO₄: coloración de amarillo a rojo • Prueba Hidróxido de amonio: presencia de un color rosado

Fuente: Abreu y Hernández (2023).

Tabla 4. Operacionalización de la Variable Dependiente

Variable	Tipo	Definición conceptual ¿Qué es?
Actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de <i>Platymiscium pinnatum</i>	Dependiente Cualitativa	Es la propiedad que tienen los productos naturales tales como los extractos de las plantas de poseer fitoquímicos capaces de producir efectos inhibitorios frente a un determinado microorganismo (Rivas, Oronday y Verde-Star, 2016)
Definición Operacional ¿Cómo se mide?	Dimensiones	Indicador
La actividad antibacteriana se mide por la técnica del Método de difusión en agar por disco (Kirby-Bauer).	<p>Bacterias Gram Positivas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>S. aureus</i> ATCC 25923 • <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 <p>Bacterias Gram Negativas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357 • <i>E. coli</i> ATCC 25922 • <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 	Presencia o ausencia del halo de inhibición (en mm) frente a cepas Gram Positivas y Gram Negativas

Fuente: Abreu y Hernández (2023)

Hipótesis

De acuerdo a los diferentes estudios reportados sobre la variedad de actividades biológicas de compuestos orgánicos presentes en diferentes órganos vegetales del género *Platymiscium* spp.; es de esperar que los metabolitos secundarios encontrados en la corteza de la especie *P. pinnatum* posean actividad antibacteriana frente a las diferentes cepas bacterianas empleadas.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Según Hurtado (2010), los tipos de investigación están relacionados con el logro esperado durante el proceso de investigación. Específicamente, existen diferentes tipos de investigación: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. Al respecto, una investigación de tipo confirmatoria requiere de una explicación previa o una serie de hipótesis o conjeturas. Su finalidad es verificar una o más hipótesis emanadas de una teoría, a partir de la experiencia directa. En tal sentido, esta investigación es de tipo confirmatoria, ya que su objetivo fue confirmar la actividad antibacteriana y la composición química del extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum* en cepas bacterianas Gram Positivas y Gram Negativas.

Diseño de la Investigación

Para la recolección de los datos se requiere un diseño de investigación representado por las estrategias pertinentes. Al respecto, Hurtado (2010) refirió que tales estrategias están representadas por el dónde, cuándo y la amplitud de la información que se quiere recolectar. Específicamente, el dónde en ésta investigación estuvo representado por el Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes; por lo tanto, el diseño es de laboratorio. Respecto al cuándo, es de diseño contemporáneo y transeccional ya que, la recolección sucedió durante el desarrollo de la

investigación y porque la muestra se tomó una sola vez. En cuanto a la amplitud de la información, el diseño fue univariable, ya que el evento de estudio estuvo constituido por el objeto y un solo sujeto de estudio.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

Para Arias (2004), la unidad de investigación, es un conjunto finito o infinito de elementos con características comunes para los cuales serán extensivas las conclusiones de la investigación. Por lo tanto, la unidad de estudio estuvo representada por la corteza de *Platymiscium pinnatum*, situada en la Ciudad de Upata, ubicada al nor-este del Edo. Bolívar, Venezuela.

Selección de Tamaño Muestral

La muestra estuvo representada por la corteza de *Platymiscium pinnatum* que fue recolectada en los alrededores de la Ciudad de Upata, ubicada al nor-este del Edo. Bolívar, Venezuela.

Sistema de Variables

Según Arias (2004) define las variables como una característica o cualidad; magnitud o cantidad, que pueden sufrir cambios, y que es objeto de análisis, medición, manipulación o control de una investigación. Estas a su vez se clasifican en variables dependientes e independientes. En un estudio experimental; la variable dependiente es la característica que se investiga y

que siempre debe ser evaluada: mientras que, la variable independiente es la característica que se puede medir por separado y que puede ser causa de la variable dependiente. En tal sentido, las variables de esta investigación estuvieron representadas por la variable dependiente: Actividad antibacteriana del extracto etanólico de la especie *P. pinnatum* y la variable independiente: Ensayo fitoquímico del extracto etanólico en la corteza de *P. pinnatum*.

Instrumento de Recolección de Datos

Un instrumento de recolección de datos no es más por cualquier recurso, dispositivo o formato (en papel o digital), que se utiliza para obtener, registrar o almacenar información (Arias, 2004). Del mismo modo, Palella y Martins (2004) mencionan que para dicha recolección de los datos se utilizan técnicas como la observación, la entrevista, encuestas, entre otros. En consecuencia, en este proyecto de investigación fue empleada la observación estructurada como técnica, cuyo propósito fue observar la presencia o ausencia de los diferentes compuestos químicos presentes en los extractos de la planta; mediante reacciones químicas cualitativas. Al mismo tiempo, de describir la presencia o ausencia de los halos de inhibición frente a las concentraciones de los extractos de *Platymiscium pinnatum*.

Procedimientos de la Investigación

Recolección de la muestra: se recolectó la corteza en la población de Upata, estado Bolívar, Venezuela.

Preparación del material vegetal: Luego de la recolección del material botánico, la corteza se llevó hacia una carpintería para ser cortada y molida a un polvo fino para su posterior extracción, llevándose a cabo las medias

pertinentes para evitar la contaminación de la muestra. Posteriormente, se verificó que el polvo fino se encontrara limpio y que cumplía con las características exigidas.

Obtención de los extractos de la especie vegetal: se pesaron 200 g de polvo fino de la corteza, los cuales se trasvasaron en un balón junto con 2 litros de etanol. Luego, se colocó el balón en una manta eléctrica, conectado a un refrigerante, a una temperatura de 50° C, cuando comenzó a ebulir y gotear, se bajó la temperatura a 40° C por 1 hora aproximadamente. Posterior a este proceso, se dejó enfriar y se filtró la solución. Consecutivamente se colocó el extracto en un balón de 1000 mL, se llevó a cabo la concentración del mismo en el rotavaporador, a una temperatura de 60° C a 200 rpm. Finalmente, el extracto se colocó en un envase pequeño y se llevó a secar a una estufa a 40 ° C durante cinco días.

