

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de extractos fluidos de *Dichrostachys cinerea* L. (marabú) frente a *Candida albicans*

In vitro evaluation of the antifungal activity of fluid extracts of *Dichrostachys cinerea* L. (marabou) against *Candida albicans*

Dianelys Busquets-Carballo^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-6525-4720>

María del Carmen Galdós-Sánchez² <https://orcid.org/0000-0001-6452-1524>

Nayivis de la Fuente-Fernández³ <https://orcid.org/0009-0006-5401-7379>

María del Carmen Sospedra-Blanco¹ <https://orcid.org/0000-0001-6099-8536>

Yanet García-Fonte¹ <https://orcid.org/0000-0001-9869-1417>

¹ Universidad de Ciencias Médicas. Facultad de Estomatología. Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas. Camagüey, Cuba.

² Universidad de Ciencias Médicas. Centro de Inmunología y Productos Biológicos. Camagüey, Cuba.

³ Universidad de Ciencias Médicas. Hospital Materno Provincial Ana Betancourt de Mora. Departamento de Laboratorio de Microbiología. Camagüey, Cuba.

*Autor para la correspondencia: bcdianelys.cmw@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La *Dichrostachys cinerea* L. (marabú) es una planta que crece en Cuba, de la que se estudian propiedades medicinales. La resistencia de levaduras del género *Candida* a los antifúngicos sintéticos disponibles en la actualidad es cada vez mayor, por lo que se buscan nuevos compuestos de origen vegetal que puedan ser eficaces en el tratamiento de infecciones causadas por este germen.

Objetivo: Evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de *Dichrostachys cinerea* L. contra una cepa de *Candida albicans*.

Métodos: Se realizó un estudio observacional analítico transversal *in vitro* para evaluar la actividad antifúngica de extractos fluidos de hojas y de tallos de *D. cinerea* L mediante el método de de macrodilución en caldo y como sustancia de referencia el alcohol.

Resultados: A través del proceso se mostró la actividad antifúngica del extracto fluido de tallos de *D. cinerea* L. al 50 % hasta la dilución 1/32, determinada como la concentración mínima inhibitoria; el extracto fluido de hojas al 30 % no logró inhibir el crecimiento de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

Conclusiones: La actividad antifúngica del extracto fluido al 50 % de las hojas de *Dichrostachys cinerea* L. fue efectiva, no así el preparado farmacéutico al 30 %. Se determinó la concentración mínima inhibitoria del extracto fluido de hojas al 50 % y se demostró que ésta superó a la del alcohol al 50 % en tres diluciones contra la *Candida albicans*.

DeCS: TÉCNICAS IN VITRO; ENSAYO CLÍNICO; EXTRACTOS VEGETALES; ANTIFÚNGICOS; CANDIDA ALBICANS.

ABSTRACT

Introduction: *Dichrostachys cinerea* L. (marabou) is a plant that grows in Cuba, medicinal properties of this plant are being studied. The resistance of yeasts of the *Candida* genus to current available synthetic antifungals is increasingly greater. This is why, new compounds of plant origin are being searched for the effective treatment of infections caused by this germ.

Objective: To evaluate the in vitro antifungal activity of *Dichrostachys cinerea* L against a strain of *Candida albicans*.

Methods: An in vitro a cross-sectional analytic observational study was carried out to evaluate the antifungal activity of fluid extracts of *D. cinerea* L leaves and stems using the broth macro-dilution method and alcohol as the reference substance.

Results: Through the process was shown the antifungal activity of the fluid extract of *Dichrostachys cinerea* L. stems at 50% up to the 1/32 dilution; it was determined as the minimum inhibitory concentration. The leaves fluid extract at 30% failed to inhibit the growth of the *Candida albicans* ATCC 10231 strain.

Conclusions: The antifungal activity of the fluid extract at 50% of the leaves was effective, but not the pharmaceutical preparation at 30%. The minimum inhibitory concentration of the fluid extract of leaves at 50% was determined and it was shown that it exceeded that of alcohol at 50% in three dilutions against *Candida albicans*.

DeCS: IN VITRO TECHNIQUES; CLINICAL TRIAL; PLANT EXTRACTS; ANTIFUNGAL AGENTS; CANDIDA ALBICANS.

Recibido: 02/11/2023

<http://revistaamc.sld.cu/>



INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, las infecciones fúngicas han tenido un comportamiento creciente en frecuencia y gravedad, relacionado a varios factores: epidemia por el *virus de inmunodeficiencia humana* (VIH), creciente uso de antineoplásicos, inmunosupresores, aumento de trasplantes, enfermedades autoinmunes y desnutrición, entre otros factores de riesgo.⁽¹⁾ Los datos aportados por *Global Action Fund for Fungal Infections* y por otros expertos en el tema, coinciden en señalar que cada año cerca de 26 millones de personas padecen infecciones fúngicas en el mundo y más de 1,6 millones mueren cada año. Más del 50 % de estas infecciones micóticas se deben al género *Candida*, en especial a *Candida albicans*, considerada como la más patogénica del grupo.^(2,3)

La *Candida albicans* forma parte de la flora normal de la mucosa oral, tracto gastrointestinal y urogenital de los seres humanos, se considera un germen oportunista, solo en determinadas circunstancias se torna patógeno. Los antimicóticos o antifúngicos son fármacos encargados de combatir las infecciones producidas por hongos, pero, en las últimas décadas estos beneficios se han visto amenazados ante su toxicidad, marcada por la aparición de frecuentes efectos adversos, que obligan a discontinuar los tratamientos.^(4,5)

