

Especialización en Terapéuticas Alternativas y Farmacología Vegetal



FUNDACIÓN UNIVERSITARIA
JUAN N. CORPAS

Educación y Salud de Calidad
con Sentido Social

Trabajo de grado

SCREENING DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE *Erythrina edulis* (CHACHAFRUTO). EFECTO ANTIMICROBIANO, ANTIOXIDANTE Y CITOTÓXICO

**LAURA PRISCO SUESCÚN
MAYRA ALEJANDRA REYES HERNÁNDEZ
DANIELA VALENCIA GALLEGO
MARÍA CAMILA VESGA MANRIQUE**

**FUNDACIÓN UNIVERSITARIA JUAN N. CORPAS
ESCUELA DE MEDICINA
EPECIALIZACIÓN EN TERAPÉUTICAS ALTERNATIVAS Y
FARMACOLOGÍA VEGETAL
BOGOTÁ D.C.
2020**

SCREENING DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE *Erythrina edulis* (CHACHAFRUTO). EFECTO ANTIMICROBIANO, ANTIOXIDANTE Y CITOTÓXICO

**LAURA PRISCO SUESCÚN
MAYRA ALEJANDRA REYES HERNÁNDEZ
DANIELA VALENCIA GALLEGO
MARÍA CAMILA VESGA MANRIQUE**

PROYECTO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE *ESPECIALISTA EN TERAPÉUTICAS ALTERNATIVAS Y FARMACOLOGÍA VEGETAL*

**ASESORES TEMÁTICOS: LUIS MIGUEL POMBO OSPINA
INGENIERO QUÍMICO, MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS.
ÓSCAR EDUARDO RODRÍGUEZ AGUIRRE, LICENCIADO EN QUÍMICA-
BIOLOGÍA, MAGISTER EN BIOLOGIA, DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS.**

**ASESOR METODOLÓGICO: VÍCTOR HUGO FORERO SUPELANO
MAESTRÍA EN EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**

**FUNDACIÓN UNIVERSITARIA JUAN N. CORPAS
ESCUELA DE MEDICINA
EPECIALIZACIÓN EN TERAPÉUTICAS ALTERNATIVAS Y FARMACOLOGÍA
VEGETAL
BOGOTÁ D.C.
2020**

A nuestros familiares y amigos

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no lo hemos hecho solas, agradecemos a nuestros profesores quienes con paciencia nos guiaron a tener los mejores resultados y despertaron en nosotras la curiosidad para aprender sobre ciencias básicas. A nuestros familiares que estuvieron con nosotros en los momentos de zozobra.

CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN	14
1. OBJETIVOS	16
1.1.1 OBJETIVO GENERAL	16
1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.2.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	18
1.2.2 JUSTIFICACIÓN	18
1.3 MARCO TEÓRICO	19
1.4 METODOLOGIA	36
1.4.1 MATERIALES Y MÉTODOS	36
1.5 DESARROLLO DEL PROYECTO	44
1.5.1 ANÁLISIS DEL DESARROLLO DEL PROYECTO	51
1.6 CRONOGRAMA	55
1.7 CONCLUSIONES	56
1.8 RECOMENDACIONES	57
1.9 BIBLIOGRAFÍA	58

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Contenido de aminoácidos esenciales del fruto de la <i>Erythrina edulis</i> T comparado con otras fuentes de aminoácidos	20
Tabla 2. Proporción de las fracciones proteicas de la harina del fruto de la <i>Erythrina edulis</i> T.	21
Tabla 3. Metabolitos secundarios de la <i>Erythrina edulis</i> T	22
Tabla 4. Análisis Bromatológico del grano y la harina de la <i>Erythrina edulis</i> T	23
Tabla 5. Los 6 extractos obtenidos en laboratorio sembrados en pozos de 20, 40, 60 y 80 ul divididos en tres réplicas para <i>Enterococcus faecalis</i>	46
Tabla 6. Tamaños de los pozos para cada microorganismo de 8.07 mm. Los 6 extractos obtenidos en laboratorio sembrados en pozos de 20, 40, 60 y 80 ul divididos en tres réplicas para <i>Candida albicans</i> .	46
Tabla 7. Porcentajes de inhibición de los extractos activos de <i>Erythrina edulis</i> con respecto a los controles positivos empleados. El porcentaje de inhibición se calculó $dm/dc \cdot 100$; dm: halo de inhibición producido por los extractos; dc: halo de inhibición producido por los controles positivos.	47
Tabla 8. Análisis de extractos con DPPH con respectivos IC50, AAR con respecto a ácido ascórbico y la rutina.	49
Tabla 9. Análisis de extractos con ABTS con respectivos IC50, AAR con respecto a ácido ascórbico, rutina y trolox.	49

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág
Gráfica 1. Porcentaje de captación (Maceración de la corteza)	48
Gráfica 2. Porcentaje de captación (extracción soxhlet de las hojas, ETOH).	48

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Dibujo de las hojas, flores y frutos	19
Figura 2. Maceración en frío de hojas, fruto y corteza de <i>Erythrina edulis</i>	36
Figura 3. Extracción por soxhlet	37
Figura 4. Extractos concentrados en rotoevaporador	37
Figura 5. Extractos de diclorometano, acetona y metanol de hojas, fruto y corteza de <i>Erythrina edulis</i> .	38
Figura 6. Estandar 1 de escala McFarland	39
Figura 7. Técnica de Kirby-Bauer de difusión en agar con pozos perforados. Pozos marcados como 20, 40, 60 80 ug/ml.	39
Figura 8. <i>Enterococcus faecalis</i> , replicas 1 y 2 del extracto de <i>Erythrina edulis</i> -acetona- hojas por soxhlet. Halo de 15,99 mm (izquierda) y 11.66 mm (derecha) en el pozo de 80ul.	44
Figura 9. <i>Candida albicans</i> . Replica 1 de extracto de hojas por maceración en frío (izquierda) con 12,22 mm de halo en el pozo de 80ul. Replica 3 del extracto obtenido por maceración en frío del fruto de <i>Erythrina edulis</i> (derecha) con 21,34 mm de halo en pozo del 80ul.	45
Figura 10. <i>Candida albicans</i> . Replica 1 (izquierda), replica 2 (medio), replica 3 (derecha) del extracto de hojas obtenido por soxhlet.	45

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Certificado Herbario Nacional Colombiano	66

GLOSARIO

1,8-dihidroxi-3-[hidroximetil]-antraquinona: sustancia efectiva para inducir la muerte celular entre las células T24.

AAR: capacidad antioxidante relativa.

ABTS: Acido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonico

AKBA: 11-ceto-FL-boswélico ácido acetil

ATCC: American Type Culture Collection Certification

Cryobank: Sistema de preservación

DMSO: Dimetilsulfoxido

DPPH: método del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo

EROS: Especies reactivas de oxígeno

G6P: glucosa 6-fosfato

HIF-1: Factor Inducible por Hipoxia-1

K₂S₂O₈: Persulfato de potasio

MeOH: Metanol

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NDGA: ácido nordihidroguaiarético

OXPHOS: Fosforilación oxidativa

PPP: Pentosa fosfato

p53: o TP53, también llamado el "guardián del genoma"

RESUMEN

La *Erythrina edulis* T es un árbol de la familia de las Fabaceae, es una leguminosa utilizada en comunidades indígenas con fines medicinales. Actualmente su uso más importante es nutricional por su gran aporte de aminoácidos. Existen muy pocos estudios sobre sus posibles usos en la farmacología vegetal. En el mundo cada vez cobra más importancia el desarrollo de nuevos medicamentos de origen vegetal para el tratamiento de patologías como en cáncer en la que sus tratamientos actuales resultan ser muy costosos y con muchos efectos secundarios para sus pacientes, también es importante el estudio de nuevos antioxidantes externos implicados en la prevención y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, cáncer, diabetes etc. Por otro lado, es de vital importancia el desarrollo de nuevos medicamentos con utilidades antimicrobianas debido al aumento de la resistencia de estos microorganismos a los medicamentos actuales. Este trabajo buscó determinar las actividades antimicrobianas, antioxidantes y citotóxicas en células tumorales en los extractos del fruto, de la corteza, de la hoja de la *Erythrina edulis* T, mediante la técnica de Kirby-Bauer de difusión en agar con pozos perforados, en cepas de *Streptococcus faecalis* y *Candida albicans*, como controles positivos se utilizaron antibióticos y antifúngicos establecidos y como control negativo dimetilsulfóxido (DMSO). La actividad antioxidante se evaluó mediante el método de decoloración con el radical catiónico ABTS y por el ensayo de decoloración del radical libre DPPH. El análisis de la capacidad citotóxica de *Erythrina edulis* T, quedó supeditado al momento de retomar el proceso una vez se permita la movilidad y liberación de confinamiento obligatorio por pandemia del COVID 19. Los resultados muestran que el porcentaje de inhibición del extracto activo muestra una similitud importante del fluconazol con el extracto etanólico por Soxhlet de las hojas a concentraciones de 8 mg/ml y 6 mg/ml. Por otro lado, los extractos etanólicos de la corteza obtenido por maceración en frío y de las hojas, obtenido por Soxhlet, mostraron una capacidad antioxidante de moderada a alta y los extractos del fruto (maceración) y de las hojas (Soxhlet con acetato de etilo) presentaron una capacidad antioxidante de leve a moderada. Comparados con los controles positivos, ácido ascórbico y rutina. Es importante avanzar sobre diferentes estudios que permitan determinar la capacidad de la *Erythrina edulis* vegetal para el manejo de diferentes patologías.

Palabras clave: *Erythrina edulis* T, actividad antimicrobiana, actividad antioxidante, actividad citotóxica.

ABSTRACT

Erythrina edulis T is a tree of the Fabaceae family. It is a legume used by indigenous communities for medicinal purposes. Currently, it is used for its nutritional value due to a great contribution of amino acids. There are very few studies about its uses in plant pharmacology. The development of new plant-based drugs is becoming increasingly important for the treatment of pathological conditions such as cancer, in which the current treatments are very expensive and with many side effects. The study of new external antioxidants involved in the prevention and treatment of cancer, diabetes, and neurodegenerative and cardiovascular diseases, is considered relevant at the moment. Additionally, the development of new drugs with antimicrobial properties is important due to the increased resistance of microorganisms to current drugs.

The aim of this project is to determine the antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of the extracts obtained from fruit, cortex, and leaf of *Erythrina edulis* T. In order to evaluate the antimicrobial activity, the Kirby-Bauer diffusion technique in agar with perforated Wells was performed; strains of *Streptococcus faecalis* and *Candida albicans*; antibiotics and antifungics were used as positive controls, and dimethyl sulfoxide (DMSO) as negative control. Antioxidant activity was carried out by *cationic radical discoloration method* ABTS, and by the *free radical discoloration test* DPPH. The analysis of cytotoxic capacity of *Erythrina edulis* T will resume once the situation due to COVID 19 is resolved. The results show that the percentage of inhibition of the active extract is similar to fluconazole with the Soxhlet's ethanolic extract of leaves at a concentration of 8 mg / ml and 6 mg / ml. Additionally, the ethanolic extracts of the cortex and leaves obtained by cold maceration and Soxhlet extraction showed a moderate to high antioxidant capacity. The extracts of fruit (maceration) and leaves (Soxhlet extract with ethyl acetate) had a mild to moderate antioxidant capacity compared to the negative controls: ascorbic acid and rutin. It is important to advance on different studies in order to determine the capacity of *Erythrina edulis* T for the management of different pathologies.

Key words: *Erythrina edulis* T, antimicrobial activity, antioxidant activity, cytotoxic activity.

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional tiene una larga historia. Es la suma total de los conocimientos, habilidades y prácticas basadas en las teorías, creencias y experiencias indígenas de diferentes culturas, explicables o no, utilizadas en el mantenimiento de la salud, así como en la prevención, diagnóstico, mejora o tratamiento de enfermedad física y mental. Los términos "medicina complementaria" o "medicina alternativa" se refieren a un amplio conjunto de prácticas de atención de la salud que no forman parte de la tradición o medicina convencional de ese país y no están completamente integradas en el sistema dominante de atención de la salud. Se usan indistintamente con la medicina tradicional en algunos países. Dentro de estas, la medicina herbaria o fitoterapia incluye hierbas, materiales herbales, preparaciones herbales y productos herbales terminados, que contienen como ingredientes activos partes de plantas u otros materiales vegetales o combinaciones (1).

La medicina tradicional y complementaria (T&CM) es un recurso de salud importante y a menudo subestimado con muchas aplicaciones, especialmente en la prevención y manejo de enfermedades crónicas relacionada con el estilo de vida, y para satisfacer las necesidades de salud de las poblaciones que envejecen. Muchos países buscan expandir la cobertura de servicio de salud esenciales en un momento en que las expectativas de atención de los consumidores están aumentando, al igual que los costos y la mayoría de los presupuestos esta estancados o se reducen (2). Esto pone en manifiesto la importancia del estudio y uso de la medicina complementaria para ayudar abordar desafíos de salud únicos del siglo XXI (2).

Con el advenimiento en el siglo XX de los antibióticos el uso continuo e indiscriminado de estos ha incrementado el número de microorganismo resistentes limitando el actuar terapéutico y aumentando los costos en salud (3) Lo que revela la necesidad de estudiar nuevas alternativas para el tratamiento de enfermedades de tipo infeccioso.

Otro desafío importante que se nos presenta en el siglo XXI es el manejo de las enfermedades oncológicas, en Colombia hay 275.348 personas diagnosticadas con cáncer (4), para el 2018 se estimaron 18,1 millones de casos nuevos a nivel mundial y 9,6 millones de muertes como consecuencia de dicha enfermedad (5), siendo los países latinoamericanos los que presentan mayor número de casos nuevos y de muertes (6). La utilización de las plantas contra el cáncer está en la base de muchos tratamientos que se utilizan en quimioterapia y en gran parte de la investigación actual en busca de nuevas moléculas contra el cáncer (7).

La *Erythrina edulis* T es un árbol de la familia de las Fabaceae, (8) se ha descrito como una gran fuente de aminoácidos esenciales, además dentro de la literatura se encuentran descritos metabolitos secundarios en sus semillas, en mayor proporción los alcaloides cuaternarios, seguidos de los alcaloides insolubles en cloroformos, esteroides, terpenos y antraquinonas, taninos y saponinas en sus hojas (9). Lo que puede conferirle actividad antioxidante y antimicrobiana que podría tener relevancia clínica en el tratamiento de infecciones bacterianas por *Streptococcus faecalis* e infecciones micóticas por *Candida albicans*; además de uso como antitumoral. Estas posibles actividades son las de mayor interés a estudiar en este proyecto.

1. OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar las propiedades antimicrobianas, antioxidantes y citotóxicas en células tumorales en los extractos del fruto, de la corteza, de la hoja de la *Erythrina edulis T* (chachafruto).

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener los extractos del fruto, la corteza y la hoja por maceración fría y soxhlet de la *Erythrina edulis T* (chachafruto).
- Describir si los extractos del fruto, la corteza y la hoja de la *Erythrina edulis T* (chachafruto) presentan actividad antimicrobiana sobre *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*.
- Establecer si extractos del fruto, la corteza y la hoja de la *Erythrina edulis T* (chachafruto) presentan actividad antioxidante por medio de las técnicas DPPH y ABTS.
- Evaluar si los extractos del fruto, la corteza y la hoja de la *Erythrina edulis T* (chachafruto) presentan actividad citotóxica en células tumorales y líneas de celulares normales.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La falta de evidencia científica de la utilidad de los extractos de la *Erythrina edulis* T (chachafruto) como medicamento de farmacología vegetal para ampliar las posibilidades de tratamiento de los pacientes, específicamente en sus posibles acciones como antibacteriano, antioxidante y su acción citotóxica en las líneas de células tumorales y líneas de celulares normales.

1.2.2 JUSTIFICACIÓN

Actualmente en el mundo los medicamentos de síntesis química generan un reto para la economía, pues su producción suele ser costosa, y un reto para la salud de los pacientes, ya que sus efectos adversos y toxicidad sobre ellos pueden resultar, como dice el adagio popular, “la cura más costosa que la enfermedad”; por esto resulta de importancia desarrollar opciones terapéuticas que además de disminuir costos, evidencien una reducción en los efectos adversos y toxicidad que puedan generar en los pacientes. Una de estas opciones se encuentra en los medicamentos a partir de los extractos de las plantas, farmacología vegetal (10).

Se estima que, en Colombia solo se utiliza el 10% de sus plantas con fines medicinales. Por otra parte, Colombia está entre los 3 países con mayor biodiversidad en el mundo, con 50.000 especies de flora de las cuales solo entre 2.000 y 6.000 especies se les describen usos medicinales, a pesar de esto en el Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales solo se describen 127 especies. Esto genera el reto importante desarrollar cada vez más estudios sobre los posibles usos medicinales de los extractos de las plantas para el tratamiento de diferentes patologías, en un país tan biodiverso y con tan poco desarrollo en medicamentos de síntesis química como lo es Colombia (10).

La *Erythrina edulis* T es una leguminosa que durante siglos ha sido utilizada por diferentes comunidades indígenas con fines medicinales como anticonceptivo, diurético, manejo de la cistitis e irritaciones oculares (11) (12), pero ninguno de estos ha sido estudiado, por lo que no se cuenta con evidencia científica que los avalen. Sin embargo, el uso de mayor importancia para estas comunidades ha sido el de la nutrición, para el cual se cuentan con diferentes estudios sobre el fruto donde se

evidencia su alto contenido proteico, por haber brindado a las comunidades que la consumen en gran cantidad, una mayor longevidad(13). Por este motivo, resulta de importancia estudiar cuáles son las utilidades de esta planta para la farmacología vegetal y así disponer de más opciones de tratamiento para patologías que tienen limitaciones en posibilidades terapéuticas, como aquellas en donde hay participación de mecanismos antioxidantes (enfermedades neurodegenerativas, trastornos cardiovasculares, diabetes etc) (14). Hasta el momento se cuenta con un estudio donde se evidencia la actividad antioxidante por parte fracciones ricas en aminoácidos hidrofóbicos del fruto de la *Erythrina edulis*, pero es necesario ampliar los estudios sobre este efecto (15).

El cáncer afectó en el mundo en el 2018 a 18,1 millones de personas y produjo 9,6 millones de muertes. Ya que es una enfermedad de alto costo, con tratamientos disponibles que afectan la calidad de vida de los pacientes, es de vital valor estudiar sobre diferentes tratamientos para una patología con este impacto para la sociedad (16). En el momento la farmacología vegetal cuenta con la ventaja de que sus extractos al tener varios metabolitos secundarios, pueden generar un efecto sinérgico en diferentes mecanismos de acción sobre la célula tumoral, con menos efectos secundarios y toxicidad sobre el paciente (16).

Por otro lado, existen patologías generadas por microorganismos las cuales han sido manejadas en los últimos años con antimicrobianos, pero su uso indiscriminado ha producido una alta resistencia, aumentado así la mortalidad por estas enfermedades. Como consecuencia, cada año mueren en la Unión Europea 25,000 pacientes (17), esto hace imprescindible que se estudien nuevas opciones de tratamiento para las patologías mencionadas por parte de los extractos de del fruto, de la corteza, de la hoja de la *Erythrina edulis* T.

1.3 MARCO TEÓRICO

1.3.1. *Erythrina edulis* T

Clasificación taxonómica (5)

Reino: Vegetal

Subreino: Embriophyta

División: Manoliophyta

Subdivisión: Angiosperma

Clase: Rosidae

Orden: Fabeles

Subfamilia: Faboideae (Papilionoideae)

Género: *Erythrina*

Especie: *Erythrina edulis*, Triana, ex M Micheli



Figura 1. Dibujo de las hojas, flores y frutos
Fotografía por: Mutis, J.C., Drawings of the Royal Botanical Expedition to the new Kingdom of Granada, t. 2738 (1783-1816)

Fuente: Fern K. *Erythrina edulis* T - Useful Tropical Plants [Internet]. Tropical.theferns.info. 2020 [cited 31 March 2020]. Available from: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Erythrina+edulis>

La *Erythrina edulis* T es un árbol de la familia de las Fabaceae, cuyo nombre *Erythrina*, proviene del griego *eritros*, rojo; y *edulis*, epíteto latino que significa comestible (18), por lo que es “el árbol de los frutos rojos y de semillas comestibles” (19), tiene como nombres comunes Chachafruto, poroto o balú. Es una leguminosa que regularmente se localiza en América del Sur en las plantaciones de café, por lo que es fácil encontrarla en Colombia entre los 1000 y los 2700 metros (20).

El árbol puede llegar a medir hasta 10 a 14 metros, con un follaje amplio, con ramas o tallos espinosos, sus flores son inflorescencias que tienen 2 o 3 racimos, con muchas flores de color rojo anaranjado, además presenta vainas de 15 a 60 cm de largo, con semillas en su interior de aspecto como un frijol que pueden ser de color pardo, amarillo o rojo, estas semillas tienen un alto contenido en proteínas con un 23% y aminoácidos esenciales, como lo describe Barrera “*Aminograma comparable con el huevo*” tal se muestra en la tabla 1, por lo que son ampliamente utilizadas en diferentes culturas, sobre todo indígenas, como fuente de alimentos para seres humanos y animales como pollos, vacas, cerdos, entre otros (21).

Tabla 1. Contenido de aminoácidos esenciales del fruto de la *Erythrina edulis* T comparado con otras fuentes de aminoácidos

Producto	Lis	His	Tre	Val	Met	Iso	Leu	Tir	Fen	Tri
Huevo	6.97	2.43	5.12	6.85	3.36	6.29	8.50	4.16	5.33	1.49
Chachafruto <i>E. edulis</i>	6.91	5.84	5.84	5.57	1.31	5.20	8.24	5.50	4.99	0.66
Frijol <i>P. vulgaris</i>	6.24	—	3.87	4.22	1.17	3.73	6.51	2.70	4.72	0.56
Arveja <i>P. sativum</i>	6.9	—	3.58	4.08	0.88	3.20	6.37	3.34	4.22	0.74

Fuente: Barrera N, Mejía M. Chachafruto, balú, sachaporoto, *Erythrina edulis*, Triana. Presente, pasado y futuro [Internet]. 3rd ed. Palmira, Valle: Universidad Nacional de Colombia; [cited 8 March 2008]. Available from: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4120/1/Chachafruto%2C%20pasado%2C%20presente%20y%20futuro.pdf>

Así mismo en el estudio realizado por *Arango y cols.* describen el contenido proteico de 18,4% de la harina realizada a partir de las semillas secas de *Erythrina edulis T*, en la *tabla 2* se describen las proteínas que en mayor proporción se encontraron en este estudio (22).

Tabla 2. Proporción de las fracciones proteicas de la harina del fruto de la *Erythrina edulis T*.

Solvente	Tipo de proteína	Proteína extraída (%) [*]
NaOH	Glutelinas	13,29 ± 0,36
NaCl	Globulinas	8,83 ± 0,45
H ₂ O	Albúminas	11,52 ± 0,22
Etanol	Prolaminas	0,01 ± 0,003

^{*}Porcentaje con respecto al total de proteínas de la harina.
Medias ± desviación estándar de 5 ensayos.

Fuente: Arango O, Bolaños V, Ricaurte D, Caicedo M, Guerrero Y. Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*) [Internet]. 1st ed. Nariño, Colombia: Revista Universidad y Salud, Universidad de Nariño; 2012 [cited 8 March 2020]. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-71072012000200006

Por otra parte, las hojas pueden ser simples y compuestas, según su organización en las ramas. De esta manera según *Mejía y cols:* (23)

“... hojas primarias simples aparecen en el segundo nudo del tallo principal y se forman en la semilla durante la embriogénesis; son opuestas, simples, acuminadas de color verde lustroso. Las hojas compuestas son trifolioladas, están siempre asociadas con las estípulas en los nudos, tienen pecíolo largo, ráquis y tres folíolos acuminados y enteros; tienden a ser ovalados a triangulares, principalmente ovaliformes con espinas no suberizadas por el haz de color verde lustroso” (23)

Estas hojas son comúnmente utilizadas como fertilizantes del suelo para los cultivos, pues son fijadoras del nitrógeno, portadora de minerales y retiene la humedad. Además, el árbol del chachafruto es utilizado para el control de la erosión

del suelo, sus tallos son usados en cercas vivas y para la protección de las fuentes hídricas. (24)

1.3.1.1. Historia

Según *Barrera y Mejía*, el árbol de la *Erythrina edulis T* proviene de la región andina, fue traído por los indígenas inganos desde Perú, quienes estaban huyendo de la guerra, estos traían consigo semillas cocidas para comer y semillas vivas, las cuales fueron sembrando en el camino en diferentes regiones del Putumayo. Los frutos de estos nuevos árboles fueron los que salvaron a la población de morir de hambre en una época en la que no se podía sembrar frijol y maíz por lo que sobrevivieron comiendo el fruto del chachafruto (25). Actualmente se utiliza para realizar alimentos como masa para arepas, harinas, panes, buñuelos, tortas, teteros, sustituye la papa y se puede consumir frito como fruto seco (26).

1.3.1.2. Composición química

La *Erythrina edulis T* además de ser, como se describió anteriormente, gran fuente de aminoácidos esenciales, dentro de la literatura se encuentran metabolitos secundarios en sus semillas. Están en mayor proporción los alcaloides cuaternarios, seguidos de los alcaloides insolubles en cloroformos y esteroides y terpenos; en cambio en las hojas se encuentran en mayor proporción antraquinonas, taninos y saponinas y de último los alcaloides cuaternarios (ver tabla 3) (27).

Tabla 3. Metabolitos secundarios de la *Erythrina edulis* T.

Parte de la planta	Flavonoides	Nastoquinonas o antroquinonas	Taninos y saponinas	Esteroides y terpenos	Alcaloides solubles en cloroformo	Alcaloides insolubles en cloroformo	Alcaloides fenoicos	Alcaloides cuaternarios
Semillas	-	-	-	+	-	+	-	++
Hojas	-	+++	+++	+	-	-	-	++

Criterios de análisis semicuantitativos

- +++ Muy abundante
- ++ Abundante
- + Presente
- Ausente

Fuente: Barrera N, Mejia M. Chachafruto, balú, sachaporoto, *Erythrina edulis*, Triana. Presente, pasado y futuro [Internet]. 3rd ed. Palmira, Valle: Universidad Nacional de Colombia; [cited 8 March 2008]. Available from: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4120/1/Chachafruto%2C%20pasado%2C%20presente%20y%20futuro.pdf>

Además de los metabolitos secundarios descritos (como hasta el momento la mayor importancia que se le ha dado al chachafruto ha sido por la industria alimentaria), se encuentran diferentes análisis bromatológicos acerca de sus componentes, en los cuales se evidencia que el grano y la harina de la *Erythrina edulis* T tienen mayor proporción de carbohidratos, seguido de proteínas y cenizas (Ver tabla 4) (28).

Tabla 4. Análisis Bromatológico del grano y la harina de la *Erythrina edulis* T

Componente	Contenido (%)	
	Grano de <i>Erythrina edulis</i>	Harina de <i>Erythrina edulis</i>
Proteína cruda	35.27 ±0.26	17.13 ±0.05
Fibra	1.42 ±0.18	6.25 ±0.53
Ceniza	11.59 ±0.11	5.84 ±0.08
Grasa	1.64 ±0.07	0.89 ±0.18
Carbohidratos	50.08 ±0.30	69.89 ±0.49

Fuente: Espinoza G. Análisis químico proximal de granos y harina de “Pajuro” (*Erythrina edulis*) y elaboración de una bebida proteica con sabor a chocolate [Internet]. 1st ed. Lima, Peru: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2018 [cited 10 April 2020]. Available from: http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/3764/Analisis_EspinozaCordova_Gaby.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Asimismo, al ser una buena fuente de carbohidratos y proteínas con aminoácidos esenciales, también se considera el grano del chachafruto como una buena fuente de minerales como “calcio (1.19g/kg), fósforo (8.85g/kg), magnesio (3.58g/kg), potasio (57.26g/kg) y sodio (0.08g/kg)” y de oligoelementos como “el cobre (21.90mg/kg), hierro (37.50mg/kg), manganeso (15.84mg/kg) y zinc (140.28mg/kg)” (28).

