

Estudio de la actividad farmacológica del extracto de *Bauhinia monandra* en el Municipio de la Villa de San Francisco, Departamento de Francisco Morazán

Gustavo Adolfo Sánchez, Fredy Alexander Rodríguez, Jorge Oswaldo Flores, Wilberto Bonilla, Melissa María Cabrera, Catherine Margarita Flores, Heydi Rodríguez, Amelia Karina Rodríguez, Erick Tinoco¹

RESUMEN

El análisis de la actividad farmacológica de los extractos acuosos, metanólicos y etéreos del taxón vegetal *Bauhinia monandra* Fabaceae, comúnmente conocida como “casco de vaca”, tiene el objetivo de demostrar científicamente la actividad bactericida de la planta, para poder brindar un aporte científico de la misma, contribuyendo al adecuado uso terapéutico y evaluar su futura comercialización. El material vegetal fue obtenido en el Municipio de la Villa de San Francisco, Francisco Morazán, a través de un muestreo probabilístico. Se realizó el extracto acuoso por la técnica de extracción de contacto múltiple conocida como reflujo o digestión, los extractos metanólicos y etéreos se realizaron a través de la técnica de extracción de contacto múltiple Soxhlet, en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, siguiendo la metodología descrita en el libro de Farmacognosia (Trease, G.E. y Evans, W.C., 1982). Luego los mismos se sometieron a un análisis in-vitro, en la Escuela de Microbiología de dicha universidad, con cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, por ser las cepas recomendadas para el control de las pruebas de susceptibilidad cuando se usa el método de difusión en disco. Los resultados obtenidos mostraron un pequeño halo de inhibición en los discos con los extractos crudos acuosos y metanólico sin diluir, no mostrando dicho halo para el extracto etéreo y diluciones, por lo que se demostró que no hay un efecto inhibitorio (bactericida) significativo por parte de ninguno de los extractos del taxón vegetal, con las bacterias en prueba. Esto cuando se compara con los resultados del efecto de los antibióticos usados como control positivo.

¹ Profesores del Departamento de Química, Facultad de Ciencias Química y Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de Honduras: frelex22@hotmail.com

Los resultados presentan similitud con el taxón *Bauhinia variegata*, estudiada por Martínez, M. et al. en el 2011, confirmando entonces la veracidad de nuestros resultados.

Palabras clave: *Bauhinia monandra*, *Bactericida*, *Bacteriostático*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The analysis of the bactericidal effect of the aqueous, ether and metanolic extracts of the vegetal taxon *Bauhinia monandra* Fabaceae, commonly known as “cow helmet” or “cow hoof”, has the main goal to demonstrate the bactericidal activity of the plant. Furthermore, some other goals are to offer a therapeutic action, commercialize a possible product and to offer a valuable contribution to science. The vegetative material was obtained in the community of Villa of San Francisco, Francisco Morazán, through a non-probabilistic sampling, in which 3 kg of the vegetal material were collected, with a net weight of 1570g of dry vegetal material. The aqueous, metanolic and ether extracts were made through assembly of the Soxhlet equipment, in the Faculty of Chemical Sciences and Pharmacy, National Autonomous University of Honduras, following the methodology according to Trease, G.E. and Evans, W.C. They were treated under an in-vitro analysis, in the Faculty of Sciences of Microbiology, at this university, with bacterial stocks of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922). The results proved that there is no inhibiting effect (bactericidal or bacteriostatic) on none of the extracts, with the bacteria in test. The results present similarity with the vegetal taxon *Bauhinia Variegata*, studied by Martínez, M. ET to. in the 2011, confirming the veracity of our results.

Key words: *Bauhinia monandra*, *Bactericidal effect*, *Bacteriostatic effect*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

Se reconoce al género *Bauhinia* como único representante nativo de la tribu Cercideae en la península de Yucatán, con 5 especies silvestres: *B. divaricata*, *B. erythrocalyx*, *B. herrerae*, *B. jenningsii* y *B. ungulata*, así como 2 especies cultivadas: *B. monandra* y *B. variegata*. Se excluye de la península de Yucatán *Bauhinia glabra* Jacq., reconocida en algunos trabajos anteriores. *Cercis siliquastrum* L. es otro miembro de la tribu Cercideae, una especie exótica y cultivada. (Torres Colin, Duno de Stefano, & Can, 2009).

