

INVESTIGACIÓN ORIGINAL

CRIBADO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PLANTAS PANAMEÑAS DE LA FAMILIA FABACEAE

Gómez Leija, Leandra¹; Espino Castellero, Carmen²; Guerrero De León, Estela¹; Morán Pinzón, Juan¹; López Pérez, José Luis³; Montenegro Navarro, Gisela¹; Olmedo Agudo, Dionisio⁴ y Gupta, Mahabir Prashad⁴.

¹Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá. ²Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá. ³Departamento de Química Farmacéutica, Facultad de Farmacia-IBSAL-CIETUS, Universidad de Salamanca. ⁴Centro de Investigaciones Farmacognósticas de la Flora Panameña (CIFLORPAN), Facultad de Farmacia, Universidad de Panamá.

Resumen: Extractos metanólicos de seis plantas pertenecientes a la familia Fabaceae, *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose, *Dalbergia brownei* (Jacq.) Schinz, *Diplotropis purpurea* (Rich.) Amshoff, *Machaerium* sp., *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb. y de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks, fueron evaluados por el método de dilución en agar en busca de propiedades antimicrobianas.

Albizia adinocephala mostró una marcada actividad frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) a concentraciones de 250 y 125 µg/mL, respectivamente; a 500 µg/mL, inhibió marcadamente a *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*. La actividad de *Ormosia coccinea* frente a *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* fue marcada a 250µg/mL y demostró una actividad entre moderada y marcada frente a cepas resistentes de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC) y SARM (1000 y 500 µg/mL, respectivamente). *Machaerium* sp. produjo una marcada actividad frente a todas las cepas Gram positivas empleadas, resaltando su capacidad para

inhibir a SARM (1000µg/mL). De *Diploptropis purpurea* y *Macroptilium lathyroides* es preciso resaltar su actividad frente a *Klebsiella pneumoniae* y *Bacillus subtilis*, respectivamente.

Debido a su capacidad para inhibir SARM, *Albizia adinocephala*, *Machaerium sp.* y *Ormosia coccinea*, que además inhibió KPC, son las especies más interesantes para futuros estudios biodirigidos encaminados a aislar e identificar los principios bioactivos.

Palabras clave: Antibiótico; Resistencia bacteriana; Albizia; Fabaceae. Fuente: CeCS, BIREME.

Recibido: 12 Marzo 2014. Aceptado: 28 Agosto 2014. Publicado: 7 Octubre 2014.

CURRENT AFFAIRS IN THERAPEUTIC: NEW ANTIBACTERIALS

Abstract: Six methanolic extracts of: *Albizia adinocephala* (JDSm.) Britt. & Rose, *Dalbergia brownei* (Jacq.) Schinz, *Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff, *Machaerium sp.*, *Macroptilium lathyroides* (L) Urb. and *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks, belonging to the family Fabaceae were evaluated for antimicrobial activity using agar dilution method.

Albizia adinocephala showed strong activity against wild type *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (250 to 125 µg/mL, respectively), meanwhile *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* were inhibited at 500 µg/mL. *Ormosia coccinea* showed strong activity against *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* at 250 µg/mL, and moderate to strong activity against antibiotic-resistant carbapenemase strains of *Klebsiella pneumoniae* (KPC) and MRSA (1000 and 500 µg/mL, respectively). *Machaerium sp.* showed strong activity against Gram-positive strains employed, with a noteworthy activity against MRSA (1000 µg/mL). *Diploptropis purpurea* and *Macroptilium lathyroides* showed a greater antimicrobial activity against *Klebsiella pneumoniae* and *Bacillus subtilis*, respectively.

Because of their ability to inhibit MRSA, *Albizia adinocephala*, *Machaerium sp.* and *Ormosia coccinea*, which are also active against KPC, are the most promising plant species for further bioguided isolation and characterization of bioactive principles.

Key words: Antibiotic; Bacterial resistance; Albizia; Fabaceae. Source: CeCS, BIREME.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son una amenaza importante para la salud humana [1]. En los países tropicales éstas constituyen la principal causa de muertes prematuras [2,3]. Los fármacos antimicrobianos son una de las armas más importantes en la lucha contra las enfermedades infecciosas y su introducción ha contribuido a la mejora de la calidad de vida [4]. Sin embargo, la mayoría de los antimicrobianos tienen limitaciones en términos de su espectro de actividad, el incremento de los costos de producción y los efectos secundarios. Por otra parte, es bien conocido que el uso no racional de estos fármacos por parte tanto de clínicos como de pacientes incide significativamente en el incremento de resistencias [1].

La resistencia a los agentes antimicrobianos se vincula directamente con la pérdida de su eficacia terapéutica, lo que ha causado que muchos de ellos hayan caído en desuso [5]. Debido al aumento en el número de cepas resistentes a los fármacos antimicrobianos tradicionales, en los últimos años se ha incrementado el interés por desarrollar nuevos fármacos y estrategias terapéuticas encaminadas al control de este tipo de agentes patógenos, y así reducir las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) [2]. A este respecto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha considerado a las plantas como una fuente alternativa potencial para la obtención de nuevos agentes terapéuticos útiles en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias resistentes [5, 6].