1.3.1.3. Usos medicinales tradicionales

Dentro de los usos medicinales que en las diferentes comunidades que se le da al chachafruto, está el de anticonceptivo, diurético, manejo de la cistitis, irritaciones oculares y problemas nutricionales; Además se cree que puede llegar a resolver el problema desnutrición en el mundo, por su alto contenido en proteínas y minerales (29). Sin embargo, un estudio reportó bajo porcentaje de digestión in-vivo e in-vitro de la harina realizada a partir de los frutos del chachafruto (30).

En la literatura se encuentran diferentes testimonios de cómo el consumo de chachafruto está asociado a mayor longevidad y salud, como por ejemplo, en *Barrera y Mejía* se encuentra los siguientes textos:

“Una maestra de ascendencia indígena, asistente a la reunión, nos dice: “Mis abuelos llegan casi a los cien años lucidos y fuertes. Se atribuye esta longevidad a que siempre se alimentaron a base de chachafruto y me enseñaron a mí a utilizarlo de muchas maneras” (31)

“En San Bernardo, Cundinamarca, el chachafruto es parte de la tradición alimentaria del pueblo y de la leyenda que dice: “Que en el cementerio del pueblo los cadáveres no se descomponen, están iguales al momento de sacar los restos. Algunos dicen que es por el suelo, pero los demás aseguran que es porque la gente como mucho balú o chachafruto y guatila o cidra de papa” (31)

Así mismo, en la población del municipio de Nilo- Cundinamarca, se le otorga al chachafruto la responsabilidad de la longevidad en esta población que cuenta con personas de más de 100 años de edad. (32)

Estos usos se ven apoyados por un estudio donde se encontró su aplicación nutricional y como antioxidante, pues se evidencia que ciertas fracciones ricas en aminoácidos hidrofóbicos son las especialmente encargadas de la función antioxidante (33).

1.3.1.4. Usos industriales

En la actualidad la industria alimentaria se está viendo cada vez más atraída a desarrollar alimentos con base en proteínas vegetales (33) por ser de más fácil obtención y más económicos; esto lleva a que en el momento la mayoría de literatura encontrada sobre el chachafruto sea acerca de su gran valor como alimento, además de lo ya descrito con anterioridad, se encuentra que el rendimiento de la harina del fruto de la *Erythrina edulis* T es de un 18.85%, esto puede ser debido a la cantidad de humedad, característica que también la hace óptima para su utilización e la industria alimentaria (34).

1.3.2. *Microrganismos de interés*

Hace más de 300 años Antonie van Leeuwenhoek observó por primera vez en un microscopio (35), desde entonces la ciencia se ha interesado por conocer y estudiar dichos organismos; Desde la formulación de la teoría microbiana de la enfermedad por Louis Pasteur a finales del siglo XIX dicho estudio comenzó a concentrarse en

la manera como podíamos tratar enfermedades provocadas en el ser humano; desde infecciones virales, pasando por infecciones bacterianas hasta infecciones con hongos. Con el advenimiento en el siglo XX de los antibióticos, el uso continuo e indiscriminado de estos medicamentos no solo en humanos sino también en animales nos ha llevado a una continua batalla: cada vez que un antibiótico es usado, no transcurre mucho tiempo hasta que los científicos encuentren los primeros gérmenes resistentes (36).

Las tasas de mortalidad debidas a infecciones bacterianas resistentes a múltiples fármacos son altas. Cada año, aproximadamente 25,000 pacientes en la UE mueren a causa de una infección con las bacterias multirresistentes y más de 63,000 pacientes en los Estados Unidos mueren cada año por infecciones bacterianas adquiridas en los hospitales. Los costos económicos estimados debido a infecciones por bacterias resistentes a fármacos en la UE resultan en costos adicionales de atención médica y pérdidas de productividad de al menos 1.500 millones de euros cada año. El costo adicional anual de tratar infecciones adquiridas en el hospital de solo seis especies de bacterias resistentes a los antibióticos se estimó en al menos \$ 1.3 mil millones en dólares de 1992 (\$ 1.87 mil millones en dólares de 2006), más que el gasto anual en influenza (37).

1.3.2.1. *Streptococcus faecalis*

El *Streptococcus faecalis*, microbiológicamente es clasificado como coco Gram positivo, no formador de endosporas. Se presenta en forma de pares o de cadenas cortas (38). Son anaerobios facultativos, quimiorganótrofos, con metabolismo fermentativo y catalasa negativo (39) y se encuentra en una variedad de entornos, como el suelo, el agua, las plantas y los animales.

En los humanos, así como en otros mamíferos, estos microbios se encuentran principalmente en el tracto gastrointestinal como comensales (40) y pueden encontrarse también en el tracto genitourinario y en la saliva. Sin embargo, *E. faecalis* puede convertirse en un patógeno oportunista en individuos cuyos sistemas inmunes están comprometidos. También ha demostrado adquirir resistencia a una amplia gama de antibióticos (40), lo que lo ha convertido en uno de los principales patógenos nosocomiales (41), siendo responsable del 16% de las infecciones urinarias intrahospitalarias, 12 % de las infecciones de heridas quirúrgicas y 9 % de las bacteriemias nosocomiales. Además, constituye el tercer patógeno más frecuente asociado a endocarditis (42).

Debido a su alta prevalencia y resistencia se hace importante investigar nuevas opciones de terapéuticas que permitan al médico dar un mejor manejo.

1.3.2.2. *Candida albicans*

En las últimas décadas las infecciones producidas por hongos están siendo cada vez más reconocidas como una importante amenaza para la salud de la población, principalmente de pacientes comprometidos inmunológicamente (43). Ya que *Candida albicans* es uno de los principales patógenos de esta especie, consideramos de vital importancia ahondar en opciones terapéuticas que permitan a los galenos tener mejores herramientas para el tratamiento de las diferentes micosis causadas por este género.

Candida albicans es un microorganismo aerobio y se reproduce asexualmente por gemación. La transición entre la forma de crecimiento de levadura a hifa es importante para desarrollar su patogenicidad; las hifas tan solo se reproducen en el momento de la invasión a los tejidos; existen numerosos estímulos ambientales que desencadenan o bloquean su conversión; por ejemplo, en un pH bajo inferior a 6 este microorganismo crece en la forma de levadura, mientras que en un pH alto superior a 7 crece en forma de hifa (44).

C. albicans es una de las pocas especies de hongos que causan enfermedades en humanos. Es miembro de la microbiota sana, colonizando asintóticamente el tracto gastrointestinal, el tracto reproductivo, la cavidad oral y la piel de la mayoría de los humanos. En individuos con sistemas inmunes sanos, *C. albicans* a menudo es inofensivo y se mantiene en equilibrio con otros miembros de la microbiota local. Sin embargo, alteraciones en la microbiota del huésped (p. Ej., debido a antibióticos), cambios en la respuesta inmune del huésped (p. Ej., durante el estrés, infección por otro microbio o terapia inmunosupresora) o variaciones en el entorno local (p. Ej., cambios en el pH o contenido nutricional) puede permitir que *C. albicans* crezca demasiado y cause infección (44).

Estas infecciones varían desde infecciones superficiales de la mucosa y dérmicas, como aftas, infecciones vaginales por levaduras y dermatitis del pañal, hasta infecciones diseminadas de forma hematógena con tasas considerables de mortalidad (cerca del 40% en algunos casos). Las infecciones son especialmente graves en individuos inmunocomprometidos (como aquellos con SIDA o aquellos sometidos a terapias anticancerígenas o de inmunosupresión) y personas sanas con dispositivos médicos implantados (45).

1.3.3. Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que ayudan a prevenir los efectos adversos inducidos por EROS en las funciones fisiológicas del ser humano (9). Las especies reactivas de oxígeno (EROS) están compuestas por los radicales libres, que son moléculas cuyas estructuras químicas tienen 1 o más electrones no emparejados en el orbital más externo (por lo que es altamente reactiva) también se encuentran los iones de oxígeno y peróxido. El lugar donde existe mayor producción de EROS es en las mitocondrias, encargada de la respiración celular, en la reducción del oxígeno por parte del radical superóxido y en los fagocitos al activar mecanismos protectores (20).

Para comprender la función de los antioxidantes primero se deben entender los procesos de *“óxido-reducción que remiten a dos momentos básicos: a) oxidación que implica pérdida de electrones de hidrógeno con la ganancia de oxígeno en la molécula, b) reducción que significa ganancia de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno. Así el oxidante se reduce al reaccionar con aquella molécula que oxida.”* (46).

Estos procesos de óxido-reducción hacen parte del funcionamiento celular normal del ser humano, pero en ocasiones puede generarse un desequilibrio entre las sustancias pro-oxidantes y antioxidantes, que puede ser debido a una proliferación exagerada de radicales libres o a una falla en el sistema antioxidante; lo cual lleva a un estrés oxidativo con efectos deletéreos en la salud del paciente y progresión de enfermedades crónicas como cáncer, diabetes, trastornos neurodegenerativos y cardiovasculares. Por lo que se requiere tener un adecuado sistema antioxidante para evitar sus fallas y tener adecuada respuesta ante un posible estrés oxidativo (46) (47).

La aparición de la progresión de estas enfermedades crónicas puede estar explicada por diferentes fenómenos, como por ejemplo en el caso de los trastornos cardiovasculares. Se ha observado que el cLDL oxidado tiene mayor adherencia a las paredes de los vasos sanguíneos, por otra parte si los radicales libres realizan una afectación en las mitocondrias y en los genes, esto aumentaría el riesgo de tumores; si se hace en las proteínas hay mayor deterioro y muerte celular pues se aumenta el riesgo de enfermedades neurodegenerativas y el proceso de envejecimiento. También se ha evaluado la relación que tiene la disminución del glutatión en relación con enfermedades como el Parkinson (48).

Además, el efecto de los antioxidantes en la diabetes mellitus parece no estar relacionada directamente con su efecto en los radicales libres, pero si lo está en relación con la inhibición de la digestión de carbohidratos. Se cree que también estimula la secreción de insulina en el páncreas. Las reacciones de óxido-reducción, ya comentadas, pueden verse en desequilibrio por factores ambientales externos como el humo del cigarrillo, contaminación ambiental, las radiaciones Gamma, UV, compuestos tóxicos, dietas hipercalóricas, altas en grasa o con bajo consumo de frutas y verduras y estrés físico (49).

1.3.3.1. Tipos de antioxidantes

El sistema antioxidante tiene dos tipos de vías para realizar la protección descrita. Antioxidantes enzimáticos, que son los endógenos (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa) (49), y antioxidantes no enzimáticos, que son los exógenos. Los antioxidantes endógenos requieren, para mantener el equilibrio, el soporte de los antioxidantes exógenos por lo que es de vital importancia adquirirlos en la dieta.

Ya que los antioxidantes exógenos son vitales porque dependen solo de la decisión de ser ingeridos y se ha demostrado que pueden disminuir el riesgo de enfermedades como en cáncer (50). Se expondrán aquellos que en el momento tienen mayor importancia.

- **Vitamina C:**

El ácido ascórbico es el principal antioxidante en medios acuosos del organismo, es una molécula pequeña, de fácil absorción, pero su mayor papel como antioxidante radica que su gran capacidad de oxidación, evitando que al estar presente se oxiden otros compuestos. Al ser hidrosoluble puede interactuar con el ion superóxido y radicales hidroxilos, además de reducir el tocoferol oxidado (51). Una de sus desventajas es que al ser hidrosoluble no se almacena en los tejidos por lo que se requiere su ingestión continua (51).

Los alimentos con altos contenidos de vitamina C con las fresas, kiwis, cítricos, coles, cebolla, pimientos. Es importante destacar que su ingesta debe ser cruda pues las altas temperaturas destruyen la vitamina C. (52)

- **Vitamina E:**

Es el principal agente antioxidante liposoluble de las membranas celulares. Inhibe la peroxidación lipídica por radicales libres en fosfolípidos de la membrana celular, lipoproteínas, tejido adiposo, cerebro y en tejidos con ácidos grasos poliinsaturados

en gran proporción. Esto lo hace interactuando con el ion superóxido y peróxidos de lípidos, formando radicales de tocoferol. Al inhibir esta oxidación permite una adecuada nutrición y regeneración de los tejidos (52).

Entre los alimentos con mayor contenido de vitamina E se encuentran los granos como almendras, avellanas, aceite de soja, de maíz, coco. (52)

En la literatura se describe a la vitamina C y E como las mayores responsables de la oxidación, ya que trabaja sinérgicamente como directos barredores de radicales libres y evitan su oxidación mutuamente, regenerando así su capacidad antioxidante (52).

- Beta-carotenos y otros Carotenoides:

Los carotenoides forman un amplio grupo de compuestos que se encuentran en plantas (52), su capacidad antioxidante está en captar radicales libres de peróxido, adicionándolo a sistemas conjugados y estabilizándolo (53).

Entre las recomendaciones del consumo de carotenos esta que deben comerse espaciados en el día con 3 raciones y pueden comerse cocidos ya que no se suelen dañar con el calor. Los alimentos con mayor contenido de carotenos son zanahorias, espinaca, papaya, aguacate, entre otros (53).

1.3.3.2. Antioxidantes y la Erythrina edulis T

Dentro de los fitoquímicos se ha observado que tienen un papel como antiinflamatorios, modifican las enzimas metabolizadoras de drogas, tiene influencia en el ciclo celular, aumento del potencial inmune; así mismo tiene un papel muy importante con actividad antioxidante (54). Además de esto diferentes estudios han encontrado que las proteínas derivadas de plantas (soja, canola, linaza y amaranto) contienen propiedades antioxidantes en los hidrolizados proteicos. Por parte de la *Erythrina edulis T* se encuentra un estudio donde se evidencia que ciertas fracciones inferiores a 3kDa y ricas en aminoácidos hidrofóbicos son responsables de actividades antioxidantes (55).

1.3.4. Cáncer

Según la OMS, el cáncer es “un proceso de crecimiento y diseminación incontrolado de células”, dado por una alteración o daño del ADN de las mismas, que puede aparecer en cualquier lugar del cuerpo y tiene la capacidad de invadir el tejido circundante, provocando metástasis en puntos distantes del organismo. (56)

Según datos de la Cuenta de Alto Costo (CAC), en Colombia hay 275.348 personas diagnosticadas con cáncer para el último periodo analizado (2 de enero de 2017 al 1 de enero del 2018). Durante este periodo se reportaron 37.630 casos nuevos y 19.814 personas con diagnóstico de cáncer fallecieron. El cáncer de mama, tumores en la piel y cáncer de próstata son los más frecuentes entre la población atendida en el sistema de salud de Colombia en el mismo año.