Descripción botánica de la *Bauhinia monandra*

Árboles, raramente arbustos, 3–8 m, andromonoicos. Hojas (7.3–)9–13.5 (–15.4) largo, (9.3–) 10–14(–16.3) cm ancho, 2–lobadas, hasta 1/3 de su longitud, anchamente ovadas, cartáceas, ápice de los lóbulos agudo a obtuso, base truncada a cordata; estípulas triangulares. Inflorescencias en racimos cortos, 1–5 flores; flores bisexuales, hipantio ca. 5 mm largo, ca. 3 mm ancho, obcónico, hirsútulo ferrugíneo; cáliz 1.5–2 cm largo, ca. 1 cm ancho, espatáceo en antésis, verdoso, no contiguo a los pétalos; pétalos 3–4 cm largo, ca. 1.5 cm ancho, unguiculados, obovados, rosados, uno de los pétalos rojo–variegado; estambres fértiles 1, 3–4.5 cm largo, connato con 9 estaminodios en la base; estaminodios 3–9 mm largo, uniseriados, connatos en la base, ovario estriguloso. Flores masculinas similares. Legumbre 14–18.5 x 1.5–2.5 cm, estrechamente oblonga, escasamente estrigulosa; semillas ca. 6 mm largo, ca. 5 mm ancho, oblongas. *Distribución y hábitat*. Es una especie nativa de Birmania, cultivada en parques de Yucatán, Veracruz, Oaxaca, Tabasco, Chiapas, Honduras, Nicaragua y Panamá. Florece de mayo a septiembre y fructifica en septiembre.

Usos y nombres comunes. Ha sido introducida y cultivada como ornamental en Centroamérica y SE de México. Se le conoce como "casco de buey o casco de vaca", "orquídea de los pobres", "orquídea de China y pata de vaca". (Torres Colin, Duno de Stefano, & Can, 2009)

En el género *Bahunia* se reportan una gran variedad de diversos metabolitos secundarios entre los cuales se pueden mencionar Flavonoides, Terpenoides y Esteroides. Entre los diversos usos reportados en la medicina tradicional de otras especies de *Bahunia* se mencionan como remedio para el tratamiento de Diabetes y antibacterial. (Martínez et al., 2011)

MATERIALES Y MÉTODOS

ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio emplea un enfoque cualitativo, utiliza la recolección de datos sin medición numérica para descubrir y afinar preguntas de investigación en el proceso de interpretación (Sampieri, 2010), ya que se tratara de conocer los hechos de la actividad farmacológica de los diferentes extractos de la Bauhinia monandra sobre cepas de bacterias haciendo uso de la observación.

METODOLOGÍA

Diseño

Diseño no experimental, ya que solo se controlan las condiciones como temperatura, tipo de solventes, técnica de extracción y tiempo de extracción en la preparación de los extractos, según metodologías anteriormente descritas. Es un estudio descriptivo y transversal para determinar la presencia de los metabolitos secundarios presentes en los extractos de las hojas de B. monandra así como la actividad farmacológica de los mismos.

Población

Se seleccionó de la planta conocida comúnmente como casco de vaca, con nombre científico B. monandra cercideae, por el interés de una empresa líder en la elaboración y comercialización de productos naturales para utilizarla para el tratamiento de infecciones bacterianas, esto debido al reporte de los habitantes de la zona sobre el uso de dicha especie para tal fin, en forma de infusión o cataplasma

Entorno

La recolección de la muestra se realizó en el mes de Enero de 2015 en el Municipio de la Villa de San Francisco, Departamento de Francisco Morazán, a través de un muestreo probabilístico, ya que todas las muestras comparten características similares.

La recolección óptima es el que se realiza en el momento en que la planta tiene el máximo contenido de principios activos. La determinación de ésta no es sencilla, pero como recomendación general las hojas se recolectan en el momento vegetativo anterior a la floración de la planta.

Intervenciones

1. El material vegetal:

Fue obtenido en la comunidad de Villa de San Francisco, Francisco Morazán, a través de un muestreo probabilístico aleatorio simple ya que las muestras de material vegetal fueron seleccionadas al azar y comparten características similares.

Figura 1. Recolección de las hojas de *B. monandra*



Fuente: Fotografía tomada por el grupo Química Molecular

2. Secado

Se utilizó el método de secado natural a la sombra, ya que ofrece el menor daño al tejido vegetal.

Figura 2. Secado de las hojas de *B. monandra*



Fuente: Fotografía tomada por el grupo Química Molecular

3. Molienda

Para la reducción de las hojas recolectadas de *B. monandra* se utilizó un molino triturador mecánico

Figura 3. Proceso de Molienda de las Hojas de *B. monandra*



Fuente: Fotografía tomada por el grupo Química Molecular

4. Preparación y Concentración de los extractos.

El extracto acuoso de la especie Bauhinia monandra fue preparado pesando 100g de materia vegetal en balanza analítica, luego se colocó en un balón de fondo redondo de 500ml con 1000 mL de agua y se extrajo utilizando el método de reflujo a una temperatura de 50 oC y con un goteo de 5 gotas por minuto.