Esta familia, con una amplia distribución universal (comprende 730 géneros y 19400 especies) es la tercera familia de mayor riqueza natural a nivel mundial [7]. Algunas especies de esta familia se utilizan en la medicina tradicional debido a diversas propiedades terapéuticas [8, 9]. Entre los usos etnobotánicos descritos para distintas especies de las Fabaceae se destaca el tratamiento de la ictericia, el control de procesos

febriles, su empleo en procesos inflamatorios de distinta etiología y el tratamiento del cáncer [9, 10, 11, 12]. Basándose en los usos etnobotánicos descritos, algunos autores han investigado diferentes actividades farmacológicas como se describe en la Tabla N°1. En Panamá, la familia Fabaceae está representada por 108 géneros y 442 especies [8], muchas de las cuales aún no han sido sometidas a ensayos farmacológicos, incluidos los estudios antimicrobianos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de extractos metanólicos de *Albizia adinocephala* (J.D.Sm.) Britt. & Rose, *Dalbergia brownie* (Jacq.) Schinz, *Diploptropis purpurea* (Rich.) Amshoff, *Machaerium* sp., *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb. y de *Ormosia coccinea* (Aubl.) Jacks, mediante un cribado antimicrobiano, para obtener información potencialmente útil en la búsqueda de especies de plantas cuyo perfil farmacológico esté dirigido a inhibir el crecimiento de agentes patógenos, particularmente bacterias resistentes, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y multiresistentes, como *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC), que han causado serios problemas de salud a nivel mundial.

MATERIALES Y MÉTODOS

RECOLECCIÓN DE LAS PLANTAS

Las plantas objeto de este estudio se seleccionaron sobre la base del contenido en polifenoles descritos para especies de la familia Fabaceae (flavonoides, isoflavonoides, taninos, cumarinas, derivados de ácidos fenólicos) y de alcaloides [15].

Adicionalmente, la selección de las partes fue basada en los resultados obtenidos en un estudio preliminar donde se evaluó la actividad antiproliferativa sobre líneas de células de cáncer de mama y próstata (datos no publicados).

La recolección del material vegetal se realizó en diversos lugares del istmo panameño, con climas y tipos de bosques diferentes, con previo permiso de recolección expedido por la Autoridad Nacional del Ambiente (ANAM). Se aseguró que ninguna planta estuviera en la lista de la convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres

(CITES), desarrollada para proteger de la extinción a especies simbólicas. La identificación taxonómica de las plantas fue realizada por los taxónomos: Alex Espinosa y Calos Guerra del Centro de Investigaciones Farmacognósticas de la Flora Panameña (CIFLORPAN). Una muestra voucher de cada planta fue depositada en el Herbario de la Universidad de Panamá (PMA).

Tabla Nº 1. Actividades descritas para las Fabaceae.

Fabaceas	Actividades
<i>Acacia nilotica subsp</i>	Antimicrobiana (contra <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Bacillus subtilis</i>) [9]
<i>Deguelia rariflora</i> (Mart. Ex Benth.) <i>Hymenaea courbaril L.</i>	Nootrópica, psicoactiva, orexigénica, alucinógena, estimulante, afrodisíaca y ansiolítica [13]
<i>Copaifera multijuga</i> Hayne <i>Hymenae courbaril L.</i>	Reduce los procesos inflamatorios (conjuntivitis, sinusitis aguda, inflamación general, cataratas y el reumatismo)
<i>Copaifera multijuga</i> Hayne	Tiene actividades ocitotóxica, anticonceptiva y galactogénica
<i>Bauhinia cf. macrostachya</i> Benth <i>Cassia lucens</i> Vogé <i>Copaifera multijuga</i> Hayne <i>Parkia discolor</i> Spruce ex Benth	Dolor de estómago, hemorroides, enfermedades hepáticas, diarrea infecciosa, estreñimiento y antiparasitaria
<i>Cassia leiandra</i> Benth <i>Vatairea guianensis</i> Aubl.	Problemas dermatológicos (por dermatofitos, pitiriasis versicolor, picazón y en sarna)
<i>Ormosia sp</i>	Sistema genitourinario (dismenorrea, cálculos renales, metrorragia)
<i>Copaifera multijuga</i> Hayne	Sistema Inmunológico (la gripe)
<i>Hymenae courbaril L</i>	Enfermedades tropicales (el dengue y la malaria)
<i>Ormosia sp</i>	Con actividades depurativas y anti-hemorrágicas
<i>Desmodium gangeticum</i> Desmodium <i>adscendens</i>	Leishmaniasis, Inmunomoduladoras, antiasmáticas, relajante muscular, anti inflamatorias, antiulcerosas, cardioprotectoras, antidiabéticas, antiamnésicas, antivirales, antioxidantes y hepatoprotectoras [14]

PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

Las plantas recolectadas fueron desecadas a la sombra a temperatura ambiente ($25\pm 2^\circ\text{C}$). Las partes seleccionadas fueron molidas en un Molino Wiley y el material vegetal pulverizado fue almacenado en bolsas herméticamente selladas durante dos semanas hasta la preparación de los extractos. Entre 50 a 100 gramos del material vegetal fue macerado durante 24 horas con 400 a 600 mL de metanol. Posteriormente el material fue filtrado y evaporado *in vacuo* a temperatura inferior a 40°C en un rotavapor (Büchi 430, Suiza). Finalmente el material fue liofilizado, envasado, pesado y rotulado. En la Tabla N° 2 aparece el nombre científico, la parte de la planta estudiada, nombre común, N° de Voucher, lugar y fecha de recolección así como el rendimiento del extracto.