Del total de casos, 173.494 son mujeres con una edad media de 59 años y 101.854 hombres con una edad media de 63 años. Los tipos de cáncer con mayor número de casos reportados en las mujeres fueron: cáncer de mama, de cuello uterino y de glándula tiroides; en los hombres los cánceres más frecuentes fueron: cáncer de próstata, de piel y de colon y recto (57).

Según los últimos datos disponibles en Globocan, para el 2018 se estimaron 18,1 millones de casos nuevos y 9,6 millones de muertes como consecuencia de dicho grupo de enfermedades en todo el mundo, con un riesgo acumulado de incidencia que indica que, uno de cada ocho hombres y una de cada diez mujeres desarrollarán cáncer en algún momento de su vida (58).

La Unión Internacional contra el Cáncer y la Sociedad Americana de Cáncer, registran que actualmente 8 millones de personas mueren de cáncer cada año en todo el mundo, lo que supera las muertes por VIH/SIDA, malaria y tuberculosis juntas. De esta cifra, unos 4 millones de personas mueren de forma prematura, en edades comprendidas entre los 30 y los 69 años. De acuerdo con *The Economist Intelligence Unit*, muchos de los casos nuevos y de las muertes se están presentando en los países en desarrollo como el caso de los países latinoamericanos, donde debido al envejecimiento y al crecimiento de la población, la incidencia y la mortalidad por cáncer han aumentado y se estima que seguirán aumentando marcadamente entre el 2012 y el 2035. Se prevee que la cantidad de casos aumentará en 91% durante este período, en tanto que los casos de muerte aumentarán en 106%. Así pues, contar con nuevas herramientas de manejo que permitan impactar positivamente la atención y el manejo de las personas con cáncer ponen de manifiesto la necesidad de este estudio (59).

1.3.4.1. *Metabolismo de las células tumorales*

La primera alteración específica del metabolismo tumoral, fue descubierta por el ganador del Premio Nobel *Otto Warburg* en la década de 1920. El "fenómeno de

Warburg" consiste en un aumento del glucólisis que se mantiene en condiciones de alta tensión de oxígeno (glucólisis aeróbica) y da lugar a una mayor producción de lactato. Además, las células cancerosas usan cantidades elevadas de glucosa como fuente de carbono para las reacciones anabólicas.

Existen varias razones por las cuales una mayor absorción de glucosa para la generación de ATP glucolítico o reacciones anabólicas constituye una ventaja para el crecimiento tumoral:

- Primero, en condiciones de glucólisis aeróbica, las células pueden vivir en condiciones de tensión fluctuante de oxígeno, que sería letal para las células que dependen de la fosforilación oxidativa (OXPHOS) para generar ATP.
- En segundo lugar, las células cancerosas generan ácidos, bicarbonato y láctico, siendo el lactato el principal producto final de la glucólisis aeróbica. Dichos ácidos condicionan su entorno, favorecen la invasión tumoral y suprimen los efectos inmunes contra el cáncer. El lactato producido por las células tumorales puede ser absorbido por las células del estroma para regenerar el piruvato que puede reabastecer la célula cancerosa para mantener la supervivencia y el crecimiento de las células cancerosas.
- En tercer lugar, los tumores pueden metabolizar la glucosa a través de la vía de la pentosa fosfato (PPP) para generar NADPH, lo cual asegura las defensas antioxidantes de la célula contra un microambiente hostil y agentes quimioterapéuticos. Además, NADPH puede contribuir a la síntesis de ácidos grasos.
- Cuarto las células cancerosas usan intermedios de la vía glucolítica para las reacciones anabólicas (por ejemplo, G6P para la síntesis de glucógeno y ribosa 5-fosfato, dihidroxiacetona fosfato para la síntesis de triacilglicéridos y fosfolípidos) y piruvato para la síntesis de alanina y malato. Los cuales luego están disponibles como precursores para la síntesis de aminoácidos, ácidos nucleicos y lípidos (60).

Estas características metabólicas nos llevan a desarrollar las características de comportamiento propio de la célula tumoral, tales como la activación constitutiva de las vías del factor de crecimiento, la activación constitutiva de HIF-1 y la inactivación de p53 que constituyen la causa común de la programación metabólica y las características bien estudiadas del cáncer, como el crecimiento autónomo, la resistencia contra la apoptosis, replicación ilimitada y angiogénesis. (60)

1.3.4.2. Tratamiento cáncer

El objetivo del tratamiento contra el cáncer es erradicarlo. Todo tratamiento antineoplásico tiene la capacidad de causar daño y a veces se administra un tratamiento tóxico sin beneficio alguno. El índice terapéutico de muchas intervenciones es muy estrecho, los tratamientos se aplican hasta el punto de la toxicidad (61).

El tratamiento para el cáncer se divide en dos tipos principales: local y generalizado. Las modalidades locales incluyen cirugía, radioterapia (incluida la terapia fotodinámica) y técnicas ablativas, como radiofrecuencia y criocirugía. Los tratamientos generalizados incluyen quimioterapia (terapia hormonal y terapia molecular enfocada) y terapia biológica (incluida inmunoterapia). Tales modalidades se utilizan a menudo en combinación y los fármacos que pertenecen a una categoría actúan por diversos mecanismos (61).

Como es bien sabido, es cada vez más frecuente encontrar tumores resistentes a las diferentes terapias oncológicas; no solo a los medicamentos citotóxicos (citarabina , metotrexate); sino también a la inmunoterapia (imatinib) (61) y la radioterapia, llevando a uso de mayores dosis lo que conduce a una mayor toxicidad; mayor número de complicaciones y en muchas ocasiones la incurabilidad. Pone lo anterior de manifiesto la importancia de estudiar nuevas opciones terapéuticas que tengan un impacto clínico y también económico en el paciente, para que puedan tener una menor carga de toxicidad que permita una mejor calidad de vida a los pacientes oncológicos.

1.3.4.3. Fitoterapia en la prevención y tratamiento del cáncer

La utilización de las plantas contra el cáncer está en la base de muchos tratamientos que se utilizan en quimioterapia y en gran parte de la investigación actual en busca de nuevas moléculas contra el cáncer. Los mecanismos de actuación de las plantas medicinales son muy variables, ya que la planta puede tener varios metabolitos secundarios actuando de manera sinérgica con varios mecanismos de acción frente a un mismo blanco o actuar en diferentes blancos lo que les confiere una ventaja frente a otros tratamientos convencionales. Además, al mayor parte de las plantas se pueden emplear sin efectos secundarios y como coadyuvantes en tratamientos convencionales, lo que podría disminuir la toxicidad (62).

La búsqueda de agentes de origen vegetal contra el cáncer se inició en la década de 1950, cuando se llevó a cabo el descubrimiento y desarrollo de los alcaloides de

la vinca, aislados del *Catharanthus roseus* (vincristina y vinblastina). Otro avance que se hizo en el medicamento contra el cáncer está en relación con la clase de agentes clínicamente activos derivados de camptotecina. Camptothecin fue aislado por primera vez desde el árbol ornamental chino *Camptotheca acuminata* Decne (Nyssaceae), y conocido en China como “el árbol de la alegría” (62).

Otras plantas conocidas por su potencial antitumoral ya estudiado in vitro, pero menos usadas son:

- *Allium cepa* (cebolla) su consumo se relaciona con una disminución de cánceres gástricos y de próstata (62).
- *Aloe vera*: contiene una sustancia conocida como 1,8-dihidroxi-3-[hidroximetil]-antraquinona, que se ha demostrado efectiva para inducir la muerte celular entre las células T24 (línea celular de cáncer de vejiga humano) (62).
- *Artemisia annua* (ajenjo dulce): se han mostrado eficaces para inducir la apoptosis de las células de cáncer de próstata, osteosarcoma, cáncer de mama, leucemia, cáncer de colon y de pulmón (62).
- *Astragalus hedysarum* (astrágalo): es capaz de restaurar las funciones de células T deficientes en pacientes con cáncer. Tiene efectos antitumorales in vitro e in vivo, lo que podría estar relacionado con la activación del mecanismo inmune antitumoral del huésped. Protege contra los efectos adversos de algunas terapias (sobre todo se ha visto su acción en los cánceres del tubo digestivo, procesos de inflamación gastrointestinal y cánceres colorrectales) (62).
- *Berberis vulgaris* (agracejo): mejora la función inmune y reduce la hipertensión. La berberina, un alcaloide potente del agracejo, se ha probado en células de cáncer epidermoide de lengua humana (62).
- *Boswellia serrata* (boswellia): ha sido estudiada por sus propiedades contra el cáncer. Especialmente 11-ceto-FL-boswélico ácido acetil (AKBA) —la sustancia obtenida de la resina de goma de dicha hierba—. Se ha demostrado que AKBA inhibe el crecimiento y la proliferación de líneas de cáncer de páncreas humano, induce la apoptosis, y suprime la metástasis de las células del cáncer pancreático para el bazo, el hígado y los pulmones en un modelo de ratón (62).
- *Cannabis sativa* (marihuana): In vitro, estudios de componentes de la marihuana indican un potencial inhibidor de células de cáncer de mama. En tumores cerebrales malignos se encontró que la supervivencia de los animales se incrementó significativamente. Los componentes activos de

Cannabis sativa son cannabinoides. Los cannabinoides y sus derivados ejercen efectos paliativos en pacientes con cáncer mediante la prevención de náuseas, vómitos y dolor y también estimulan el apetito. Estos compuestos también han demostrado actividad anti-tumoral en el cultivo de células y modelos animales (62).

- *Glycyrrhiza glabra* (regaliz): los polifenoles que se encuentran en el regaliz estimulan la apoptosis en células de cáncer. La raíz de regaliz suprime la proliferación de células de cáncer de mama humano (62).
- *Larrea tridentata* (chaparral): Uno de sus compuestos, el ácido nordihidroguaiarético (NDGA), inhibe el crecimiento de tumores (62).
- *Medicago sativa* (alfalfa): la L-canavanina aislada de *Medicago sativa* ha mostrado actividad antineoplásica significativa en modelos animales y en líneas celulares de cáncer (62).
- *Melissa officinalis* (melisa): la fracción en diclorometano de *M. officinalis* tiene la capacidad de inducir apoptosis en leucemia. También tiene efecto antiproliferativo y proapoptótico en células de carcinoma de colon (62).
- *Silybum Marianum* (cardo mariano): la silimarina del cardo mariano evita la proliferación de células tumorales, la invasión, la angiogénesis y la metástasis. Silibinin, un componente importante (flavanolignano), el principal constituyente activo ha demostrado efectos anticancerígenos in vitro contra células humanas de adenocarcinoma de próstata, células de carcinoma de mama humano dependientes de estrógeno y de estrógeno-independiente, células de carcinoma exocervical humano, células de cáncer de colon humano y de carcinoma humano de pulmón tanto de células pequeñas como no pequeñas (62).

1.4 METODOLOGÍA

1.4.1 MATERIALES y METODOS

1.4.1.1. Recolección e identificación del material vegetal

La muestra se obtuvo por colección en Mogambo Sendero Ambiental, 1300 m.s.n.m. proviene de árboles cultivados. Vereda Brasil, municipio de Viotá, departamento de Cundinamarca. Muestra entregada a María Camila Vesga, por el

propietario Ing. Luis Enrique Acero, e identificado en el herbario nacional colombiano bajo el voucher COL 611952, como *Erythrina edulis* Triana ex Micheli.

1.4.1.2. Extracción y fraccionamiento

3 kg de las hojas y 3 kg del fruto de *Erythrina edulis*, se deshidrataron a temperatura ambiente bajo sombra, para luego poder cortar el material en pedazos más pequeños, dividiendo las hojas, la corteza y el fruto. El material procesado se separó en frascos de vidrio (ver Figura 2) para realizar el proceso de maceración en frío con etanol al 96% durante 2 meses y así obtener el extracto total etanólico.



Figura 2. Maceración en frío de hojas, fruto y corteza de *Erythrina edulis*

Una vez completado este paso, se realiza extracción de las hojas, fruto y corteza, por el método *soxhlet* durante una semana con diclorometano, acetona y metanol, manejando temperaturas de ebullición de cada solvente (paso de fase líquida a fase gaseosa), para obtener extractos de polaridades crecientes baja- media, media-alta y alta respectivamente (ver Figura 3).



Figura 3. *Extracción por soxhlet*

Después del macerado en frío y la extracción por soxhlet, los extractos se concentraron a presión reducida en rotoevaporador (Ver figura 4).



Figura 4. *Extractos concentrados en rotoevaporador*

Finalmente se guardaron los extractos secos en nevera. A partir de lo obtenido se prepararon soluciones a una concentración de 100mg/1ml de dimetilsulfóxido, para pruebas antimicrobianas, 1000 ppm de metanol para pruebas de antioxidantes y 500 mg/ml de cada extracto para pruebas de citotoxicidad (Ver Figura 5).

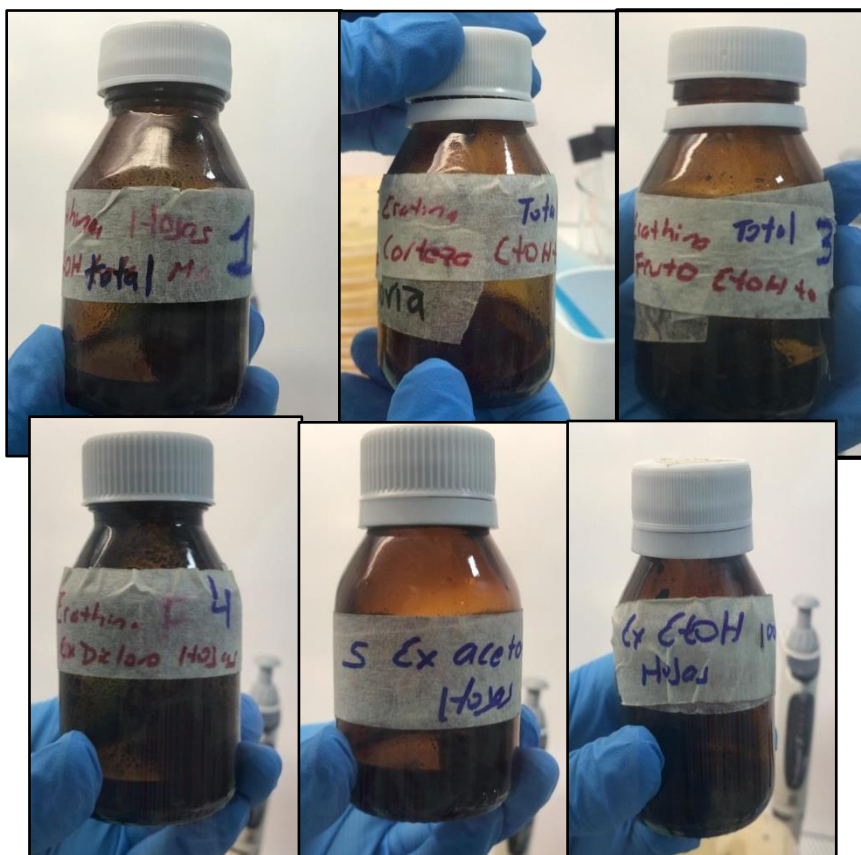


Figura 5. Extractos de diclorometano, acetona y etanol de hojas, fruto y corteza de *Erythrina edulis* T.