Determinación Cualitativa de los Metabolitos Secundarios Presentes en el Extracto Etanólico de *P. pinnatum*

Una vez que se obtuvieron los extractos se realizó el respectivo ensayo fitoquímico cualitativo para la determinación de la presencia de los metabolitos secundarios en la corteza; en el cual se emplearon diferentes técnicas. A continuación:

Prueba de Wagner, de Mayer y de Dragendorf: Prueba cuya utilidad es la determinación de alcaloides, para ello se tomó una porción del extracto etanólico, y se adicionarán 5 mL del HCl al 10 %. A continuación, se calentó la solución en baño de maría por 10 minutos y se dejó enfriar a temperatura

ambiente. Luego, se tomó una alícuota de la solución para cada ensayo con los reactivos Wagner, Mayer y de Dragendorff, cada uno por separado. Se considera como positiva las pruebas que formen un precipitado de naranja a rojo en caso del reactivo de Wagner y el de Mayer. Asimismo, un precipitado naranja con Dragendorff (Domínguez, 1979).

Prueba altura de la espuma: Esta prueba es utilizada para detectar la presencia de saponinas. En definitiva, consistió en agregar una porción del extracto a un tubo de ensayo y disolverlo añadiendo agua caliente, posteriormente se dejó reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente y se agitó enérgicamente por 2 minutos. La prueba se considera positiva con la formación de espuma con apariencia de panal de abejas (Domínguez, 1979).

Prueba Shinoda: Es empleada para la detección de flavonoides, la prueba consistirá en mezclar trozos de cinta de magnesio, HCl concentrado y el extracto de la planta. La formación de una coloración naranja a rojo indica la presencia de flavonas, si es rojo flavonoles y si es magenta flavononas (Domínguez, 1979).

Prueba de FeCl_3 : Es una prueba utilizada para determinación de fenoles. Se llevó a cabo disolviendo una pequeña porción de la muestra en 1 mL de disolvente y se añadió unas gotas de cloruro férrico al 5 %. La presencia de una coloración verde oscura o negra indica la positividad de la prueba (Domínguez, 1979).

Prueba de la Gelatina 1%: Su utilidad reside en la detección de taninos y polifenoles, por lo cual consistió en disolver una pequeña porción del extracto y tomar una alícuota de 1 mL. Finalmente, se le añadió 4 gotas de dilución

acuosa de gelatina al 1 % y se mezcló. Se considera positiva la aparición de un precipitado (Domínguez, 1979).

Prueba de Lieberman-Burchard: Esta prueba es empleada para la determinación de esteroides y triterpenos. Por consiguiente, se agregó 2 mL de anhídrido acético y 2 mL de cloroformo al extracto de la planta. La mezcla que resultó se dejó enfriar y se añadió H₂SO₄ concentrado. El color verde, azul, violeta o rosa indica la presencia de esteroides y el color rojo o pardo indica la presencia de triterpenos (Domínguez, 1979).

Determinación de la Actividad Antibacteriana de los extractos en la corteza de *Platymiscium pinnatum*

www.bdigital.ula.ve

En este estudio se utilizaron cinco cepas bacterianas obtenidas del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Dos de ellas Gram Positivas; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y tres Gram Negativas; *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357) y *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 27853). La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en agar con discos de Kirby-Bauer, de acuerdo a la metodología descrita por Velasco, Rojas, Salazar, Rodríguez, Díaz, Morales y Rondón (2007).

Seguidamente, cada inóculo se diseminó con un hisopo estéril en la superficie de las placas que contengan Agar Müller-Hinton, posteriormente se colocó un disco de papel filtro, impregnado con 10 µL del extracto a una concentración de 10 mg/mL, junto con los disco de control positivo y el disco de control negativo (DMSO) según el microorganismo en estudio. Las placas

se dejaron alrededor de 30 minutos a temperatura ambiente y luego se incubaron a 37 °C en aerofilia durante 24 horas. La actividad antibacteriana se vio evidenciado por halos de inhibición alrededor de los discos.

Preparación de pre-inóculos bacterianos: las cepas a ensayar se incubaron en agar Müller-Hinton a 37 °C en aerofilia por 16 a 18 horas antes de efectuar el ensayo microbiano, debido a que durante ese tiempo las bacterias adquirieron los nutrientes necesarios para su crecimiento, concretamente en su fase exponencial (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2003).

Preparación del inóculo bacteriano: una vez que se obtuvieron las cepas bacterianas frescas y purificadas se preparó el inóculo bacteriano con la ayuda de un asa en aro estéril, cerca de un mechero encendido, se tomó una pequeña asada de la colonia para preparar una suspensión en solución salina fisiológica estéril (0,85 %) hasta que se obtuvo una turbidez visualmente comparable con el patrón 0,5 Mc Farland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC (Unidades Formadoras de Colonias) (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2003).

Preparación de las placas: Esto consistió en colocar 20 mL de Müller-Hinton el cual fue previamente preparado y esterilizado en cada placa, a una temperatura no mayor a los 40 °C, luego se dejó solidificar a temperatura ambiente (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2003).

Preparación de los discos: Aquí se utilizaron discos de papel filtro Whatmann N° 1 (6 mm de diámetro), los cuales se esterilizaron con luz ultravioleta (LUV) durante toda una noche. Antes de la preparación del

inóculo se impregnó los discos de papel con 10 μ L del extracto con una concentración de 10 mg/mL. Por consiguiente, se usaron los estándares (Controles positivos y negativos), para ello, se emplearon discos de antibióticos comerciales de Eritromicina, Ampicilina y Piperacilina para el control positivo, con la finalidad de medir la sensibilidad de los microorganismos a estudiar y como control negativo, discos impregnados con 10 μ L del solvente dimetilsulfóxido (DMSO) para verificar que el halo de inhibición es provocado por el extracto y no por el solvente (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2003).