MICROORGANISMOS Y CONDICIONES DE CULTIVO

Se utilizaron las siguientes cepas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* (aislada del medio ambiente), SARM y KPC; estas dos últimas aisladas de pacientes hospitalizados en el Complejo Hospitalario Dr. Arnulfo Arias Madrid (CHAAM) de la ciudad de Panamá. Todas las cepas utilizadas fueron proporcionadas por el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá.

Las bacterias fueron cultivadas en agar nutritivo e incubadas a $35-37^\circ\text{C}$ durante 18-24 horas. Para realizar los ensayos, las suspensiones bacterianas fueron preparadas en solución salina estéril, obteniendo una suspensión bacteriana 0,5 de McFarland ($1.5 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$), siguiendo las tendencias del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) [25].

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

La actividad antimicrobiana fue determinada utilizando el método de dilución en agar siguiendo las bases del CLSI [25], teniendo en cuenta las modificaciones propuestas por Andrews (2001) y Murphy (1999) para la evaluación de extractos vegetales [26, 27]. Según este protocolo, cada suspensión bacteriana fue inoculada sobre la superficie del agar que contenía el extracto a una concentración de $1000 \mu\text{g/mL}$, y se incubó a una temperatura de entre 35 y 37°C durante 18 a 24 horas. Después del cribado inicial, los extractos metanólicos que inhibieron el crecimiento bacteriano, fueron evaluados en las mismas condiciones a concentraciones decrecientes de 500, 250 y $125 \mu\text{g/mL}$.

Todos los ensayos se realizaron por duplicado, manteniendo como control negativo el disolvente empleado para la disolución de los extractos, dimetilsulfóxido (DMSO al 25%). Como controles positivos se emplearon antibióticos de referencia, gentamicina a una concentración de $2 \mu\text{g/mL}$ para *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *B. subtilis* y de $4 \mu\text{g/mL}$ para *P. Aeruginosa*; vancomicina ($4 \mu\text{g/mL}$) para SARM y tigeciclina ($8 \mu\text{g/mL}$) para KPC.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

La determinación de la actividad antimicrobiana se realizó empleando un método semicuantitativo, mediante el cual se contó el número de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/mL) que crecían en la superficie de los platos Petri que contenían el extracto o el control correspondiente. Los resultados obtenidos se presentan mediante cruces en función de las UFC/mL observadas, ++++ = 0 UFC/mL, +++ = 10 000 UFC/mL, ++ = 50 000 UFC/mL, + = 75 000 UFC/mL y S/A = 100 000 UFC/mL, lo que a su vez

corresponde con marcada, moderada, leve, muy leve y sin actividad antimicrobiana, respectivamente.

RESULTADOS

El cribado inicial, a una concentración de 1000 µg/mL, mostró que *A. adinocephala* posee marcada actividad antimicrobiana frente a *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* y SARM. Esta actividad se mantuvo entre marcada y moderada cuando el extracto fue ensayado a concentraciones de hasta de 250 µg/mL, excepto para *B. subtilis* que a la

misma concentración solo mostró una leve actividad (Tabla N° 3).

Un resultado importante fruto de este trabajo es la marcada actividad que presentó el extracto metanólico de *A. adinocephala* frente a SARM, incluso a bajas concentraciones (125 µg/mL).

El extracto metanólico de las hojas de *D. brownei*, a la máxima concentración empleada, presentó moderada actividad antimicrobiana frente *S. aureus*, *B. subtilis* y *K. pneumoniae*, además de actividad leve y muy leve, frente a *P. aeruginosa* y *E. coli*, respectivamente.

Tabla N° 2. Información de la recolección e identificación de las plantas utilizadas

Nombre científico	Parte de la planta	Nombre común	N° de Voucher	Lugar/Fecha de recolección	% de rendimiento
<i>Albizia adinocephala</i> (J.D.Sm.) Britt. & Rose	Corteza	Frijolillo, guábilo[16] Barbona, chaperno blanco [17]	5118	PNA, Capira, Panamá, Panamá/24 de abril de 2001.	1.72
<i>Dalbergia brownei</i> (Jacq.) Schinz	Hoja	Granadillo[18]	4668	PNAC, Capira, Panamá/13 de marzo de 2000.	3.68
<i>Diploptropis purpurea</i> (Rich.) Amshoff	Tallo	Sucupira[19] Chontaquiro[20]	7951	Agua Clara ANAM, Sierra Llorona, Santa Rita, Colón, Panamá/19 de julio de 2008.	3.16
<i>Machaerium sp.</i>	Tallo	Pulga [21]	7863	Las Peñitas de San Carlos hacia el Valle de Antón, Coclé, Panamá/27 de mayo de 2008.	6.38
<i>Macroptilium lathyroides</i> (L.) Urb.	Raíz	Frijolillo [22] Habichuela parada[23]	7914	Autopista Centenaria hacia Arraiján, Panamá, Panamá/ 12 de julio de 2008.	3.17
<i>Ormosia coccinea</i> (Aubl.) Jacks.	Raquis de inflorescencia	Huayruro, nene o chumico[24]	2203	PNC, Campamento La Aguja, Veraguas, Panamá/4 de septiembre de 1995.	12.48