1.4.1.3. Estudio microbiológico

Se utilizaron dos cepas de microorganismos para el estudio microbiológico: *Streptococcus faecalis* ATCC 14506 y *Candida albicans* ATCC 10231.

Se inoculó cada cepa por siembra masiva en una caja de Petri con agar tripticasa de Soya a partir de las perlas de Cryobank (sistema de preservación). Se Incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, condiciones para *Streptococcus faecalis*, y a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 72 horas para *Candida albicans*. Posteriormente, se verificó la pureza del cultivo mediante tinción de Gram a través de medios sólidos selectivos.

Se utilizó el inóculo que contiene $3,0 \times 10^8$ UFC/mL o estándar 1 de la escala McFarland (Ver Figura 6). La actividad antimicrobiana fue evaluada utilizando la técnica de Kirby-Bauer de difusión en agar con pozos perforados (Ver Figura 7).

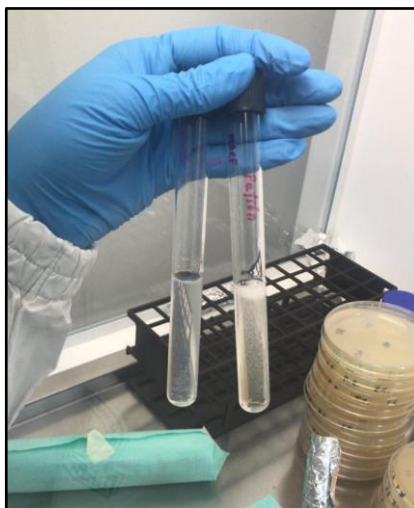


Figura 6. Estandar 1 de escala McFarland.

Se mezclaron 1 mL del inoculo y 25 mL del medio de cultivo (Agar Mueller Hinton), con posterior homogenización para adicionarse en cajas de Petri. Posteriormente, se sembraron los extractos de hojas, fruto y corteza a concentraciones de 2, 4, 6 y 8 mg/mL de cada uno de las fracciones en diclorometano, acetona y metanol en los pozos.



Figura 7. Técnica de Kirby-Bauer de difusión en agar con pozos perforados.
Pozos marcados como 20, 40, 60 80 ug/ml.

Una vez terminada la siembra, las cajas de Petri se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, para *Streptococcus faecalis* y a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 72 horas para *Candida albicans*. Cumplido este tiempo, se realizaron las lecturas de los halos de inhibición con 4 repeticiones, teniendo como controles positivos antibióticos estándar:

Amoxicilina, Cefalotina, Ciprofloxacina y Gentamicina; como antimicótico, fluconazol. El control negativo fue dimetilsulfóxido (DMSO), ya que también había sido utilizado como solución madre para la realización de los extractos en el laboratorio, lo que confirma que la inhibición fue provocada por el extracto y no por el DMSO.

1.4.1.4. Capacidad antioxidante

Se determinó la capacidad antioxidante de los extractos de hoja, fruto y corteza de *Erythrina edulis* T. por el método de decoloración con el radical catiónico ABTS y por el ensayo de decoloración del radical libre DPPH.

Las pruebas de actividad antioxidante se realizaron mediante la implementación de la capacidad antioxidante del Trolox sobre el ABTS y teniendo en cuenta su habilidad de secuestrar radicales de larga vida, que se puede observar con la decoloración del compuesto nitrogenado DPPH.

1.4.1.4.1. Preparación de DPPH y medición de los extractos

Se disolvieron 2 mg de DPPH* Sigma-Aldrich, en 100 mL de metanol grado analítico, dejándose reaccionar a temperatura ambiente durante 24 horas en la oscuridad. De esta manera se procedió a preparar soluciones de trabajo hasta obtener una absorbancia de $0,750 \pm 0,050$ para todos los casos, a una longitud de onda de 517 nm.

Por otro lado, se preparó ácido ascórbico mediante una solución stock de 250 mg/L en metanol mediante la disolución de 25 mg de ácido ascórbico, en 100mL de metanol, luego se prepararon diluciones a concentraciones de 25, 12,5, 6,25, 0,625 y 0,0625 mg/L de metanol para realizar la curva de referencia.

Para la preparación de rutina, se utilizó una solución stock a 250 mg/L en metanol disolviendo 25 mg de rutina, en 100 mL de metanol. Posteriormente se prepararon diluciones con rangos de concentración entre 25 mg/L de metanol (MeOH) y 0,625 mg/Litro de MeOH, para establecer la curva de referencia.

Para la medición se agregaron 600µL del radical DPPH en una celda de plástico de volumen reducido 1,5 mL, se midió la absorbancia inicial a 517 nm. Luego se adicionaron 200µL de cada uno de los extractos de hojas, fruto y corteza de *Erythrina edulis*, se midió la absorbancia cada 30 segundos durante 10 minutos, la absorbancia final a la misma longitud de onda 10 minutos después.

Se prepararon por cada extracto, la soluciones stock, a una concentración de 250mg/L de metanol. De cada muestra se realizaron diluciones de 125, 62,5, 25,

12,5 y 6,25 mg/L (ppm) para determinar las concentraciones necesarias para obtener porcentajes de captación del 10% al 95%.

Posteriormente se midió la absorbancia del DPPH solo (absorbancia inicial), mezclando el DPPH y el extracto, de esta manera se midió la absorbancia cada 30 segundos por 10 minutos de la mezcla del DPPH* y los extractos de hojas de *Erythrina edulis*.

1.4.1.4.2. Preparación de la curva de referencia del DPPH

Para realizar la preparación, a 600 µL del radical DPPH se le adicionan 200 µL de cada una de las diluciones de ácido ascórbico y la de rutina; las mediciones se realizaron a 517 nm, y el porcentaje de captación se calculó con base en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Captación DPPH} = \frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}}$$

Dónde A_{inicial} es la absorbancia inicial (517nm) y A_{final} es la absorbancia final a la misma longitud de onda.

El porcentaje de captación representa el paso de color púrpura a amarillo del radical DPPH, cuando es agregado a un compuesto antioxidante, este disminuye así la absorbancia de la solución, la cual es medida a 517 nm; la absorbancia inicial es tomada en el minuto cero sin adición del antioxidante referencia, la toma de los datos de absorbancia se realiza después de agregar el antioxidante de referencia cada 30 segundos durante 10 minutos.

1.4.1.4.3. Preparación ABTH y mediciones

Se disolvieron 50 mg de (ABTS) sal diamónica del 2,2-Azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) de Sigma-Aldrich, en 50 mL de agua desionizada, luego se adicionaron 2,45 mg de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$), la solución se dejó reaccionar a una temperatura de 3°C durante 48 horas en la oscuridad, Posteriormente fueron preparadas soluciones de trabajo hasta obtener una absorbancia de $0,750 \pm 0,050$ para todos los casos, a una longitud de onda de 754 nm.

Para obtener el trolox, se preparó una solución de 250 mg/L de metanol disolviendo 25 mg de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico 97% (trolox) de ACRÓS ORGANIC, en 100 mL de metanol, luego se prepararon diluciones con

rangos de concentración entre 0,0625 y 125 mg/L de metanol, con el fin de realizar la curva de referencia. Finalmente se realizó la preparación de rutina y ácido ascórbico (controles positivos).

1.4.1.4.4. Preparación de la curva de referencia del ABTH

Para realizar la preparación, a 600 µL del radical ABTS se le adicionaron 200 µL de cada una de las diluciones de trolox, ácido ascórbico y la de rutina; Las mediciones se realizaron a 754 nm, y el porcentaje de captación se realizó el cálculo con base en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de captación de ABTS} = \frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}} \times 100,$$

Dónde A_{inicial} es la absorbancia inicial (517nm) y A_{final} es la absorbancia final a la misma longitud de onda.

Este porcentaje de captación representa la pérdida del color azul-verde del radical ABTS, cuando este es agregado a un compuesto antioxidante, disminuyendo así la absorbancia de la solución, la cuales medida a 754 nm; la absorbancia inicial se toma en el minuto cero sin adición de trolox y la absorbancia final se toma 10 minutos después de agregar el trolox, el ácido ascórbico o la rutina.

1.4.1.5. Pruebas de citotoxicidad

Para evaluar la actividad antitumoral de los extractos, se realizaron pruebas de citotoxicidad por medio del método del MTT (Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol); colorante que nos permite medir la capacidad metabólica que tienen las células, este colorante de tonalidad amarilla es reducido por las células viables, por los componentes de la cadena respiratoria (enzima succinato-deshidrogenasa), produciendo un compuesto de tonalidad azul (formazan), el cual es un compuesto tóxico en la cadena de respiración celular, por lo cual la cantidad de formazan que se produzca va a ser directamente proporcional a las células sobrevivientes.

1.4.1.5.1. Cultivo Celular

El cultivo celular se realizó en medio RPMI suplementado con suero fetal bovino al 10%, alrededor de 7000 células por pozo en placas de 96 pozos bajo las siguientes condiciones: 5% CO₂ y 37 °C por un tiempo de 24 h o hasta que se alcanzó el 60% de confluencia en el pozo, en este punto se trataron con diferentes concentraciones del extracto y las fracciones (200, 100, 50, 25, 12,5 ug/mL). Se incubaron las células tratadas y controles por 48 horas, tiempo en el que se le agregó el reactivo MTT; posteriormente, se incubaron por 4 horas a 37 °C para así permitir la formación de cristales de formazán. Se eliminó el sobrenadante y se adicionó DMSO, se incubaron a temperatura ambiente hasta que los cristales de formazán se disolvieron (5min). Se determinó la absorbancia con un lector de microplacas Biorad a 570 nm. La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido, por lo que se obtuvieron los datos necesarios para realizar el cálculo de la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) requerida para disminuir el 50% de la viabilidad celular, por lo cual se utilizó como control positivo de citotoxicidad el anticancerígeno comercial Taxol a la IC₅₀ establecida para cada línea celular: PC3: 0,05 ug/ML; MDA-MB-231:0,020 ug/ML; y RKO: 0,031ug/ML.

1.5 DESARROLLO DEL PROYECTO

1.5.1. Resultados de las Pruebas microbiológicas

La actividad antimicrobiana fue evaluada utilizando la técnica de Kirby-Bauer de difusión en agar con pozos perforados. Se sembraron los extractos de hojas, fruto y corteza a concentraciones de 2, 4, 6 y 8 mg/mL de cada uno de las fracciones en diclorometano, acetona y etanol. Algunos de los resultados se muestran en las figuras 8-10.

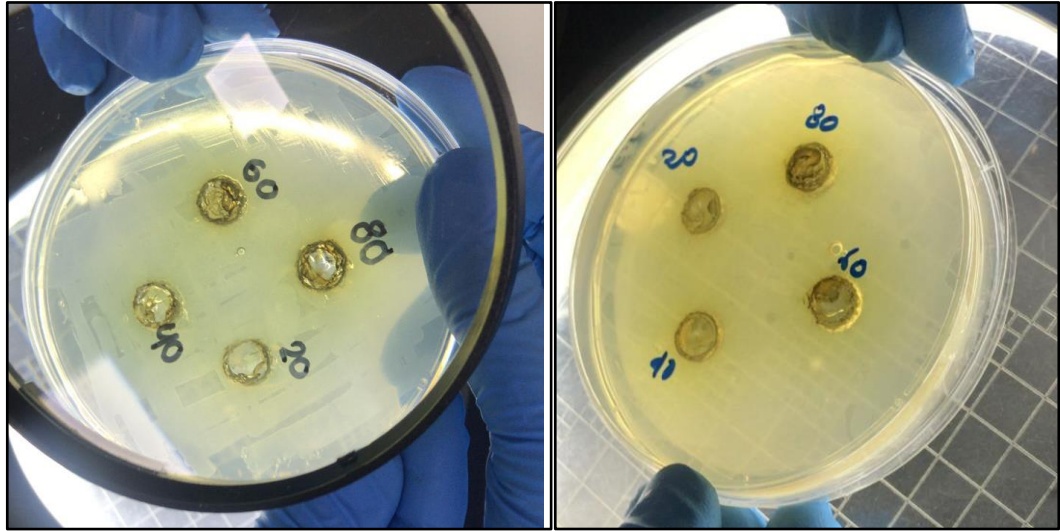


Figura 8. *Enterococcus faecalis*, replicas 1 y 2 del extracto de *Erythrina edulis*-acetona- hojas por soxhlet. Halo de 15,99 mm (izquierda) y 11.66 mm (derecha) en el pozo de 80ul.