Diseño de Análisis de los Datos

Los datos fueron recolectados durante la fase interactiva de la investigación y analizados a través de los enfoques cuantitativos y cualitativos. El enfoque cuantitativo utilizó el análisis y la recolección de datos para contestar preguntas de investigación y probar hipótesis establecidas previamente. Por lo tanto, en el presente estudio este tipo de datos estuvo dado por la actividad antibacteriana, en cuanto a la medición, a la presencia o la ausencia de los halos de inhibición. No obstante, en el análisis de los datos de la investigación no se emplearon métodos estadísticos, puesto que los datos que se obtuvieron en las pruebas preliminares fueron compilados de forma cualitativa. Del mismo modo, el enfoque cualitativo se basó en métodos de recolección de datos, sin conteo, sin medición numérica, fueron más utilizadas las descripciones y observaciones. De manera que, este enfoque estuvo dado por el ensayo fitoquímico y sus diferentes pruebas.

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

La corteza molida de *Platymiscium pinnatum* fue sometida a un proceso de reflujo en caliente con un solvente orgánico: etanol, obteniéndose un extracto (Tabla 5). El extracto presentó un color marrón oscuro, olor característico y aspecto condensado.

Tabla 5. Peso de la corteza de la planta, junto al peso del extracto, para obtener el porcentaje de rendimiento

Partes de la Planta	Peso	Peso del Extracto	Rendimiento del Extracto
Corteza molida	200g	Extracto Etanol: 19,31g	9.655%

Elaborado por Abreu y Hernández (2023).

Ensayo Fitoquímico Preliminar

El extracto etanológico de *Platymiscium pinnatum* fue sometido a las pruebas químicas preestablecidas para conocer el grupo de metabolitos secundarios presentes en la corteza; siendo de forma cualitativa la revelación de cada uno de los componentes por fenómenos químicos de reacción como: turbidez del medio, viraje de color, producción de espuma, precipitados y fluorescencia por exposición a la luz ultravioleta (UV). Dichos fenómenos fueron los indicadores principales para exhibir la presencia de los metabolitos presentes en la especie (Tabla 6).

Tabla 6. Reporte de los resultados del ensayo fitoquímico del extracto de la corteza *P. pinnatum*.

Metabolitos	Prueba	EEC
Alcaloides	Wagner	+
	Mayer	+
	Dragendorf	++
Triterpenos	Lieberman/Burchard	+
Fenoles	Tricloruro férrico	++
Saponinas	Altura de la espuma	-
Taninos	Prueba de Gelatina	-
Flavonoides	Shinoda	+
	NaOH	-
Cumarinas	NH ₄ OH []	+
Antraquinonas	NH ₄ OH	-

Leyenda: (+): Positivo, (++) : Moderado, (+++) : Abundante, (-): Ausente

EEC: Extracto Etanológico Corteza.

Elaborado por Abreu y Hernández (2023).

Continuación Tabla 6. Reporte de los resultados del ensayo fitoquímico del extracto de la corteza *P. pinnatum*

Metabolitos	Prueba	EEC
Quinonas	H ₂ SO ₄ []	-
Lactonas sesquiterpenicas	NaOH +HCl	-

Leyenda: (+): Positivo, (++) : Moderado, (+++) : Abundante, (-): Ausente

EEC: Extracto Etanólico Corteza.

Elaborado por Abreu y Hernández (2023)

Tabla 7. Reporte ilustrado de los resultados positivos del ensayo fitoquímico del extracto de *Platymiscium pinnatum*

Prueba	Reporte
	<p>Prueba: Wagner, Mayer y Dragendorf</p> <p>Metabolito determinado: Alcaloides</p> <p>Reporte: Positivo, formación de precipitado.</p>
	<p>Prueba: Lieberman Burchard</p> <p>Metabolito determinado: Triterpeno</p> <p>Reporte: Positivo, interface marrón.</p>

Elaborado por Abreu y Hernández (2023)

Continuación Tabla 7. Reporte ilustrado de los resultados positivos del ensayo fitoquímico del extracto de *Platymiscium pinnatum*

Prueba	Reporte
	<p>Prueba: Tricloruro férrico (FeCl_3) Metabolito determinado: Fenoles Reporte: Positivo.</p>
	<p>Prueba: Shinoda Metabolito determinado: Flavonoides Reporte: Positivo, cambio de color.</p>
	<p>Prueba: Hidróxido de amonio concentrado NH_4OH [] Metabolito determinado: Cumarina Reporte: Positivo.</p>

Elaborado por Abreu y Hernández (2023)

Evaluación de la Actividad Antibacteriana

En la presente investigación se determinó la actividad antibacteriana mediante el método de difusión en disco en agar (Kirby-Bauer), en un extracto etanólico de corteza, en concentraciones madres de 10 mg/mL, frente a las diferentes cepas bacterianas ATCC: dos especies Gram Positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), dos especies Gram Negativas (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). Los resultados de dicha actividad se muestran en la Tabla 8.

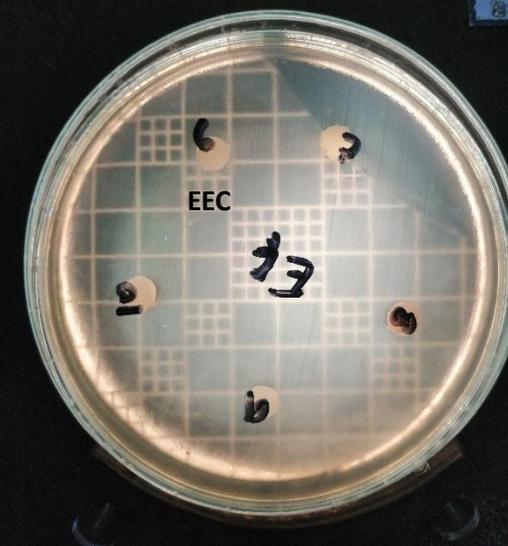
Tabla 8. Resultados de la determinación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum*.