En el cribado inicial, *D. purpurea*, sólo mostró actividad marcada frente a *K. pneumoniae* y al ser evaluada la susceptibilidad de esta bacteria Gram negativa a menores concentraciones del extracto, se observó un marcado decremento de la eficacia, tanto que a la concentración de 500 µg/mL la actividad encontrada fue leve (Tabla N° 3). La actividad mostrada contra *S. aureus* y *B. subtilis* fue muy leve a la máxima concentración y no presentó actividad contra SARM.

Otra de las especies objeto de este estudio fue *Machaerium sp.* cuyo extracto metanólico fue ensayado a una concentración de 1000 µg/mL inhibiendo completamente el crecimiento de *B. subtilis*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*, así como el de SARM; sin embargo, no resultó muy activa frente a KPC.

Como se observa en la Tabla N° 3, el extracto metanólico de *M. lathyroides* inhibió totalmente el crecimiento de *B. subtilis* hasta la concentración de 500 µg/mL, mostrando una actividad leve contra *S. aureus* y muy leve frente a *P. aeruginosa*, *E. coli* y *K. pneumoniae*.

Uno de los resultados más significativos de este trabajo, como se refleja en la tabla de resultados, es el obtenido con el extracto metanólico de *O. coccinea* que a la máxima concentración ensayada presenta actividad contra todas las bacterias, inhibiendo completamente el crecimiento de cuatro de ellas: *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *S. aureus* y SARM. Además, la inhibición continúa siendo total para dos de ellas, *K. pneumoniae* y *S. aureus* hasta los 250 µg/mL.

Otro de los resultados obtenidos de este trabajo que es preciso remarcar es el hecho de que el extracto metanólico bruto de *O. coccinea*, presumiblemente conteniendo una mezcla compleja de sustancias sea capaz de inhibir de forma moderada el crecimiento de la cepa multirresistente, KPC aislada de pacientes

hospitalizados en el CHAAM de la ciudad de Panamá.

DISCUSIÓN

En concordancia con los resultados obtenidos en este estudio, particularmente cuando se hace referencia a la actividad de *A. adinocephala* frente a *E. coli*, aparecen resultados similares para otras plantas del mismo género, como *A. chinensis* [28], *A. schimperiana* [29] y *A. adianthifolia* [30] que han mostrado actividad frente a este agente patógeno. El espectro de actividad antimicrobiana presentado por *A. adinocephala*, muestra cierta similitud con el reportado para *A. chinensis*, planta que además de inhibir el crecimiento de *E. coli*, también es activa frente a *B. subtilis* y *S. aureus* [28].

Es importante señalar que una actividad antimicrobiana significativa frente a una cepa resistente SARM, también ha sido descrita para otra planta del género, *A. schimperiana* Oliv [29]. Cabe destacar que, aunque otras especies del género han sido objeto de estudios antimicrobianos [30], solo para *A. adinocephala* no existen reportes de estudios de actividad antibacteriana y además se han realizado evaluaciones de su actividad antiparasitaria frente a *Plasmodium falciparum* [31]. Los resultados que se presentan en este trabajo parecen guardar relación con la utilidad terapéutica del género *Albizia* en la medicina tradicional, puesto que plantas de este género se emplean para el tratamiento de la diarrea, la bronquitis y las heridas, procesos en los que distintos agentes microbianos forman parte de la etiología [28, 29, 30, 32, 33].

Por otra parte, al realizar una búsqueda en la bibliografía (Pubmed: *D. brownei*, antimicrobial activity, plant extract), no se han encontrado estudios de actividad antimicrobiana para *D. brownei*, pero sí aparecen para otras especies del mismo género.