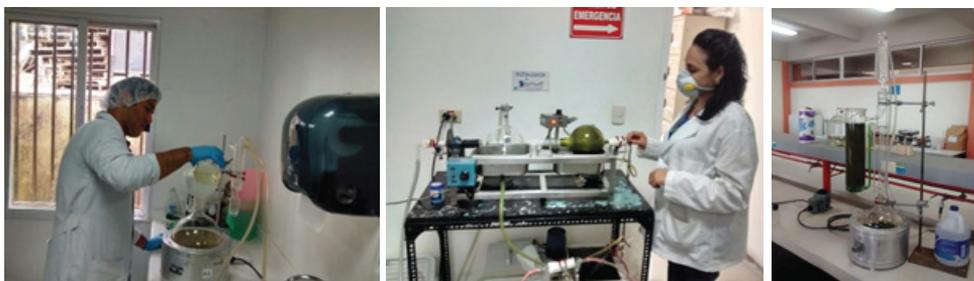
Posteriormente se concentró en rota vapor.

Los extractos metanólico y etéreo de la especie mencionada se prepararon pesando una muestra de 618g y se colocó en un aparato de Soxhlet agregando cantidad suficiente de éter y dejando el montaje por 2 semanas.

Luego se retiró el extracto etéreo y se concentró en rota vapor a una temperatura de 60 oC.

A partir de la muestra tratada en el extracto etéreo se procedió a preparar el extracto metanólico en Soxhlet, dejando reposar por 2 semanas. Se concentró en rota vapor a una temperatura de 60oC.

Figura 4. Proceso de preparación de los extractos de las hojas a partir de las B. monandra



Fuente: Fotografía tomada por el grupo Química Molecular

5. Estudio de la actividad bactericida

Preparación de discos

1. Previamente los discos blancos se esterilizaron en autoclave en las condiciones usuales.
2. Se realizaron diluciones seriadas dobles de cada uno de los extractos:
 - a. En tubos de ensayo de 13 x 100 se dispensó 1 ml del solvente apropiado. Para el extracto acuoso y metanólico se utilizó agua y para el extracto etéreo se utilizó éter. Para cada extracto se utilizaron 3 tubos rotulados como 1:2, 1:4 y 1:8
 - b. Al primer tubo se le agregó 1 ml del extracto correspondiente y seguidamente se dispensó 1 ml de la dilución obtenida en el tubo siguiente obteniéndose las tres diluciones en prueba.
3. De cada extracto y para cada dilución se prepararon 5 discos de la siguiente manera:
 - a. En placas de Petri estériles rotuladas de acuerdo al tipo de extracto y dilución se colocaron los discos necesarios.
 - b. Con micro pipeta se tomaron 20 μ l de cada extracto puro, y de cada dilución y se impregnaron los discos.
 - c. Se dejaron secar durante 5 minutos en incubadora antes de utilizar.

Ejecución de la prueba de susceptibilidad

1. Se prepararon suspensiones de las bacterias indicadas, usando un cultivo fresco de 24 horas sembrado en gelosa sangre.
2. Se ajustó la densidad del inóculo usando como patrón el 0.5 de la escala de McFarland
3. Utilizando hisopos estériles, se inocularon placas de agar Mueller Hinton con la suspensión de cada bacteria. Esto se hizo por triplicado.
4. Utilizando pinzas estériles se procedió a colocar los discos impregnados con las diluciones de los diferentes extractos; directo, 1:2, 1:4, 1:8
5. Como control negativo se utilizaron discos estériles sin extractos. Como control positivo se utilizaron discos comerciales con Ciprofloxacina 5 μ g, Gentamicina 10 μ g y Cloranfenicol 30 μ g los cuales proveen puntos de corte y halos de interpretación para ambas bacterias.
6. Se incubaron las placas en incubadora a 36.5 °C durante 24 horas.

7. Luego del tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura de los resultados mediante la medición de los halos de inhibición.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos del estudio fitoquímico realizados a los diferentes extractos preparados (acuoso, etéreo y metanólico) de las hojas de *B. monandra* se muestran en el cuadro 1, con la determinación de metabolitos secundarios de *B. monandra*.