Muestras ensayadas [] 10 mg/mL	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
EEC	0*	0*	7*	7*	7*
Controles Positivos					
Eritromicina® (E)	32*				
Ampicilina® (AMP)		32*			
Piperacilina® (PIP)			27*	27*	27*

Legenda: EEC: Extracto Etanol corteza * : Halos de inhibición en mm.

Elaborado por Abreu y Hernández (2023).

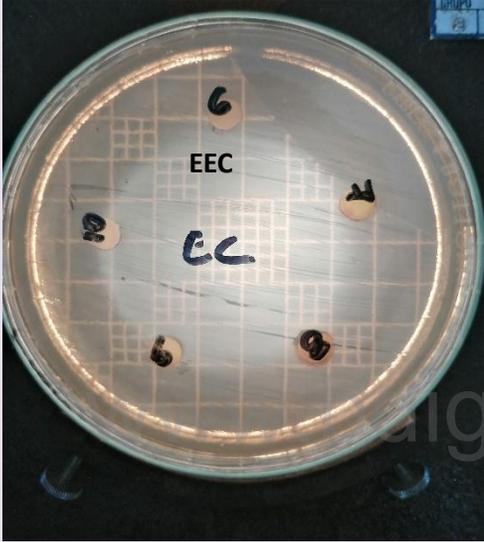
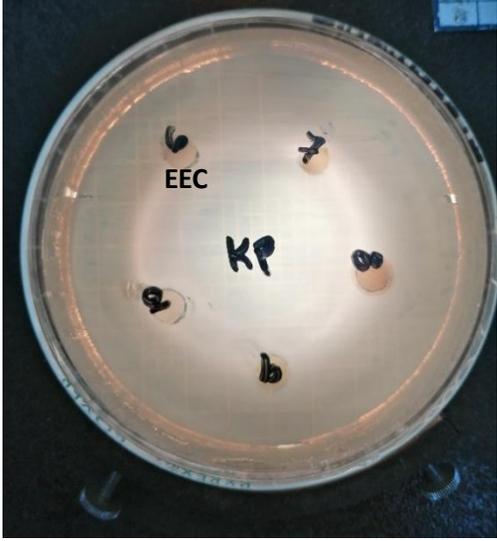
Tabla 9. Reporte ilustrado de los de los resultados de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum*

Prueba	Reporte
	<p>Prueba: Kirby-Bauer</p> <p>Especie en estudio: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>Reporte: EEC: Resistente</p>
	<p>Prueba: Kirby-Bauer</p> <p>Especie en estudio: <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.</p> <p>Reporte: EEC: resistente</p>

Leyenda: EEC: Extracto Etanólico de la Corteza

Elaborado por Abreu y Hernández, 2023

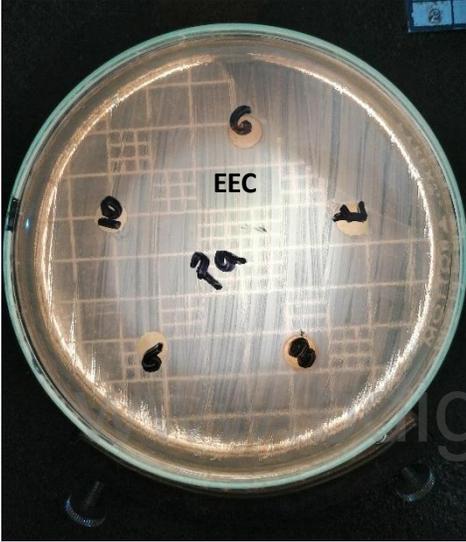
Tabla 9. Reporte ilustrado de los resultados de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum* (Continuación)

Prueba	Reporte
	<p>Prueba: Kirby-Bauer Especie en estudio: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. Reporte: EEC: Sensible</p>
	<p>Prueba: Kirby-Bauer Especie en estudio: <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357. Reporte: EEC: sensible</p>

Leyenda: EEC: Extracto Etanólico de la Corteza

Elaborado por Abreu y Hernández, 2023

Tabla 9. Reporte ilustrado de los resultados de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum* (Continuación)

Prueba	Reporte
	<p>Prueba: Kirby-Bauer</p> <p>Especie en estudio: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.</p> <p>Reporte: EEC: sensible</p>

Leyenda: EEC: Extracto Etanólico de la Corteza

Elaborado por Abreu y Hernández, 2023

Discusiones

La presente investigación dio como resultado un extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum* por la técnica de reflujo en caliente; el cual evidenció a través de diferentes pruebas químicas cualitativas la presencia de algunos metabolitos secundarios tales como: alcaloides, triterpenos, fenoles, flavonoides y cumarinas (Tabla 6). Asimismo se pudo determinar su efecto antibacteriano mediante el método de difusión en disco de agar con las cepas bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, obteniendo halos de inhibición de 7 mm para las últimas tres cepas bacterianas, a una concentración de 10 mg/mL (Tabla 8).

Respecto a la actividad antibacteriana y la composición química del extracto etanólico de *Platymiscium pinnatum* no se encontró ningún registro hasta la fecha, siendo esta investigación un primer reporte para esta especie; estudios anteriores han evaluado la actividad antibacteriana de los géneros *Pterocarpus* también pertenecientes a la familia Fabaceae y se alcanzó encontrar un registro sobre el estudio del *Platymiscium gracile* Benth, con lo cual se pudo hacer un estudio comparativo, mostrado a continuación.