Tabla Nº 3. Cribado de la actividad antimicrobiana de los extractos ensayados a diferentes concentraciones en µg/mL

Extracto	Conc. (µg/mL)	Bacterias Gram negativas				Bacterias Gram positivas		
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	KPC	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	SARM
<i>Albizia adinocephala</i> (corteza)	1 000	(++++)	(++)	(++)	N/R	(++++)	(++++)	(++++)
	500	(++++)	S/A	S/A	N/R	(++++)	(++++)	(++++)
	250	(+++)	S/A	S/A	N/R	(++)	(++++)	(++++)
	125	(++)	S/A	S/A	N/R	(+)	(+++)	(++++)
<i>Dalbergia brownei</i> (hojas)	1 000	(+)	(++)	(+++)	N/R	(+++)	(+++)	N/R
	500	S/A	S/A	S/A	N/R	S/A	S/A	N/R
	250	S/A	S/A	S/A	N/R	S/A	S/A	N/R
	125	S/A	S/A	S/A	N/R	S/A	S/A	N/R
<i>Diploporia purpurea</i> (tallo)	1 000	(+)	(+)	(++++)	S/A	(++)	(++)	N/R
	500	S/A	S/A	(++)	N/R	S/A	S/A	N/R
	250	S/A	S/A	(+)	N/R	S/A	S/A	N/R
	125	S/A	S/A	(+)	N/R	S/A	S/A	N/R
<i>Machaerium sp.</i> (tallo)	1 000	(+)	(+)	(++++)	(+)	(++++)	(++++)	(++++)
	500	S/A	S/A	(+++)	N/R	(+++)	(++++)	(+)
	250	S/A	S/A	(++)	N/R	(++)	(+++)	(+)
	125	S/A	S/A	(+)	N/R	(+)	(++)	(+)
<i>Macroptilium lathyroides</i> (raíz)	1 000	(+)	(+)	(+)	N/R	(++++)	(++)	N/R
	500	S/A	S/A	S/A	N/R	(++++)	S/A	N/R
	250	S/A	S/A	S/A	N/R	(+++)	S/A	N/R
	125	S/A	S/A	S/A	N/R	(++)	S/A	N/R
<i>Ormosia coccinea</i> (raquis de inflorescencia)	1 000	(++)	(+++)	(++++)	(+++)	(++++)	(++++)	(++++)
	500	S/A	S/A	(++++)	(++)	(+++)	(++++)	(++++)
	250	S/A	S/A	(++++)	(+)	(++)	(++++)	(++)
	125	S/A	S/A	(++)	(-)	(+)	(++)	(+)

++++ = Ningún crecimiento bacteriano, marcada actividad antimicrobiana; +++ = Crecieron 10 000 UFC/mL, moderada actividad antimicrobiana; ++ = Crecieron 50 000 UFC/mL, leve actividad antimicrobiana; + = Crecieron 75 000UFC/mL, muy leve actividad antimicrobiana; S/A = Crecieron 100 000UFC/mL, no hay actividad antimicrobiana; N/R = No realizado; SARM = *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; KPC = *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa.

Un estudio de actividad llevado a cabo con diferentes extractos de la corteza *D. melanoxyton*, frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *Y. pestis*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*, reveló que los extractos etanólico, en ácido cítrico y de diclorometano, presentaban actividad significativa, mientras que el de éter de petróleo, no mostró actividad [34]. Otro estudio realizado con el extracto metanólico de hojas de *D. nigra*, mostró que la planta era activa contra *B. subtilis* y *E. coli* y muy activa frente a *S. aureus* y *P. aeruginosa* [35].

Estudios fitoquímicos de plantas del género *Dalbergia* han reportado la presencia en especies de este género de propóleos, sustancias ricas en terpenoides, ácidos grasos y flavonoides; sustancias para las que se han descrito actividades antimicrobianas [36, 37].

Los resultados obtenidos en este estudio para *D. brownei*, podrían estar relacionados con los usos que se dan a esta planta en Nicaragua para tratar la diarrea [38], que aunque bien podrían estar involucrados virus y otros parásitos, también pudieran ser causadas por *E. coli* y *S. aureus*, bacterias que fueron inhibidas por este extracto. En el aspecto comparativo es preciso resaltar que otra especie del género *Dalbergia*, *D. ferruginea*, en estudios similares únicamente mostró actividad contra *P. aeruginosa* [39]. La actividad antimicrobiana mostrada por *D. brownei* y la ausencia de estudios sobre actividad antimicrobiana resalta la importancia de los resultados de este trabajo.

Pese al bajo espectro de acción mostrado por *D. purpurea*, es importante resaltar la marcada actividad contra *K. pneumoniae*, ya que se trata de una bacteria capsulada, agente causal de múltiples patologías como las infecciones del tracto urinario, las neumonías, la septicemia, las infecciones de tejidos blandos, y las infecciones de herida quirúrgica en pacientes hospitalizados [40].

Existe concordancia con otros estudios, en los efectos antimicrobianos presentados por

Machaerium sp, como lo es el efecto antibacteriano frente a *S. aureus* reportado para el extracto etanólico de las hojas de *M. floribundum*, en un estudio llevado a cabo con el objetivo de encontrar un tratamiento alternativo para el tratamiento del acné vulgar y la regeneración del tejido cutáneo [41]. Los resultados de otro estudio llevado a cabo con las hojas de *M. opacum* indican que su extracto posee actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* ATCC 25923 [35]. Otra especie, *M. multiflorum* demostró actividad *in vitro* contra *S. aureus* y SARM [42].