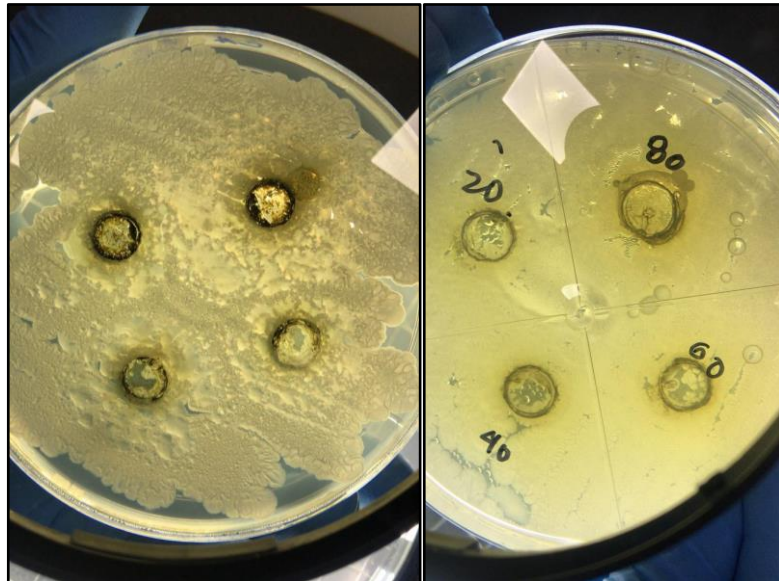


Figura 9. *Candida albicans*. Replica 1 de extracto de hojas por maceración en frío (izquierda) con 12,22 mm de halo en el pozo de 80ul. Replica 3 del extracto obtenido por maceración en frío del fruto de *Erythrina edulis* (derecha) con 21,34 mm de halo en pozo del 80ul.

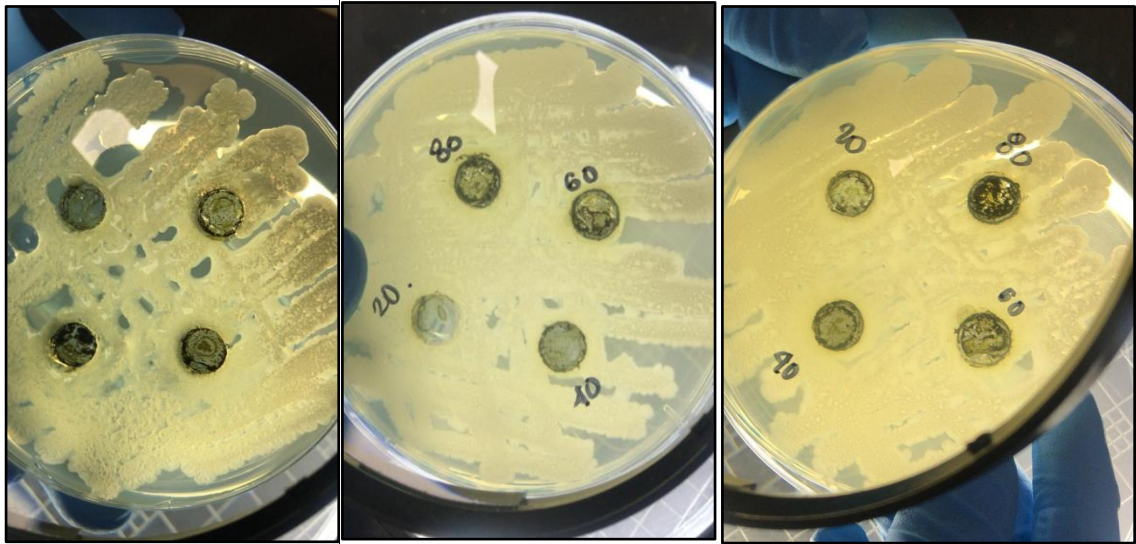


Figura 10. *Candida albicans*. Replica 1 (izquierda), replica 2 (medio), replica 3 (derecha) del extracto de hojas obtenido por soxhlet.

HALOS DE INHIBICIÓN EXTRACTOS <i>ERYTHRINA EDULIS</i>												
<i>Enterococcus faecalis</i>												
Extractos	Réplica 1				Réplica 2				Réplica 3			
	Concentración mg/dl				Concentración mg/dl				Concentración mg/dl			
	2	4	6	8	2	4	6	8	2	4	6	8
Etanólico por maceración-hojas	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Etanólico por maceración-Fruto	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Etanólico por maceración-Corteza	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Dicloro soxhlet	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Acetona soxhlet	0 mm	0 mm	0 mm	15,6 9 mm	0 mm	0 mm	0 mm	11,66 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Etanólico soxhlet	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

Tabla 5. Los 6 extractos obtenidos en laboratorio sembrados en pozos de 2, 4, 6 y 8 mg/ml divididos en tres réplicas para *Enterococcus faecalis*

HALOS DE INHIBICIÓN EXTRACTOS <i>ERYTHRINA EDULIS</i>												
<i>Candida albicans</i>												
Extractos	Réplica 1				Réplica 2				Réplica 3			
	Concentración mg/dl				Concentración mg/dl				Concentración mg/dl			
	2	4	6	8	2	4	6	8	2	4	6	8
Etanólico por maceración-hojas	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Etanólico por maceración-Fruto	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Etanólico por maceración-Corteza	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Dicloro soxhlet	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Acetona soxhlet	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Etanólico soxhlet	0 mm	0 mm	15,37 mm	14,62 mm	0 mm	0 mm	0 mm	16,87 mm	13,98 mm	14,2 mm	15,77 mm	17,95 mm

Tabla 6. Tamaños de los pozos para cada microorganismo de 8.07 mm. Los 6 extractos obtenidos en laboratorio sembrados en pozos de 2, 4, 6 y 8 mg/ml divididos en tres réplicas para *Candida albicans*.

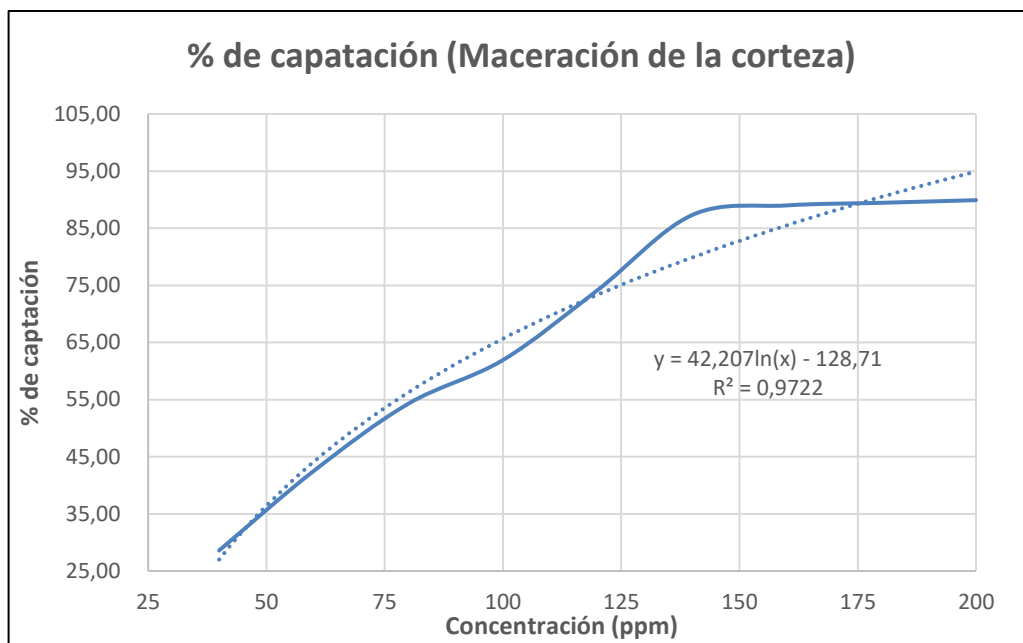
Cepa microbiana	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Candida albicans</i>
Extracto	Gentamicina	Fluconazol (20 mg/ml)
Extracto extracto de acetona por soxhlet (8mg/ml)	45.58%	
Extracto etanólico por soxhlet (6mg/ml)		85,34%
Extracto etanólico por soxhlet (8mg/ml)		95,43%

Tabla 7. Porcentajes de inhibición de los extractos activos de *Erythrina edulis* con respecto a los controles positivos empleados. El porcentaje de inhibición se calculó $dm/dc \cdot 100$; dm: halo de inhibición producido por los extractos; dc: halo de inhibición producido por los controles positivos.

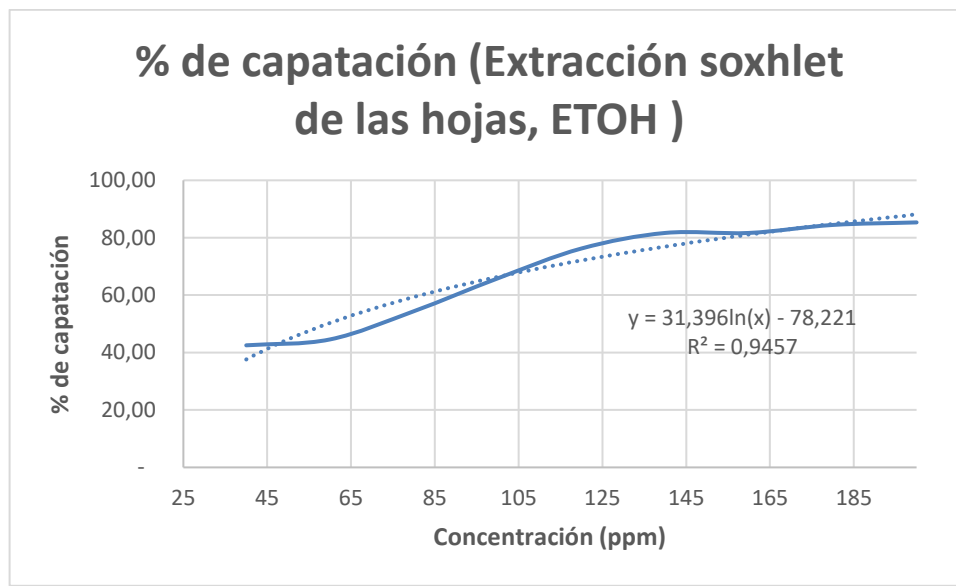
1.5.2. Resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de los diferentes extractos obtenidos a partir de diferentes partes de la especie *Erythrina edulis* (hojas, frutos y corteza) fue evaluada mediante los métodos del DPPH y ABTS. Los extractos se evaluaron a diferentes concentraciones (125, 62,5, 25, 12,5 y 6,25 mg/L). De las curvas de porcentaje de captación vs. concentración (Gráfica 1 y 2), se obtuvieron los valores de IC50 (concentración que es capaz de captar el 50% del radical libre).

En las *tablas 7 y 8* se muestra el resumen de los valores calculados de IC50 por los métodos de DPPH y ABTS, respectivamente.



Gráfica 1. Porcentaje de captación (Maceración de la corteza).



Gráfica 2. Porcentaje de captación (extracción soxhlet de las hojas, ETOH).

DPPH	IC50	AAR con respecto al ácido ascórbico	AAR con respecto a la rutina
DPPH Fruto-maceración	127,32	19,77	16,32
DPPH Corteza-maceración	69,00	10,71	8,84
DPPH Hoja-maceración	156,71	24,33	20,09
DPPH Hoja- Dicloro soxhlet	559,45	86,85	71,71
DPPH Hoja- acetato de etilo- soxhlet	93,66	14,54	12,00
DPPH Hoja- ETOH soxhlet	59,38	9,22	7,61
Ácido ascórbico	6,44	1,00	0,83
Rutina	7,8	1,21	1,00

Tabla 8. Análisis de extractos con DPPH con sus respectivos IC50, AAR con respecto a ácido ascórbico y la rutina. AAR: capacidad antioxidante relativa.

ABTS	IC50	AAR con respecto a ácido ascórbico	AAR con respecto a la rutina	AAR con respecto al trolox
ABTS Fruto-ETOH-maceración	83,9	11,08	1,11	17,90
ATBS Corteza-ETOH-maceración	98,0	12,96	1,30	20,93
ABTS Hoja-ETOH-maceración	109,9	14,52	1,45	23,46
ABTS Hojas-dicloro-soxhlet	87,0	11,49	1,15	18,57
ABTS Hojas-acetato de etilo-soxhlet	127,0	16,79	1,68	27,12
ABTS Hojas-ETOH-soxhlet	111,5	14,74	1,48	23,81
Ácido ascórbico	7,6	1,00	0,10	1,62
Rutina	75,5	9.98	1,00	16,13
Trolox	4,7	0.62	0.06	1,00

Tabla 9. Análisis de extractos con ABTS con sus respectivos IC50, AAR con respecto a ácido ascórbico, rutina y trolox

Los extractos etanólicos de la corteza, obtenido por maceración en frío y de las hojas, obtenido por Soxhlet, mostraron los menores valores de IC50, indicando una capacidad antioxidante de moderada a alta. Por otra parte, los extractos del fruto (maceración) y de las hojas (Soxhlet con acetato de etilo) presentaron valores de IC50 mayores a 100, indicando una capacidad antioxidante de leve a moderada. Los demás extractos no mostraron capacidad antioxidante significativa.

El extracto con mayor capacidad antioxidante (extracto etanólico de las hojas), en comparación con los controles negativos, ácido ascórbico y rutina, presentó una capacidad antioxidante relativa (AAR) de 9,22 y 7,61, respectivamente. Valores cercanos a 1 se traducen como un efecto antioxidante mayor

1.5.3. Resultados pruebas de citotoxicidad

El análisis de la capacidad citotóxica de *Erythrina edulis* T, quedó supeditado al momento de retomar el proceso una vez se permita la movilidad y liberación de confinamiento obligatorio por pandemia del COVID 19.

1.6. ANÁLISIS DEL DESARROLLO DEL PROYECTO

La actividad antimicrobiana de los extractos de *Erythrina edulis* T, los controles positivos y negativos, se evaluó mediante la medición de los halos de inhibición. Los resultados obtenidos con la técnica Kirby-Bauer de difusión en agar con pozos perforados, se encuentran en la *tabla 5 y 6*.

Se observa que el extracto de diclorometano hojas por soxhlet, a una concentración de 8mg/ml, produce los mayores halos de inhibición sobre *Enterococcus faecalis* y el extracto etanólico por soxhlet produjo halos en las 3 réplicas de *Candida albicans* sobre todo en concentraciones de 6 y 8 mg/ml, con mayor inhibición en concentraciones de 8 mg/ml. Por otro lado, se compararon los halos de inhibición de los extractos con la gentamicina y fluconazol ($dm/dc \cdot 100$) obteniendo así el porcentaje de inhibición de los extractos activos de *Erythrina edulis*, es decir, en qué medida los extractos logran tener una inhibición similar a los controles positivos. Se encontró un porcentaje del 95,43% del extracto etanólico por soxhlet de las hojas a una concentración de 6 mg/ml, y 85,34% del mismo extracto en concentraciones de 8 mg/ml.