La investigación realizada por Okoli, Umaru y Olawale (2022), indicó que el extracto etanólico de la corteza de *Pterocarpus erinaceus*, reveló la presencia de flavonoides, alcaloides, esteroides y taninos. A su vez, la actividad antibacteriana del extracto etanólico de dicha corteza se llevó a cabo por el método de difusión en pozo de agar frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, con concentraciones de 0,1; 0,15 y 0,2 mg/mL, obteniéndose como resultado halos de inhibición de 2,80; 8,10; 8,83 y 7,10 mm respectivamente todos a la concentración de 0,2 mg/mL del extracto etanólico. De manera que, nuestra investigación refleja en el extracto

etanólico de la corteza la presencia de flavonoides, alcaloides y triterpenos, difiriendo en la ausencia de taninos. Asimismo, dicho extracto con una de concentración de 10 mg/mL, presentó una actividad antibacteriana favorable frente a las cepas bacterianas *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* con halos de inhibición de 7 mm de diámetro cada uno, excepto en *Staphylococcus aureus* en la cual no hubo halo de inhibición.

En este orden de ideas, Mphande, Kataba, Muzandu y Gono-Bwalya (2022), demostraron mediante métodos fitoquímicos cualitativos la presencia de metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides, taninos y saponinas en sus extractos de hexano, cloroformo y metanol de la corteza de *Pterocarpus tinctorius*, atribuyéndole a dichos compuestos activos efectos bactericidas sobre *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*, puesto que el extracto de metanol a una concentración de 100 mg/mL mostró actividad antibacteriana con halos de inhibición de 12,3; 11,9 y 8,3 mm, respectivamente. En definitiva, en nuestra investigación también se logró identificar fenoles y flavonoides presentes en el extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum*, los que pueden ser los responsables de la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ya que originó un halo de inhibición de 7 mm de diámetro. Sin embargo, teniendo en cuenta los resultados de los autores, se puede considerar que la concentración del extracto también afectó la actividad antibacteriana, pues se observó que cuanto mayor es la concentración del extracto metanólico o de cualquier extracto en general, mayor es la actividad antibacteriana; por tanto, la actividad es dependiente de la concentración del mismo.

Finalmente, Cuellar, Martínez, Rojano, Gil y Durango (2020), evaluaron la composición química en los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol presentes en la corteza de *Platymiscium gracile* Benth, así como también la actividad antibacteriana de *Platymiscium gracile* Benth, frente a *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*

obteniendo como resultado, que el extracto de hexano de la corteza a al 1%, provocó halos de inhibición con diámetros de 11 mm para *E. coli*; 12 mm para *S. aureus*; 9 mm para *B. cereus* y 7 mm para *E. faecalis*. Además, en cuanto a la investigación fitoquímica de los extractos de la corteza condujo a la identificación de una chalcona, una flavanona, un triterpeno, una isoflavona y tres pterocarpanos. Por consiguiente, los metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum* (alcaloides, triterpenos, fenoles, flavonoides y cumarinas) tuvieron una acción antibacteriana frente a *E. coli* con halos de inhibición de 7 mm de diámetro, no obstante, frente a las especies *S. aureus* y *E. faecalis* no mostraron actividad.

Bajo esta perspectiva, al comparar nuestros resultados con los estudios previos de diferentes artículos; se demuestra que esta investigación confirma la actividad antibacteriana y la composición química del extracto etanólico de la corteza de *Platymiscium pinnatum* en cepas bacterianas Gram Negativas. Por consiguiente, esto se debe a que la membrana externa de lipopolisacáridos de las bacterias Gram Negativas están constituidas por porinas, las cuales son las principales estructuras proteicas que controlan la permeabilidad de la membrana bacteriana y hacen que las mismas sean más permeables a los metabolitos secundarios de mediana y alta polaridad presentes en los extractos vegetales, extraídos con disolventes polares. Esto implica que los compuestos no polares extraídos con solventes como el hexano o cloroformo no tienen o tienen muy poca actividad antibacteriana contra cepas Gram Negativas (Khameneh, Iranshahy, Soheili y Fazly, 2019).

Asimismo, los resultados de varios estudios han sugerido que los compuestos fenólicos y sus derivados provenientes de extractos de ciertas plantas son responsables del efecto antibacteriano frente a una amplia gama de bacterias, ya que pueden comportarse como activadores e inhibidores del

crecimiento bacteriano dependiendo de su estructura química y concentración. Además, estos interfieren en el metabolismo del microorganismo, al inhibir o retardar la reproducción, respiración y cualquier función vital del mismo. Estas acciones la realizan mediante mecanismos como la inactivación de sistemas enzimáticos que impiden funciones vitales, la destrucción de la pared y la membrana, produciendo apoptosis celular (Velasco y cols., 2019; Mphande y cols., 2022).

De la misma forma, los alcaloides también poseen mecanismos de acción inhibitorios de crecimiento de los microorganismos patógenos, basado en su capacidad de intercalarse con el ADN, detener la síntesis de proteínas, inducir la apoptosis e inhibir enzimas del metabolismo de los carbohidratos. Por estas razones, se le atribuyen actividades bactericidas o bacteriostáticas, considerando así que los compuesto fenólicos y los alcaloides tienen el mismo mecanismo de acción que el cloranfenicol solo que con una actividad más débil (Velasco y cols., 2019).

Finalmente es importante acotar que la distribución geográfica de esta especie podría afectar la composición química y las dosis de los metabolitos presentes en la misma, ya que se tiene antecedentes que factores geoclimáticos como la radiación solar, la humedad y la fertilidad del suelo pueden afectar la síntesis de metabolitos secundarios.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Considerando la interpretación de los resultados en esta investigación la autora menciona las siguientes conclusiones:

1. Se confirmó la composición química preliminar del extracto de *P. pinnatum* por medio del ensayo fitoquímico, logrando la identificación de los siguientes metabolitos secundarios como: fenoles, alcaloides, triterpenos, flavonoides y cumarinas.
2. El extracto de etanol presentó actividad antibacteriana contra las cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* con halos de inhibición de 7 mm de diámetro a una concentración de 10 mg/mL.
3. El extracto etanólico no reveló actividad antibacteriana contra las cepas bacterianas de *S. aureus*, y *S. faecalis* pues sus halos de inhibición fueron de 0 mm de diámetro.