Estas plantas del género *Machaerium* son utilizadas en la medicina tradicional panameña por curanderos de la etnia Ngäbe-Buglé de Bocas del Toro y Chiriquí, en decocción para tratar la tos y las aftas bucales [43]. En bibliografía aparecen descritas para distintas especies de este género propiedades antimicrobianas en patologías relacionadas con procesos infecciosos tales como la diarrea. Un estudio posterior ha conducido al aislamiento de procianidina, presumiblemente el responsable del efecto antibacteriano contra *Pseudomonas maltophilia* y *Enterobacter cloacae* [41]. Aunque en nuestro estudio no se observa una inhibición del crecimiento de *E. coli*, la utilidad terapéutica que presentan preparados de especies del género *Machaerium* como antidiarreicos [41], se podría asociar con la capacidad del extracto para inhibir *S. aureus* puesto que la presencia de enterotoxinas, generadas por esta especie se asocia con el trastorno gastrointestinal mencionado [44].

En el caso de la actividad que tuvo *M. lathyroides* en este estudio, la revisión bibliográfica no aportó ninguna información sobre actividad antibacteriana, sin embargo, en un estudio llevado a cabo con el extracto metanólico de las hojas de *M. atropurpureum*, se observó inhibición del crecimiento de *B. subtilis*, además de actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli* [45], lo que está parcialmente en concordancia con nuestros resultados.

Los resultados del extracto de *O. coccinea* sobre *K. pneumoniae* y *S. aureus* a las

concentraciones más bajas empleadas, indican que las CIM esperadas para estas bacterias estarán por debajo de la concentración empleada.

En relación a la baja potencia del extracto frente a KPC, no cabe duda de la relevancia de este hallazgo, ya que esta bacteria ha sido señalada como responsable de IAAS que causaron numerosas muertes en nuestro país en el año 2011 [46]. Dada la trascendencia de los resultados de actividad encontrados se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica no encontrándose reportes de actividad antimicrobiana para esta especie (Pubmed: *Ormosia coccinea*; antimicrobial activity; plant extract). La falta de estudios previos de evaluación farmacológica de *O. coccinea* puede deberse a que esta planta es muy tóxica, y únicamente se describe el uso de sus semillas con fines ornamentales [47].

CONCLUSIONES

A la luz de los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir que algunos de los extractos estudiados muestran un amplio espectro antibacteriano. Tal es el caso de *Albizia adinocephala*, *Machaerium sp.* y *Ormosia coccinea*, que mostraron actividad frente a todas las cepas salvajes y resistentes evaluadas. Otros extractos con actividad interesante fueron los de *Dalbergia brownei* y *Diploptropis purpurea* que mostraron inhibición de *K. pneumoniae*.

En relación a cepas resistentes, *Albizia adinocephala*, *Machaerium sp.* y *Ormosia coccinea*, presentaron actividad contra SARM; mientras que *Ormosia coccinea* también fue activa frente a KPC, lo que resulta interesante dada la relevancia clínica y epidemiológica que poseen estos agentes patógenos responsables de las IAAS.

RECOMENDACIONES

Considerando la capacidad de *Albizia adinocephala*, *Machaerium sp.* y *Ormosia coccinea*

para inhibir el crecimiento de bacterias de tipo salvaje y resistente, nos planteamos para un estudio próximo abordar trabajos encaminados a determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) de sus extractos. Así mismo se plantea realizar ensayos más específicos para los extractos que mostraron mayor actividad y llevar a cabo un estudio fitoquímico con la finalidad de elucidar la estructura de los principios responsables de la actividad. Finalmente se pretende realizar estudios en modelos *in vivo* para valorar la seguridad y toxicidad de los extractos y, así evidenciar las posibles aplicaciones terapéuticas que ofrecen las plantas objeto del estudio.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo ha sido financiado por la Secretaría Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación (SENACYT): SENACYT-PNUD FID07-008, SENACYT FID11-090, SENACYT INF11-054 y al Sistema Nacional de Investigadores (SNI) de SENACYT. A la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado de la Universidad de Panamá por el apoyo administrativo. Finalmente, a los Licenciados Alex Espinosa y Carlos Guerra, taxónomos del CIFLORPAN por la recolección e identificación de las muestras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Assob JN, Kamga HL, Nsagha DS, Njunda AL, Nde PF, Asongalem EA, et al. Antimicrobial and toxicological activities of five medicinal plant species from Cameroon traditional medicine. BMC Complement Altern Med. 2011 Aug 25; 11(70): 2-11.
2. Ramadan U, Pimentel M, Hanora A, Radwan M, Abou E, Ahmed S, Hentschel U. Isolation, phylogenetic analysis and anti-infective activity screening of marine sponge-associated Actinomycetes. Mar Drugs. 2010 Feb 26; 8(3): 399-412.
3. Konaté K, Hilou A, François MJ, Nicaise LA, Aworet SR, Souza A, et al. Antibacterial activity against β -lactamase producing methicillin and ampicillin-resistants *Staphylococcus aureus*: fractional inhibitory