Cuadro 1. Análisis fitoquímico preliminar de *B. monandra*

Pruebas de Alcaloides	
Ensayos	Resultados (+/-)
Reactivo de Dragendorff	+
Reactivo de Wagnerm	+
Reactivo de Bouchardat	+
Reactivo de Mayer	+
Pruebas de Cumarina	
Ensayo	Resultados
Gotas de NaOH 10% y luz Ultravioleta	+
Pruebas de Cumarina	
Ensayo	Resultados
Gotas de NaOH 10% y luz Ultravioleta	+

Pruebas de Heterosidos Flavonoides	
Ensayo	Resultados (+/-)
Shinoda	+
Alcali	+
Ácido Sulfurico	+
Ácido sulfúrico más ácido bórico	+
Cloruro ferrico	+
Nitrato de Plata	+
Cloruro de Alumnio	+
Vapores de Amonio	+

Prueba de Taninos	
Ensayo	Resultados
Cloruro ferrico 1%	+

Prueba de Antraquinonas	
Ensayo de Cumarina	Resultados
Sublimado+ Benceno y NaOH 10%	-

Fuente: Elaboración propia con base a análisis de resultados

Los resultados obtenidos del estudio de la actividad farmacológica de los diferentes extractos de las hojas de B.monandra se muestran en el cuadro 2

Cuadro 2. Análisis de la actividad Farmacológica de los extractos de las hojas de B. monandra

Dilución	EXTRACTO ACUOSO		
	Replica 1 Halo en mm	Replica 2 Halo en mm	Replica 3 Halo en mm
Sin diluir	7	7	7
1:2	0	0	0
1:4	0	0	0
1:8	0	0	0

Dilución	EXTRACTO ETereo		
	Replica 1 Halo en mm	Replica 2 Halo en mm	Replica 3 Halo en mm
Sin diluir	0	0	0
1:2	0	0	0
1:4	0	0	0
1:8	0	0	0

Dilución	EXTRACTO METANOLICO		
	Replica 1 Halo en mm	Replica 2 Halo en mm	Replica 3 Halo en mm
Sin diluir	7	7	8
1:2	0	0	0
1:4	0	0	0
1:8	0	0	0

Fuente: Elaboración propia con base a análisis de resultados

DISCUSIÓN

Análisis fitoquímico preliminar:

En base a los resultados expuestos en el Cuadro 1. Correspondiente al análisis fitoquímico realizado a los extractos acuoso, etéreo y metanólico de las hojas de *B. monandra* queda demostrado la presencia de diversos metabolitos secundarios como son las cumarinas, heterosidos flavonoides y taninos, todos ellos con diversas propiedades terapéuticas como antioxidantes, analgésicos, antiinflamatorio, astrigentes y vasoconstrictores (Flores et al., 2014). Es importante mencionar la presencia de un grupo especial de metabolitos secundarios conocidos como Alcaloides, sustancias nitrogenadas con alto poder farmacológico que según bibliografía presentan actividad antibacterial (Peña, 2011). En base a los resultados del Cuadro 2. Correspondiente al análisis de las actividad farmacológica de los diferentes extractos de las hojas de la especie *B. monandra* mostraron actividad antibacterial cuando estos están concentrado en cambio las diluciones que se realizaron de los mismos no mostraron ninguna actividad.

CONCLUSIONES

El análisis fitoquímico demostró que en la especie de *Bauhinia monandra* se encuentran presentes cumarinas, taninos, alcaloides y flavonoides pero no se encontraron antraquinonas.

Únicamente se obtuvo un pequeño halo de inhibición en los discos con extracto crudo acuoso y metanólico sin diluir. Un halo de 7-8 mm indica que solo se forma un halo de inhibición entre 1-2 mm mayor que el tamaño del disco. Para el extracto etéreo y para las diluciones 1:2, 1:4 y 1:8 no se observaron halos de inhibición.

La anterior indica que no se obtuvo efecto inhibitorio (bactericida o bacteriostático) significativo contra las bacterias en prueba. Esto cuando se compara con los resultados del efecto de los antibióticos usados como control positivo. Tanto *S. aureus* ATCC 25923 como *E. coli* ATCC 25922 resultaron susceptibles a los tres antibióticos: Gentamicina, Ciprofloxacina y Cloranfenicol. En tanto que se mostraron resistentes a los extractos en prueba.

Estos resultados son consistentes con los obtenidos en estudios similares cuando se prueban los diferentes extractos en condiciones de prueba similar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CLSI. Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing; twenty-fourth. Informational supplement.
- Colin R, De Stefano R, Can L L. El género Bauhinia (Fabaceae, Caesalpinioideae, Cercideae) en la península de Yucatan, Belice y Guatemala. *Revista Mexicana de Biodiversidad*.2009;(1) 293-301.
- Martínez M, Ocampo D, Galvis J, Valencia A. Actividad Antibacteriana y Citotoxicidad de Bauhinia Variegata L. (fabaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*; (4):313-323.
- Sampieri, R., Fernandez, C., Baptista, P. (2010). Metodología de la investigación. 5° edición. D.F. Mexico: McGraw Hill
- Torres Colin, R., Duno de Stefano, R., & Can, L. L. (2009). El género Bauhinia (Fabaceae, Caesalpinioideae, Cercideae) en la península de Yucatan, Belice y Guatemala. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 293-301.
- Trease, G.E. y Evans, W.C. (1982). *Farmacognosia* (2da ed.). México, Continental.