Recomendaciones

- Probar con mayores concentraciones del extracto o aplicar la técnica de concentración mínima inhibitoria (CMI) para evaluar si hay mayor actividad antibacteriana.
- Efectuar pruebas con solventes como hexano, cloroformo, metanol u otros y comparar la variabilidad del efecto antibacteriano frente a las ya antes probadas cepas bacterianas.
- Realizar pruebas con extractos de las raíces, frutas, hojas o semillas de *Platymiscium pinnatum* para confirmar si presentan actividad antibacteriana.
- Llevar a cabo estudios antibacterianos frente a otras cepas patógenas.
- Emplear técnicas cromatográficas para aislar e identificar metabolitos secundarios nuevos que posiblemente estén presentes en el extracto de la corteza de la especie *Platymiscium pinnatum*, de la misma forma como lo hicieron los investigadores con el *Platymiscium gracile* Benth.
- Analizar si el extracto de la corteza de *P. pinnatum* presenta otro tipo de actividad biológica como antifúngica o antioxidante.
- Priorizar investigaciones de actividad biológica en otras especies poco estudiadas del Género *Platymiscium*, sobre todo en aquellas en peligro de extinción, para que se concientice sobre la posible pérdida permanente de fármacos potenciales.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Álvaro, C., Mendoza, C., y Pachón M. (2009). Revisión: uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses. *Revista Temas Agrarios*, 14(1), 5-16.
- European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing. (2003). Determination of minimum inhibitory concentration (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(8), 9-15.
- Arias, F. (2004). *El proyecto de la investigación. Introducción a la metodología científica*. Caracas, Venezuela: Editorial Episteme.
- Arredondo, J., Echeguren, A., Arzate, P., y Medina, J. (2018). Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* y *faecium* en un hospital de tercer nivel. *Revista Latinoamericana de Infectología Pediátrica*, 31(2), 56-61.
- Ávalos, A., Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de las plantas. Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid. España.
- Avellaneda, S., Rojas, N., Cuéllar, A., y Fonseca, R. (2005). Actividad antibacteriana de *Diphysa minutifolia* Rose. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 10 (2), 1-10.
- Azuero, A., Jaramillo, C., San Martín, D., y D' Armas, H. (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. *Revista Ciencia UNEMI*, 9 (20), 11-18.
- Baños, M., Somonte, D., y Morales, V. (2015). Infección nosocomial. Un importante problema de salud a nivel mundial. *Revista Latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio*, 62 (1), 33-39.

- Barrios, A. (1996). Microbiología. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 1(1), 60-61
- Berdonces, J. (2003). Historia de la fitoterapia. *Natura medicatrix*, 21(3), 142-152.
- Bermúdez, A., Oliveira, M., y Velázquez, D. (2005). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Asociación Interciencia*, 30 (8), 453-459.
- Bisso, A. (2018). Resistencia a los antimicrobianos. *Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna*, 31 (2), 50-59.
- Buchanan, B., Grissem, W., y Jones, R. (2015). *Biochemistry & Molecular Biology of Plant*. United Kingdom: John Wiley & Sons, Ltd
- Calvo, J., y Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(1), 44-52.
- Canales, D., Carazo, L., y Centeno, J. (2011). *Determinación de los metabolitos secundarios de la hoja seca de la especie vegetal Cordia inermis mediante tamizaje fitoquímico*. [Trabajo de grado para optar por el título de licenciado en Química Farmacéutica]. Universidad Nacional autónoma de Nicaragua. Facultad de Ciencias Químicas., León- Nicaragua.
- Cantero, J., Núñez, C., Bernardello, G., Amuchastegui, A., Mulko, J., Brandolin, P., Palchetti, M., Iparraguirre, J., Virginil, N., y Ariza Espinar, L. (2019). Las plantas de importancia económica en Argentina. Argentina: Editorial: UniRío Editora.
- Cardenas, J., Castillo, O., De Camara, C., y González, V. (2018). Combatiendo la resistencia bacteriana, una revisión sobre las terapias alternas a los antibióticos convencionales. *Boletín Venezolano de Infectología*, 29 (1), 11-19.

- Carrion, J., García, C. (2010). Preparación de extractos vegetales. Determinación de Eficiencia Metódica. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N., y Rueda, N. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnos schultesiana krukoff*). *Revista Colombiana Forestal*, 12(1) ,161-170.
- Castañeda, R., Gutiérrez, H., Carrillo, E., 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.
- Cervantes, E., García, R., y Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica Médica de Laboratorio*, 61 (1), 28-40.
- Cortez, V., Macedo, J., Hernández, M., Arteaga, G., Espinosa, D., y Rodríguez, J. (2004). Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Revista Biomédica*, 15 (2), 123-136.
- Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-82.
- Crozier, A., Jaganath, I., Clifford, M. (2006). Phenols, polyphenols and tannins: an overview. En Crozier, A., Clifford, M.N., y Ashihara, H. (Eds.), *Plant Secondary Metabolites Occurrence Structure and Role in the Human Diet* (pp. 1–24). India: Blackwell Publishing.
- Cuellar, J., Martínez, J., Rojano, B., Gil, J., y Durango, D. (2020). Chemical composition and antioxidant and antibacterial activity of *Platymiscium gracile* Benth.: A species threatened by extinction. *Journal of King Saud University – Science*, 32(1), 702–708.