- concentration index (FICI) determination. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2012 Jun 20; 11(18):1-12.
4. Bhalodia, NR, Shukla VJ. Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. *J Adv Pharm Technol Res.* 2011 Apr; 2(2): 104-109.
 5. Bastos ML, Lima MR, Conserva LM, Andrade VS, Rocha EM, Lemos RP. Studies on the antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) extracts and their main constituents. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2009 May 18; 8:1-16.
 6. Tanaka H, Sudo M, Kawamura T, Sato M, Yamaguchi R, Fukai T, Sakai E, Tanaka N. Antibacterial constituents from the roots of *Erythrina herbacea* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Planta Med.* 2010 Jun; 76(9): 916-919.
 7. Molares S, Ladio A. The usefulness of edible and medicinal *Fabaceae* in Argentine and Chilean Patagonia. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011 Dec 13; 2012: 1-12.
 8. Correa M, Foster R, Galdames C, Stapf MS. Catálogo de plantas vasculares de Panamá. Primera Edición. Editorial Nova Art, S.A. Universidad de Panamá, 2004. 599 páginas.
 9. Eldeen R, Van Staden, J. In vitro biological activities of niloticane, a new bioactive cassane diterpene from the bark of *Acacia nilotica subsp.* *Kraussiana*. *J Ethnopharmacol.* 2010 Apr 21; 128(3): 555-560.
 10. Havinga M, Hartl A, Putscher J, Prehler S, Buchmann C, Vogl R. *Tamarindus indica* L. (Fabaceae): patterns of use in traditional African medicine. *J Ethnopharmacol.* 2010 Feb 17; 127(3): 573-588.
 11. Meng Q, Niu Y, Niu X, Roubin H, Hanrahan R. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of the genus *Caragana* used in traditional Chinese medicine. *J Ethnopharmacol.* 2009 Jul 30; 124(3):350-568.
 12. Togola A, Austerheim I, Theis A, Diallo D, Paulsen S. Ethnopharmacological uses of *Erythrina senegalensis*: a comparison of three areas in Mali, and a link between traditional knowledge and modern biological science. *J Ethnobiol Ethnomed.* 2008 Mar 5; 4(6): 1-9.
 13. Lima J, Pagani E, Ramos J, Rodrigues E. Observations on the therapeutic practices of riverine communities of the source department of psychobiology-UNIFESP/EPM, Brazil. *J Ethnopharmacol.* 2012 Jul 13; 142(2): 503-515.
 14. Rastogi S, Pandey M, Rawa T. An ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological profile of *Desmodium gangeticum* (L.) DC. and *Desmodium adscendens* (Sw.) DC. *J Ethnopharmacol.* 2011 Jun 22; 136(2):283-296.
 15. Base de Datos NAPRALERT. Science Finder.
 16. Smithsonian Tropical Research Institute. *Albizia adinocephala*. Accesada viernes 14 de febrero del 2014.
 17. Taxonomía de *A. adinocephala*. http://redbio.una.edu.ni/arboretum/ficha_s.php?cod=139. Accesada viernes 14 de febrero del 2014.
 18. Linares J, Sousa M. Nuevas especies de *Dalbergia* (Leguminosae: Papilionoideae: Dalbergieae) en México y Centroamérica. *CEIBA.* 2007 Jan; 48(1): 61-82.
 19. Vallsfusta. Índice de especies por nombre científico. http://www.vallsfusta.es/cn/es_productos.php?seccion=es_especies_madera. Accesada viernes 14 de febrero del 2014.
 20. Bosque Alexander von Humboldt. Especies forestales para durmientes <http://vonhumboldt.inia.blogspot.com/2013/06/especies-forestales-para-durmientes.html>. Junio de 2013. Accesada viernes 14 de febrero del 2014.
 21. Brail S, Madrigal B. *Machaerium sp.* en: Plantas antimaláricas de Tumaco: Costa Pacífica Colombiana. Editorial Universidad de Antioquia Colombia, 2005. Primera Edición Febrero del 2005, pp 137,138.
 22. Mutis, J. Expediciones Botánicas del siglo XXI. http://aplicaciones2.colombiaaprende.edu.co/concurso_s/expediciones_botanicas/ver_herbarios_p.php?id=192&id_p=1524. Accesada viernes 14 de febrero del 2014.
 23. Plantae mundi: *Macroptilium*. <http://www.wikilengua.org/index.php/Plantaemundi:Macroptilium>. Accesada viernes 14 de febrero del 2014.
 24. Wikipedia. *Ormosia coccinea*. http://es.wikipedia.org/wiki/Ormosia_coccinea. 23 jul 2013. Accesada viernes 14 de febrero del 2014.
 25. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution anti-microbial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 7th edition: approved standard M7-A7. Wayne, PA: CLSI. 2006.