El fluconazol es un fármaco de síntesis química, que se utiliza en la actualidad para patologías micóticas de alta frecuencia como las vaginosis por cándida o las patologías fúngicas dermatológicas. Los efectos adversos del fluconazol son más notables en niños, que incluye dolor abdominal, vómito; pero en adultos se han encontrado otros como hepatotoxicidad y prolongación del QT (63). Aunque faltan estudios que calculen la DL50 del extracto de *Erthrina edulis* T, para poder comparar su toxicidad con el fluconazol, los resultados anunciados son esperanzadores, ya que podríamos estar refiriendonos a un medicamento con menores efectos adversos y menos costoso que el fluconazol.

No se han realizado estudios sobre la capacidad antimicrobiana de la *Erythina edulis*, pero se han iniciado ensayos antibacteriales y antivirales en diversas especies de este mismo género.

Sato et al (2005), realizaron un estudio cuyo objetivo iba dirigido a hacer un análisis de seis isoflavonas derivadas de *Erythrina poeppigiana* (Leguminosae) y su actividad antibacterial contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Estos compuestos mostraron dos actividades antibacteriales similares,

inhibición directa del crecimiento y la intensificación de la sensibilidad de la bacteria a la meticilina, lo que podría llevar al desarrollo de nuevos antibióticos de origen vegetal (64). *Fahmi et al (2019)*, analizaron la actividad antiviral *invitro* de *Erythrina speciosa* en extracto de metanol, fracciones con resultados positivos contra el herpes virus tipo 1 y hepatitis A (65). *Olusola et al (2012)*, estudiaron la capacidad antimicrobiana *invitro* de los extractos etanólicos de *Erythrina caffra*, contra bacterias causantes de disentería mediante agar de difusión y dilución, dilución *macrobroth*. Sus resultados mostraron que el extracto causó zonas de inhibición entre 15 y 23 mm, siendo bacterias susceptibles a concentraciones entre 100 y 1000 ug/ml. El extracto fue efecto para cultivos de *E. faecalis*. (66)

Por otro lado se encontró que el extracto etanólico de la corteza obtenido por maceración en frío y de hojas obtenido por soxhlet de *Erythrina edulis* T, presentan capacidad antioxidante moderada a alta y los extractos de fruto por maceración en frío y de hojas obtenido por soxhlet con acetato de etilo, presentaron capacidad antioxidante de leve a moderada. Así mismo se encontró que el extracto con mayor capacidad antioxidante fue del extracto etanólico de las hojas comparado con los controles positivos.

Los procesos de óxido-reducción hacen parte del funcionamiento celular normal del ser humano, pero en ocasiones puede generarse un desequilibrio entre las sustancias pro-oxidantes y antioxidantes, que puede ser debido a una proliferación exagerada de radicales libres o a una falla en el sistema antioxidante; lo cual lleva a un estrés oxidativo con efectos deletéreos en la salud del paciente y progresión de enfermedades crónicas como cáncer, diabetes, trastornos neurodegenerativos y cardiovasculares. Por lo que se requiere tener un adecuado sistema antioxidante para evitar sus fallas y tener adecuada respuesta ante un posible estrés oxidativo (67). De aquí radica la importancia de los resultados obtenidos en la capacidad antioxidante de la *Erythrina edulis* T, pues puede significar una luz para el desarrollo de nuevos fármacos antioxidantes de origen vegetal.

Hasta el momento no se han publicado estudios sobre la capacidad antimicrobiana, antioxidante y citotóxica de la hoja y corteza de la *Erythrina edulis* T. Los pocos artículos encontrados, se basan en el análisis del fruto de la planta más que todo sobre su alta composición protéica y consumo del ser humano en diversas regiones.

Intiquilla et al (2016) evaluaron la habilidad de las proteasas microbiológicas para producir péptidos desde la proteína de la semilla de *E. edulis* T, mediante los métodos ABTS y ORAC medir si la influencia del tamaño de la molécula y la

composición de aminoácidos en la actividad antioxidante de los péptidos liberados en el estudio. Se encontró que la semilla de la planta estudiada puede ser utilizada como una alternativa a las llamadas comidas funcionales no solamente por su gran contenido de proteína, sino por sus propiedades biológicas potenciales de sus hidrolizados. *Intiquilla et al*, realizaron un segundo estudio en el 2018, en donde sustentan que las reacciones oxidativas son responsables de los cambios en la calidad durante el procesamiento de alimentos y su almacenamiento. Así mismo, está implicado en múltiples enfermedades crónicas como desordenes cardiovasculares y neurodegenerativos y envejecimiento. Son enfáticos en que los antioxidantes dietarios pueden reducir el daño oxidativo en el cuerpo humano y en los sistemas alimentarios, por lo que evaluaron el potencial de la proteína de *Erythrina edulis* como fuente de péptidos antioxidantes. Los métodos que utilizaron para evaluar la capacidad antioxidante fueron ORAC, ABTS y TEAC. Identificaron 30 péptidos diferentes, de los cuales 10 presentaron capacidad antioxidante in vitro mediante la hidrolización de la proteína con alcalasa (68).

Por otro lado, *Almonacid et al* (2019), evaluaron el pretratamiento en hidrólisis enzimática y la actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y la capacidad antioxidante obtenida por hidrólisis de la proteína de *Erythrina edulis* T. Los resultados de las actividades antioxidantes y antihipertensivas obtenidas in vitro, mostraron un mayor porcentaje de la actividad para los péptidos obtenidos después del pretratamiento con ultrasonido que de aquellos obtenidos sin el uso del ultrasonido antes de la hidrólisis enzimática. Encontraron una relación entre el grado de hidrolisis y la actividad antioxidante in vitro realizada mediante ABTS y DPPH, lo que muestra que a mayor grado de hidrólisis, mayor actividad antioxidante in vitro. Recalcan que sería importante examinar el comportamiento de estos péptidos in vitro y realizar otros estudios biológicos para determinar sus secuencias (69).

Otros autores como *Bedoya et al* (2012) y *Arango et al* (2012) han estudiado la posibilidad de obtener un extracto proteico a partir de la harina de *Erythrina edulis* T, lo que es importante para la eficacia de los procesos de la industria alimentaria, pero no realizan otros estudios biológicos.

Se han realizado estudios de actividad antioxidante en otras especies de *Erythrina* como *Erythrina livingtoniana* (70), *Erythrina suberosa* (71), *Erythrina stricta* (72) y *Erythrina excelsa* (73), en los cuales se obtuvo actividad antioxidante en estas especies.

El análisis de la capacidad citotóxica de *Erythrina edulis* T, quedó supeditado al momento de retomar el proceso una vez se permita la movilidad y liberación de confinamiento obligatorio por pandemia del COVID 19.

1.7 CRONOGRAMA

	Mes																							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Problema	x	x	x	x																				
Pregunta				x	x	x																		
Elaboración de proyecto	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x				
Recolección de datos										x	x	x	x	x	x									
Análisis de datos														x	x	x	x	x	x					
Resultados																	x	x	x	x	x	x		
Comunicación de resultados																						x	x	x

1.8 CONCLUSIONES

Encontramos resultados alentadores en las pruebas antimicrobianas y antioxidantes que se realizaron a los extractos *Erythrina edulis* T. El porcentaje de inhibición del extracto activo muestra una similitud importante del fluconazol con el extracto etanólico por soxhlet de las hojas a concentraciones de 8 mg/ml y 6 mg/ml. Por otro lado, los extractos etanólicos de la corteza obtenido por maceración en frío y de las hojas, obtenido por Soxhlet, mostraron una capacidad antioxidante de moderada a alta y los extractos del fruto (maceración) y de las hojas (Soxhlet con acetato de etilo) presentaron una capacidad antioxidante de leve a moderada comparados con los controles negativos, ácido ascórbico y rutina. Hace falta realizar estudios de toxicidad aguda que permitan establecer los valores de DL50 del extracto de *Erythrina edulis* T, para así comparar su toxicidad con el fluconazol y dar un paso adelante en la investigación para su utilización como fitofármaco. Así mismo, es factible realizar las pruebas con otros microorganismos diferentes a *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. De los resultados de las pruebas citotóxicas podemos concluir como situaciones inesperadas como una pandemia, pueden cambiar nuestros planes y el curso de nuestras vidas.

1.9 RECOMENDACIONES

Es importante continuar nuevas investigaciones con los extractos obtenidos para este estudio y evaluar también su utilidad en otras patologías de interés.

Además, se recomienda adelantar otras investigaciones sobre otros campos de acción sobre una planta que promete tener tantos beneficios sobre la humanidad como los descritos en el marco teórico.

1.9 BIBLIOGRAFÍA

1. Traditional, Complementary and Integrative Medicine [Internet]. [citado 19 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/westernpacific/health-topics/traditional-complementary-and-integrative-medicine>
2. Organization WH. WHO global report on traditional and complementary medicine 2019 [Internet]. World Health Organization; 2019 [citado 19 de abril de 2020]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/312342>
3. Mohr KI. History of Antibiotics Research. En: Stadler M, Dersch P, editores. How to Overcome the Antibiotic Crisis [Internet]? Cham: Springer International Publishing; 2016 [citado 14 de abril de 2020]. p. 237-72. (Current Topics in Microbiology and Immunology; vol. 398). Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/82_2016_499
4. Situación del cáncer en la población adulta atendida en el SGSSS de Colombia, 2018 [Internet]. Cuenta de Alto Costo. [citado 15 de abril de 2020]. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/site/publicaciones/situacion-del-cancer-en-la-poblacion-adulta-atendida-en-el-sgsss-de-colombia/>
5. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2018;68(6):394-424.
6. Día mundial contra el cáncer 2020 [Internet]. Cuenta de Alto Costo. 2020 [citado 15 de abril de 2020]. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/site/cancer/dia-mundial-contra-el-cancer-2020/>
7. Saz-Peiró P, Tehero-Lainez MC. Fitoterapia en la prevención y tratamiento del cancer. Medicina Naturista [Internet]. 2016 Jul [cite 2020 Apr 16]; 10(2):88-99. Disponible en : <https://searcha.ebscohost.com/recursosenlinea.juanncorpas.edu.co:2443/login.aspx?direct=tru&db=awh&AN=117240876&lang=es&site=ehost-live>
8. Chachafruto, poroto, balú (Erythrina edulis) [Internet]. Catalogofloravalleaburra.eia.edu.co. [cited 8 March 2020]. Disponible en: <https://catalogofloravalleaburra.eia.edu.co/species/203>.
9. Barrera N, Mejia M. Chachafruto, balú, sachaporoto, Erythrina edulis, Triana. Presente, pasado y futuro [Internet]. 3rd ed. Palmira, Valle: Universidad Nacional de Colombia; [cited 8 March 2008]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4120/1/Chachafruto%20%20pasado%20%20presente%20y%20futuro.pdf>

10. LABFARVE. Dándole juego al conocimiento tradicional [Internet]. 1st ed. Bogota, Colombia: LABFARVE; [cited 17 April 2020]. Disponible en: https://www.juanncorpas.edu.co/fileadmin/images/03_Caso_labfarve.pdf
11. Escamilo S. El Pajuro (*Erythrina edulis*) alimento andino en extinción [Internet]. 1st ed. Lima, Peru: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012 [cited 10 March 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/332190454_El_Pajuro_Erythrina_edulis_a
12. Inciarte I, Pérez A, Hernández E, Sandoval C, Otalora-Luna F, Márquez M et al. Presencia del chachafruto (*Erythrina edulis* Triana ex Micheli) en el estado Mérida, Venezuela [Internet]. 1st ed. Mérida, Venezuela: Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas; 2015 [cited 10 April 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Fernando_Otalora-Luna/publication/280922003_Presencia_del_chachafruto_Erythrina_edulis_Triana_ex_Micheli_en_el_estado_Merida_Venezuela/links/55cb4f1808aeca747d6be43a/Presencia-del-chachafruto-Erythrina-edulis-Triana-ex-Micheli-en-el-estado-Merida-Venezuela.pdf
13. Lima L. ESTRÉS OXIDATIVO Y ANTIOXIDANTES: Actualidades sobre los antioxidantes en los alimentos [Internet]. 1st ed. Habana, Cuba: Centro Nacional de Medicina Natural y Tradicional; [cited 16 April 2020]. Disponible: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/estres_oxidativo_y_antioxidantes.pdf
14. Coronado M, Vega S, Gutierrez R, Vazquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana [Internet]. 1st ed. Mexico: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco; 2015 [cited 16 April 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>

15. Herbario Universidad de Antioquia. Chachafruto - *Erythrina edulis* Triana ex Micheli. |: Banco de Objetos de Aprendizaje y de Información: [Internet]. Aprendeonline.udea.edu.co. 2008 [cited 8 March 2020]. Disponible en: <http://aprendeonline.udea.edu.co/ova/?q=node/515>
16. Situación del cáncer en la población adulta atendida en el SGSSS de Colombia, 2018 [Internet]. Cuenta de Alto Costo. [citado 15 de abril de 2020]. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/site/publicaciones/situacion-del-cancer-en-la-poblacion-adulta-atendida-en-el-sgsss-de-colombia/>
17. Mohr KI. History of Antibiotics Research. En: Stadler M, Dersch P, editores. How to Overcome the Antibiotic Crisis [Internet]? Cham: Springer International Publishing; 2016 [citado 14 de abril de 2020]. p. 237-72. (Current Topics in Microbiology and Immunology; vol. 398). Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/82_2016_499
18. Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor Cell Metabolism: Cancer's Achilles' Heel. *Cancer Cell*. junio de 2008;13(6):472-82.
19. Barrera N. El Chachafruto, *Erythrina edulis*. Cuaderno de educación ambiental [Internet]. 1st ed. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 1998 [cited 8 March 2020]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4913/2/Arbol%20de%20chachafruto.pdf>
20. Fern K. *Erythrina edulis* - Useful Tropical Plants [Internet]. Tropical.theferns.info. 2020 [cited 31 March 2020]. Disponible en: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Erythrina+edulis>
21. Barrera N. El Chachafruto, *Erythrina edulis*. Cuaderno de educación ambiental [Internet]. 1st ed. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 1998 [cited 8 March 2020]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4913/2/Arbol%20de%20chachafruto.pdf>
22. Arango O, Bolaños V, Ricaurte D, Caicedo M, Guerrero Y. Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*) [Internet]. 1st ed. Nariño, Colombia: Revista Universidad y Salud, Universidad de Nariño; 2012 [cited 8 March 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-71072012000200006
23. Mejía M, Jaramillo A, Barrera N. ESTUDIOS PRELIMINARES SOBRE DESARROLLO Y MANEJO DE LA SEMILLA DE CHACHAFRUTO, *Erythrina*