- Devia, C., Moncaleano, A., y Niño, L. (2014) Flora del bosque seco de los archipiélagos islas del Rosario y San Bernardo. Cartagena, Colombia: Editorial Indecor-Universidad Jorge Tadeo Lozano.
- Do Nascimento, F., Diniz, E., de Mezquita, L., Martins, A., y Costa T. (2008) Extractos vegetales en el control de plagas. *Revista verde de agroecología e desenvolvimento sustentável*, 3 (3), 01-05.
- Domingo, D., y López, M (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*, 16(4), 385-393.
- Domínguez, X. (1979). *Métodos de Investigación Fitoquímica*. México: Editorial Limusa.
- Falcão, M., Pouliquem Y., Lima, M., Gramosa, N., Costa L., Militão, G., Pessoa, C., De Moraes, M., y Silveira, E. (2005). Cytotoxic flavonoids from *Platymiscium floribundum*. *Journal of Natural Products*, 68 (3), 423- 426.
- Florey, H. (1949). "Antibiotics". Oxford Medical Publications, London, 580-581, Vol. I.
- Foresto, E. (2021). ¿Qué es una leguminosa y cómo se clasifican? Una actualización para estudiantes de nivel medio y superior. *Revista de Educación en Biología*, 24(1), 27-38.
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo. Ecuador. *Anales de la facultad de medicina*, 77 (4), 327-332.
- Gasaly, N., Riveros, K., Gotteland, M. (2020). Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Revista Chile Nutrición*, 47(2): 317-327.
- Gómez, L., Espino, C., Guerrero, E., Morán, J., López L, Montenegro, G., Olmedo, D., y Gupta, M (2014). Cribado de la actividad antimicrobiana de plantas panameñas de la familia Fabaceae. *Revista Médica de la Universidad de Costa Rica*, 8(2), 11-23.

- Huber, J. (1909). Novitates Florae Amaronicae. Boletín Museu Goeldi, 6 (1), 60-90.
- Hurtado, J. (2010). *El Proyecto de la Investigación. Comprensión holística de la metodología de la investigación*. Caracas, Venezuela: Ediciones Quirón.
- Kasote, D., Katyare, S., Hegde, M., y Bae, H. (2015). Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications *International Journal of Biological Sciences*, 11(1), 982-991.
- Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V., y Fazly, B. (2019). "Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint". *Antimicrobial resistance and infection control*, 8(1), 1-28.
- Klitgaard, B. (2005). *Platymiscium* (Leguminosae: Dalbergieae): biogeography systematics, morphology, taxonomy and uses. *Kew Bulletin*, 60 (3), 321-400.
- Lamarque, A., Zygadlo, J., Labuckas, D, López, L., Torres, M., Maestri, D. (2008). *Fundamentos Teóricos- Prácticos de Química Orgánica*. Córdoba, Argentina: Editorial Encuentro.
- Lewis, G., Schrire B., Mackinder, B., y Lock, M. (2005). *Legumes of the World*. Richmond, U.K.: Royal Botanic Gardens, Kew.
- Llamas, F., y Acedo, C. (2016). Las leguminosas (Leguminosae o Fabaceae): una síntesis de las clasificaciones, taxonomía y filogenia de la familia a lo largo del tiempo. *AmbioCiencias. Revista de divulgación*, 14(1), 5-18.
- López, J., Echeverri, L. (2010). *K. pneumoniae*: ¿la nueva "superbacteria"? Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia. *Revista IATREIA*, 23(2), 157-165.

- López, L., Hernández, M., Colín, C., Ortega, S., Cerón, G., y Franco, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Revista Investigación en Discapacidad*, 3 (1), 10-18.
- López, R., y Cárdenas, D. (2002). *Manual de identificación de especies maderables objeto de comercio en la Amazonia colombiana*. Colombia: Producción editorial.
- Macnalty, S. (1995). The life and work of Sir Alexander Fleming. *The Journal of the Royal Institute of Public Health and Hygiene*, 18 (6), 171-174.
- Makkar, H., y Becker, K. (2007). Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Animal*, 1(9), 1371–1391.
- Marcano, D., y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica orgánica*. Caracas: Editorial Torino.
- Marek, D. (2011). Louis Pasteur in His Laboratory: Entry of Chemistry into Medicine. *Clinical chemistry*, 57(2), 356-358.
- Martin, G. (2002) Resistencia Bacteriana a b-lactámicos. Evolución y Mecanismos. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 21 (1), 107-116.
- Martin, G. (2018). Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*; 9(1), 81-104.
- Martínez, M., Ocampo, D., Galvis, J., y Valencia, A. (2011). Actividad antibacteriana y citotoxicidad *in vivo* de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16 (4), 313-323.
- Mesa, A. (2017) Una visión histórica en el desarrollo de fármacos a partir de productos naturales. *Revista mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 48 (3), 16-27.

- Miranda, E., Espinosa J., Centurión, D., Velázquez, J., Alor, M (2012). Actividad antimicrobiana de extractos de *Psidium friedrichsthalianum* L., *Pterocarpus hayesii* L., *Tynanthus guatemalensis* L. y *Spondias purpurea* L. *Boletín Americano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11 (4), 354-361.
- Mphande, I., Kataba, A., Muzandu, K., y Gono, A. (2022). An evaluation of the antibacterial activity of *Pterocarpus tinctorius* Bark extract against enteric bacteria that cause gastroenteritis. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2022(1), 1-9.
- Muñoz, K., Arango, G., y Jaramillo, M. (2004). Los antibióticos y su situación actual. *Revista Vitae*, 11(1), 21-33.
- Musto, A., e Iserte, J. (2013). *Manual de microbiología y parasitología*. Buenos aires: Editorial Universidad Nacional Arturo Jauretche.
- Okoli, E., Umaru, I., y Olawale O. (2022). Phytochemical screening, antibacterial effects and antioxidant activities of ethanolic stem bark extract of *Pterocarpus erinaceus*. *Singapore Journal Scientific Research*, 12 (4), 170-179.
- Organización Mundial de la Salud. (2021). El impacto de la COVID-19 en la resistencia antimicrobiana. Disponible: <https://www.paho.org/es/noticias/17-11-2021-impacto-covid-19-resistencia-antimicrobiana> [Consultado: 2023, febrero 25]
- Owais, A., Ahmad, S., Rehman, T., Mumtaz, W, Bilal, M., y Arshad, A. (2018). Screening of biological activities of some Leguminosae (Fabaceae) family plants. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6 (2), 132-137.
- Palella, S., Martins, F. (2004). *Investigación cualitativa*. Caracas: FEDUPEL.
- Patra, A., y Saxena, J. (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71(1), 1198–1222.