26. Andrews J. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother.* 2002 Mar; 48 (S1): 5-16.
27. Murphy M. Plants products antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 1999 Oct; 12(4): 564-582.
28. Ghaly N, Melek F, Abdelwahed. Flavonoids from *Albizia chinensis* of Egypt. *Rev Latinoam Quím.* 2010 Dec; 38(3): 153-158.
29. Samoylenko V, Jacob M, Khan S, Zhao J, Tekwani B, Midiwo J, Walker L, Muhammad I. Antimicrobial, antiparasitic and cytotoxic spermine alkaloids from *Albizia schimperiana*. *Nat Prod Commun.* 2009 Jun; 4(6):791-796.
30. Tamokou J, Simo D, Keila P, Tene M, Tane P, Kuate J. Antioxidant and antimicrobial activities of ethyl acetate extract, fractions and compounds from stem bark of *Albizia adianthifolia* (Mimosoideae). *BMC Complement Altern Med.* 2012 Jul 18; 12(99): 1-10.
31. Ovenden S, Cao S, Leong, C, Flotow H, Gupta M, Buss A, Butler M. Spermine alkaloids from *Albizia adinocephala* with activity against *Plasmodium falciparum* plasmepsin II. *Phytochemistry.* 2002 May; 60(2):175-7.
32. Besra S E., Gomes A., Chaudhury L., Vedasiromoni J. R., Ganguly D. K. Antidiarrhoeal activity of seed extract of *Albizia lebbek* Benth. *Phytother Res.* 2002 Sep 17; 6(16): 529-533.
33. Barboza G, Cantero J, Núñez C, Pacciaroni A, Ariza L. Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine flora. *Kurtziana.* 2009 Dic; 34(1-2): 208 - 219.
34. Gundidza, M. y Gaza, N. Antimicrobial activity of *Dalbergia melanoxylon* extracts. *J Ethnopharmacol.* 1993 Oct; 40(2):127-30.
35. De Almeida T, Fonseca A, Brandão M, Sueli T, Grand IM, Smânia E, Smânia A, Leomar C. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2000 May.-Jun; 95(3):367-373.
36. Hamburger MO, Cordell GA, Tantivatana P, Ruangrungs IN. Traditional medicinal plants of Thailand, VIII. Isoflavonoids of *Dalbergia candenatensis*. *J Nat Prod.* 1987 Jul.-Aug; 50(4):696-9.
37. Fernández M. 2007. Estudio químico de propóleos rojos cubanos. Tesis, Universidad de La Habana, Cuba. 159 páginas.
38. Coe, FG, Anderson GJ. Screening of medicinal plants used by the Garífuna of eastern Nicaragua for bioactive compounds. *J Ethnopharmacol.* 1996 Jul 26; 53(1):29-50.
39. Cerqueira G, Rocha N, Almeida J, De Freitas A, Lima E, Filho J, De Freitas R, Melo, M. Antimicrobial activity of the extract of stem bark of *Diploptropis ferruginea* Bent. *J Young Pharm.* 2011 Oct; 3(4):284-286.
40. Willey J. Epidemiología de las enfermedades infecciosas. Prescott Microbiología. McGrawHill, Séptima Edición. España, 2008. pp 886-912.
41. Diaz L, De Montijo S, Medina A, Meléndez P, Laurence V, Marti G. Activity of ethanolic extracts leaves of *Machaerium floribundum* against acne-inducing bacteria, and their cytoprotective and antioxidant effects on fibroblast. *Rev Peru Biol.* 2011 Aug; 18(2): 153-158.
42. Muhammad I, Li XC, Dunbar DC, ElSohly MA, Khan IA. Antimalarial (+)-trans-hexahydrodibenzopyran derivatives from *Machaerium multiflorum*. *Nat Prod Res.* 2001 Oct; 64(10):1322-1325.
43. Joly L, Guerra S, Séptimo R, Solís, P, Correa M, Gupta M, Levy S, Sandberg F. Ethnobotanical inventory of medicinal plants used by the Guaymi indians in western Panamá. Part I. *J Ethnopharmacol.* 1987 Jul; 20(2):145-171.
44. DeGrasse J. A single-stranded DNA aptamer that selectively binds to *Staphylococcus aureus* enterotoxin B. *PLoS One.* 2012 Mar 16; 7(3): e33410.
45. Chittamuri A, Cheruku A, Dandu C, Nimmanapalli Y. Studies on a semi-arid legume fodder *Macroptilium atropurpureum* (DC.) urban. Bio active constituents and antimicrobial activity- recommended to the Indian pasture lands. *J Pharm Res.* 2012 Apr 19; 5(5):2431-2440.
46. Grisel Y, Molina U. Buscan singularidad de KPC en Complejo. <http://www.prensa.com/impreso/buscan-singularidad-de-kpc-en-complejo/16442>. Accesada el lunes 8 de Agosto del 2011. La prensa de Panamá.
47. Toribio BN, Correa M, Morales JF. Semillas y frutos de uso artesanal en Panamá. http://books.google.com.pa/books?id=DRFrXuD7_s8C&pg=PA108&lpg=PA108&dq=ormosia+coccinea+uso&source=bl&ots=bE_dufionn&sig=xt71zhDI0L_8ri8K7whlj3LrjGI&hl=es-419&sa=X&ei=0qxcUrqaBNK4kQeB_4GwCA&redir_esc=y#v=onepage&q



=ormosia%20coccinea%20uso&f=false. Accesada lunes
14 de octubre de 2013. Amazon.com. Casa del Libro.

INFORMACIÓN DEL AUTOR

Guerrero de León, Estela Ivonne.
Universidad de Panamá.
Correo: guerrerodleon@gmail.com