- edulis T. [Internet]. 1st ed. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 1993 [cited 10 April 2020]. Disponible en: https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/15536/16293
24. Escamilo S. El Pajuro (*Erythrina edulis*) alimento andino en extinción [Internet]. 1st ed. Lima, Peru: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012 [cited 10 March 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/332190454_El_Pajuro_Erythrina_edulis_a
25. Barrera N, Mejia M. Chachafruto, balú, sachaporoto, *Erythrina edulis*, Triana. Presente, pasado y futuro [Internet]. 3rd ed. Palmira, Valle: Universidad Nacional de Colombia; [cited 8 March 2008]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4120/1/Chachafruto%2C%20pasado%2C%20presente%20y%20futuro.pdf>
26. Barrera N. El Chachafruto, *Erythrina edulis*. Cuaderno de educación ambiental [Internet]. 1st ed. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 1998 [cited 8 March 2020]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4913/2/Arbol%20de%20chachafruto.pdf>
27. Barrera N, Mejia M. Chachafruto, balú, sachaporoto, *Erythrina edulis*, Triana. Presente, pasado y futuro [Internet]. 3rd ed. Palmira, Valle: Universidad Nacional de Colombia; [cited 8 March 2008]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4120/1/Chachafruto%2C%20pasado%2C%20presente%20y%20futuro.pdf>
28. Espinoza G. Análisis químico proximal de granos y harina de “Pajuro” (*Erythrina edulis*) y elaboración de una bebida proteica con sabor a chocolate [Internet]. 1st ed. Lima, Peru: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2018 [cited 10 April 2020]. Disponible en: http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/3764/Analisis_EspinozaCordova_Gaby.pdf?sequence=1&isAllowed=y
29. Escamilo S. El Pajuro (*Erythrina edulis*) alimento andino en extinción [Internet]. 1st ed. Lima, Peru: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012 [cited 10 March 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/332190454_El_Pajuro_Erythrina_edulis_a
30. Villafuerte F, Perez E, Mahfou A, Valero Y, Enriquez M, Yanez K et al. CHARACTERIZATION OF ERYTHRINA EDULIS TRIANA AND OBTAINING PROTEIN ISOLATE. 1st ed. 2018.

31. Barrera N, Mejia M. Chachafruto, balú, sachaporoto, *Erythrina edulis*, Triana. Presente, pasado y futuro [Internet]. 3rd ed. Palmira, Valle: Universidad Nacional de Colombia; [cited 8 March 2008]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4120/1/Chachafruto%2C%20pasado%2C%20presente%20y%20futuro.pdf>
32. Escamilo S. El Pajuro (*Erythrina edulis*) alimento andino en extinción [Internet]. 1st ed. Lima, Peru: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012 [cited 10 March 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/332190454_El_Pajuro_Erythrina_edulis_a
33. Inquilla A, Zavaleta A, Jimenez K, Hernandez B. *Erythrina edulis* (Pajuro) Seed Protein: A New Source of Antioxidant Peptides. 1st ed. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
34. Villafuerte F, Perez E, Mahfou A, Valero Y, Enriquez M, Yanez K et al. CHARACTERIZATION OF ERYTHRINA EDULIS TRIANA AND OBTAINING PROTEIN ISOLATE. 1st ed. 2018.
35. Montaña arias, N., Sandoval Pérez, A., Camargo recalc, S. and Sánchez Yáñez, J., 2010. Los microorganismos: pequeños gigantes. *Elementos: Ciencia y cultura*, [online] (Vol. 17, Núm. 77), pp.15-23. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/294/29411989003.pdf> [Accessed 17 April 2020].
36. Mohr KI. History of Antibiotics Research. En: Stadler M, Dersch P, editores. How to Overcome the Antibiotic Crisis [Internet]? Cham: Springer International Publishing; 2016 [citado 14 de abril de 2020]. p. 237-72. (Current Topics in Microbiology and Immunology; vol. 398). Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/82_2016_499
37. Aminov RI. A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future. *Front Microbiol* [Internet]. 8 de diciembre de 2010 [citado 14 de abril de 2020];1. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3109405/>
38. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad [Internet]. [citado 14 de abril de 2020]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032010000200006
39. Ortega Gonzalez ,Lilia Maria, *Enterococos: actualización*. Revista Habanera de Ciencias Médicas (Internet) 2010;9(4):507-515 Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180418874010>
40. Daniel DS, Lee SM, Gan HM, Dykes GA, Rahman S. Genetic diversity of *Enterococcus faecalis* isolated from environmental, animal and clinical

- sources in Malaysia. *J Infect Public Health*. 2017;10(5):617–623. doi: 10.1016/j.jiph.2017.02.006
41. Rodríguez CH, García S, Barberis C, Saposnik E, Weyland B, Nastro M, et al. Enterococcus spp.: Resistencia antimicrobiana en infecciones intrahospitalarias. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 2013;47(1):155-60.
 42. Ortega Gonzalez ,Lilia Maria, *Enterococos: actualización*. Revista Habanera de Ciencias Médicas (Internet) 2010;9(4):507-515 Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180418874010>
 43. Brown GD, Denning DW, Gow NAR, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Science Transnational Medicine*. 19 de diciembre de 2012;4(165):165rv13-165rv13.
 44. Universidad Nacional de Chimborazo, Cruz Quintana S, Díaz Sjostrom P, Universidad Técnica de Ambato, Mazón Baldeón G, Universidad Nacional de Chimborazo, et al. Genome of *Candida albicans* and drug resistance. *sun*. 15 de septiembre de 2017;33(3):438-50.
 45. Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annu Rev Microbiol*. 2015; 69:71-92.
 46. Coronado M, Vega S, Gutierrez R, Vazquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana [Internet]. 1st ed. Mexico: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco; 2015 [cited 16 April 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
 47. Inquilla A, Zavaleta A, Jimenez K, Hernandez B. *Erythrina edulis* (Pajuro) Seed Protein: A New Source of Antioxidant Peptides. 1st ed. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
 48. VILAPLANA M. Antioxidantes presentes en los alimentos Vitaminas, minerales y suplementos [Internet]. 1st ed. 2007 [cited 16 April 2020]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-antioxidantes-presentes-los-alimentos-vitaminas-13112893>
 49. Lima L. ESTRÉS OXIDATIVO Y ANTIOXIDANTES: Actualidades sobre los antioxidantes en los alimentos [Internet]. 1st ed. Habana, Cuba: Centro Nacional de Medicina Natural y Tradicional; [cited 16 April 2020]. Disponible: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/estres_oxidativo_y_antioxidant_es.pdf
 50. Valencia E, Marín A. Balance Redox (oxidantes/antioxidantes) en pacientes críticamente enfermo [Internet]. 1st ed. 2003 [cited 16 April 2020]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195118159006>

51. Vallejo-Zamudio E, Rojas-Velázquez A, Torres-Bugarín O. Una poderosa herramienta en la medicina preventiva del cáncer: los antioxidantes [Internet]. 1st ed. Guadalajara; 2017 [cited 16 April 2020]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2017/rr173d.pdf>
52. VILAPLANA M. Antioxidantes presentes en los alimentos Vitaminas, minerales y suplementos [Internet]. 1st ed. 2007 [cited 16 April 2020]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-antioxidantes-presentes-los-alimentos-vitaminas-13112893>
53. Zapata L, Gerard L, Davies C, del C. Schvab M. Estudio de los componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomate [Internet]. 1st ed. 2007 [cited 16 April 2020]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14503507>
54. Valencia E, Marín A. Balance Redox (oxidantes/antioxidantes) en pacientes críticamente enfermo [Internet]. 1st ed. 2003 [cited 16 April 2020]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195118159006>
55. Inquilla A, Zavaleta A, Jimenez K, Hernandez B. Erythrina edulis (Pajuro) Seed Protein: A New Source of Antioxidant Peptides. 1st ed. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
56. Espinoza G. Análisis químico proximal de granos y harina de “Pajuro” (Erythrina edulis) y elaboración de una bebida proteica con sabor a chocolate [Internet]. 1st ed. Lima, Peru: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2018 [cited 10 April 2020]. Disponible en: http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/3764/Analisis_EspinozaCordova_Gaby.pdf?sequence=1&isAllowed=y
57. Situación del cáncer en la población adulta atendida en el SGSSS de Colombia, 2018 [Internet]. Cuenta de Alto Costo. [citado 15 de abril de 2020]. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/site/publicaciones/situacion-del-cancer-en-la-poblacion-adulta-atendida-en-el-sgsss-de-colombia/>
58. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2018;68(6):394-424.
59. Día mundial contra el cáncer 2020 [Internet]. Cuenta de Alto Costo. 2020 [citado 15 de abril de 2020]. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/site/cancer/dia-mundial-contra-el-cancer-2020/>
60. Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor Cell Metabolism: Cancer's Achilles' Heel. Cancer Cell. junio de 2008;13(6):472-82.

61. Principios del tratamiento del cáncer | Harrison. Principios de Medicina Interna, 20e | AccessMedicina | McGraw-Hill Medical [Internet]. [citado 16 de abril de 2020]. Disponible en: <https://accessmedicina-mhmedical-com.recursosenlinea.juanncorpas.edu.co:2443/content.aspx?sectionid=203643912&bookid=2461&Resultclick=2#1161977373>
62. Saz-Peiró P, Tehero-Lainez MC. Fitoterapia en la prevención y tratamiento del cancer. Medicina Naturista [Internt]. 2016 Jul [cite 2020 Apr 16]; 10(2):88-99. Disponible en : <https://searcha.ebscohost.com.recursosenlinea.juanncorpas.edu.co:2443/login.aspx?direct=tru&db=awh&AN=117240876&lang=es&site=ehost-live>
63. Govindarajan A, Bistas KG, Aboeed A. Fluconazole. [Updated 2020 Apr 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-.
64. Sato M, Tanaka H, Tani N, Nagayama M, Yamaguchi R. Different antibacterial actions of isoflavones isolated from *Erythrina poeppigiana* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lett Appl Microbiol. 2006;43(3):243-248.
65. Fahmy NM, Al-Sayed E, Moghannem S, Azam F, El-Shazly M, Singab AN. Breaking Down the Barriers to a Natural Antiviral Agent: Antiviral Activity and Molecular Docking of *Erythrina speciosa* Extract, Fractions, and the Major Compound. Chem Biodivers. 2020;17(2):e1900511.
66. Olajuyigbe OO, Afolayan AJ. In vitro antibacterial and time-kill evaluation of the *Erythrina caffra* Thunb. extract against bacteria associated with diarrhoea. ScientificWorldJournal. 2012;2012:738314.
67. Inquilla A, Zavaleta A, Jimenez K, Hernandez B. *Erythrina edulis* (Pajuro) Seed Protein: A New Source of Antioxidant Peptides. 1st ed. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
68. Intiquilla A, Jiménez-Aliaga K, Zavaleta AI, et al. *Erythrina edulis* (Pajuro) Seed Protein: A New Source of Antioxidant Peptides. Nat Prod Commun. 2016;11(6):781-786.
69. Intiquilla A, Jiménez-Aliaga K, Guzmán F, et al. Novel antioxidant peptides obtained by alcalase hydrolysis of *Erythrina edulis* (pajuro) protein. J Sci Food Agric. 2019;99(5):2420-2427.
70. Akter K, Barnes EC, Loa-Kum-Cheung WL, Yin P, Kichu M, Brophy JJ, et al. Antimicrobial and antioxidant activity and chemical characterisation of *Erythrina stricta* Roxb. (Fabaceae). J Ethnopharmacol. 5 de junio de 2016;185:171-81.

71. Bedane KG, Kusari S, Eckelmann D, Masesane IB, Spiteller M, Majinda RRT. Erylivingstone A–C with antioxidant and antibacterial activities from *Erythrina livingstoniana*. *Fitoterapia*. 1 de septiembre de 2015;105:113-8
72. Mohanta YK, Panda SK, Jayabalan R, Sharma N, Bastia AK, Mohanta TK. Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activity of Silver Nanoparticles Synthesized by Leaf Extract of *Erythrina suberosa* (Roxb.). *Front Mol Biosci* [Internet]. 2017 [citado 7 de mayo de 2020];4.
73. Gbaweng AJY, Daïrou H, Zingué S, Emmanuel T, Tchinda AT, Frédéric M, Mbafor JT. Excelsanone, a new isoflavonoid from *Erythrina excelsa* (Fabaceae), with in vitro antioxidant and in vitro cytotoxic effects on prostate cancer cells lines. *Nat Prod Res*. 2020 Mar;34(5):659-667.

ANEXOS



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

SEDE BOGOTÁ
FACULTAD DE CIENCIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES
HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)

COL - 47
Bogotá D.C., 8 de julio de 2019

Señores
MARIA CAMILA VESGA MANRIQUE
Ciudad

Asunto: Identificación Taxonómica.

Cordial Saludo,

Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de la(s) muestra(s) botánica(s):

☒ Nombre: *Erythrina edulis* Triana ex Michel
☒ Familia: FABACEAE
☒ No. COL: 611062
☒ Colector: María Camila Vesga
No. Colecta: 1
Determinó: M.S. Jaime Uribe 2019

Permiso de recolecta / Permiso de Investigación: No aplica. Planta cultivada.

Esta certificación no es válida para trámites ante el INVIMA o el ICA. El (Los) pliego(s) herbario(s) quedará(n) como muestra permanente en nuestro herbario.

Prof. JAIME URIBE MELÉNDEZ
Administrador General
Herbario Nacional Colombiano -COL
Universidad Nacional de Colombia
E-mail: herbacol_fcbog@unal.edu.co

Formulario COL - 47

Carrera 30 No. 45-03, INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES,
"HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)" Edificio 425- 2º piso, Oficina 222
Carrizal: (57-1) 516 5800 Ext. 11538 - 11518 Fax: 11538
Correo electrónico: herbacol_fcbog@unal.edu.co
Bogotá, Colombia, Sur América