- Patra, A., y Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1), 24–37.
- Prats, G. (2012). *Microbiología Clínica*. Barcelona, España: Editorial Médica Panamericana.
- Ramírez, L., y Castaño, D. (2009). Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica*, 15 (42), 263-268.
- Repici, L. (2003). Teodoro Gaza translator and interpreter of Teofrasto: The recension of ancient botanics in 15th and 16th centuries. *Rinascimento*, 43 (1), 417-505.
- Reyes, R., Gomez F., Moreno, G., Jiménez, M., y Quiroz, R. (1998). Flavonoids and isoflavonoids with antifungal properties from *Platymiscium yucatanum* Heartwood. *Holzforschung*, 52 (5), 459-462.
- Ringuelet, J., y Viña, S (2013). *Productos Naturales Vegetales*. Buenos Aires, Argentina: Editorial de la Universidad de La Plata.
- Rivas, C., Oranday M., Verde-Star, M. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. México: Editorial OmniaScience.
- Román, F., De Liones, R., Sautu, A., Deago, J., y Hall, J. (2012). *Guía para la preparación de 120 especies de árboles nativos de Panamá y el Neotrópico*. Panamá: Editorial Environmental Leadership and Training.
- Rosenfeld, L. (2002). Insulin: Discovery and controversy. *Clinical chemistry*, 48 (12), 2270-2288.
- Sannomiyaa, M., Ninga, L., Pereira, M., Lima, D., y Honorio, K. (2018). Aportes químicos y farmacológicos de Especies *Platymiscium* ("Jacarandá"). *Revista de Farmacognosia y Fitoquímica*, 7 (6), 1600-1605.
- Sarin, R. (2005) Useful metabolites from plant tissue cultures. *Biotechnology*, 4 (1), 79-93.

- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Colombia: Editorial CYTED.
- Shilpa, K., Varun, K., Lakshmi BS. (2010) An alternate method of natural drug production: Eliciting secondary metabolite production using plant cell culture. *Journal of Plant Sciences*, 5 (1), 222-247.
- Sierra, E., y León, M. (2019). Terapia antibacteriana: origen y evolución en el tiempo. *Revista Médica Electrónica*, 41(5), 1300- 1309.
- Silhavy, TJ, Kahne, D., y Walker, S. (2010). The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2 (1), 1- 16.
- Simbaña, E. (2022). *Leguminosas: evaluación de sus compuestos nutricionales y bioactivos*. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Ambato, Ecuador.
- Soriano, A. (2020). Ácidos fenólicos como agentes antibacterianos en el desarrollo de materiales activos para el envasado de alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Tarazona, R., Valdez, R., y Lezama, P. (2022). Las leguminosas y su microbioma en la agricultura sostenible, Lima, Perú: Editorial Universidad Nacional de Barranca.
- The Legume Phylogeny Working Group (LPWG) (2017). A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *TAXON*, 66 (1), 44–77.
- Troiani, H., Prina, A., Muiño, W., Tamame, M., y Beinticinco, L. (2017). Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía. Argentina: Universidad Nacional de la Pampa.
- Valencia, E., MacDonald, D., Cuyos, M., y Dueñas, R. (2005). Extracción, identificación, y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. *Revista Biotempo*, 5(1), 31-36.

- Vargas, T., y Kuno, A. (2014). Morfología bacteriana. *Revista de Actualización Clínica*, 49(2), 2594-2598.
- Velasco, J., Rojas, J., Salazar, P., Rodríguez, M., Díaz, T., Morales, A., Rondón, M. (2007). Antibacterial activity of the essential oil *Lippia oreganoides* against multiresistant bacterial strains of nosocomial origin. *Natural Product Communications*, 2, 85-88
- Velasco, W., Pabón, L., y Hernández, P. (2019). Plantas medicinales: aspectos básicos de una alternativa terapéutica emergente para el control de las infecciones oculares bacterianas. *Revista Umisalle* 15(1), 57-69.
- Vélez, M., Campos, R., y Sánchez, H. (2014). Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17(1), 489 – 499.
- Veloso, P., Pimenta, A., de Sousa, F., Falcão, M., Gramosa, N., da Silva, J., Silveira, E., y Lima, M. (2012). New Flavonoids and coumarins from *Platymiscium floribundum* Vogel. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23 (7), 1239–1243.
- Vila-Nova, N., de Moraes, S., Falcão, M., Alcantara, T., Ferreira, P., Cavalcanti, E., Vieira, I., Campello C., y Wilson, M. (2013). Different susceptibilities of *Leishmaniaspp*, promastigotes to the *Annona muricata* acetogenins annonacinone and corosolone, and the *Platymiscium floribundum* coumarin scoparone. *Experimental Parasitology*, 133 (3), 334-338.
- Vivot, E., Sánchez, C., Cacik, F., y Sequin, C. (2012). Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de entre ríos (Argentina). *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 23 (45), 165-185.
- Xena, N., y Agostini, G. (1987). Revisión taxonómica del género *Platymiscium* vog. (*Leguminosae: Faboideae, Dalbergieae*) en Venezuela. *Acta Botánica Venezolánica*, 15(2), 99-131.

- Zarza, V., Mangwani, S., Martínez, A., Álvarez, D., Solano, S., y Vázquez, R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista Chilena de Infectología*; 36 (2), 180-189.
- Zhou, W., Oh, J., Li, W., Kim, D.W., Lee, S., y Na, M. (2013). Phytochemical studies of korean endangered plants: A new flavone from *Rhododendron brachycarpum* G. Don. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 34 (8), 2535-2538.

www.bdigital.ula.ve