La resistencia antimicrobiana en general, es uno de los mayores retos a los que se enfrenta la comunidad científica y los hongos no escapan de desarrollarla, el empleo de plantas con fines medicinales constituye una alternativa viable. Se aprecia una clara tendencia a la sustitución de medicamentos sintéticos por fitofármacos, cuyo origen natural inspira una cierta seguridad, ante los frecuentes efectos adversos de muchos fármacos.^(6,7) En la actualidad la utilización de productos obtenidos de plantas en la terapéutica mundial se encuentra en una etapa de evidente expansión, tanto las sustancias puras, como los principios activos aislados y purificados de plantas medicinales.⁽⁸⁾ Los objetivos fundamentales de estas investigaciones con plantas medicinales están encaminados a la identificación de moléculas activas con actividad farmacológica, al descubrimiento de nuevas aplicaciones terapéuticas, para así crear nuevas formulaciones que podrían convertirse en medicamentos por procesos de síntesis o por la validación de su uso etnofarmacológico.⁽⁹⁾

En Cuba el uso de las plantas medicinales ha sido siempre un hecho común, pero en los últimos años se reconoce que adquiere una relevancia fundamental, el verdadero trabajo de rescate de la medicina tradicional comienza en el país, con el surgimiento en 1986 del Programa Nacional para el Desarrollo y Generalización de la Medicina Tradicional y Natural (MTN), que busca estudiar las plantas medicinales más utilizadas por la población y evaluar con métodos científicos novedosos sus efectos farmacológicos y tóxicos.^(10,11)

La *Dichrostachys cinerea L.*, planta común distribuida en el mundo, el país y en la provincia Camagüey, puede ser una opción viable; pertenece a la familia de las *Fabáceas*, vive en varios continentes, muy especial en África. En Cuba existe esta sola subespecie y se le conoce por lo general con el nombre de marabú.⁽⁹⁾

Es considerada como la más importante entre las plantas invasoras e indeseables, se le atribuyen propiedades antiparasitarias, diuréticas, antiinflamatorias, antiasmáticas e hipoglucemiantes, por lo que ha sido empleada de forma empírica en el tratamiento de todos estos problemas, sin reportes de toxicidad.⁽¹²⁾ También en el tratamiento de algunas enfermedades infecciosas, como paludismo, lepra, elefantiasis, infecciones por *Tripanosoma brucei* y otras de transmisión sexual, como sífilis y blenorragia.^(13,14) Los estudios fitoquímicos realizados, muestran componentes a los que se le atribuyen propiedades antimicóticas, tales como saponinas, alcaloides, cumarinas y taninos.^(6,13)

Aunque varias investigaciones se han enfocado en comprobar las aplicaciones de la planta, su uso en el campo de la microbiología y de las enfermedades infecciosas, se reconoce como poco estudiado, especialmente en todo lo relacionado a las enfermedades producidas por hongos. Es por eso que se proyecta buscar evidencias científicas que permitan corroborar estas acciones, sobre todo en el género de la *Candida albicans*, uno de los que con mayor frecuencia causa infecciones fúngicas y desarrolla resistencia. El objetivo de la investigación es evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos fluidos de tallos y hojas de *Dichrostachys cinerea L.* (marabú) frente a una cepa ATCC de *Candida albicans*.

MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional analítico transversal *in vitro*, desarrollado en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Materno Ana Betancourt de Mora, con el apoyo científico técnico del Centro de Inmunología y Productos Biológicos (CENIPBI) de la Universidad de Ciencias Médicas de la provincia Camagüey. Se utilizó el método de macrodilución en caldo.^(14,15)

Para la elaboración de las formas farmacéuticas se recolectaron plantas adultas, en horas tempranas de la mañana, en los meses de junio y julio en la ciudad de Camagüey. Una muestra del material colectado se llevó al Herbario de la Academia de Ciencias de la provincia Camagüey (HACC), perteneciente al Centro de Investigaciones del Medio Ambiente, para su identificación taxonómica: como *Dichrostachys cinerea L.* Se emitió un documento que indica el número de inscripción de la planta (11 596).

Los tallos y hojas, se colocaron por separado en bolsas de polietileno y se llevaron al laboratorio del Centro de Producción Local de Medicina Verde de la provincia Camagüey (CPLMV), donde fueron lavadas con agua corriente y con agua clorada diluida al 0,1 %, para eliminar impurezas, se secaron a

temperatura ambiente y a la sombra, durante 15 días, para su posterior fraccionamiento. La masa vegetal cruda fue sometida a un control de la calidad basado en las normas ramales establecidas en Cuba. La preparación del extracto fluido de las hojas al 30 % y el extracto fluido de los tallos al 50 %, se realizó mediante proceso tecnológico de reperlación, según normas cubanas.^(16,17)

Para el control de la calidad de las formas farmacéuticas, se evaluaron los parámetros establecidos: pH, índice de refracción, densidad relativa y sólidos totales.⁽¹⁵⁾ Procedimiento que fue realizado en el laboratorio del CPLMV y se emitió el documento correspondiente.

Para control de esterilidad las formas farmacéuticas se sembraron en agar y caldo Mueller Hinton, en busca de bacterias y agar y caldo Sabouraud, para hongos.

Como sustancia de referencia para comparar la actividad antifúngica de las formas farmacéuticas estudiadas se seleccionó el alcohol (etanol al 30 % y 50 %) y fue preparado con agua bidestilada estéril, con conductividad < de 1, y el pH: 7, comprobando con un alcoholímetro.

En el control de calidad de los medios de cultivo, se utilizaron cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 para el agar y caldo Mueller Hinton y *Candida albicans* ATCC 10231 para el agar y caldo Sabouraud. Se realizó control positivo y negativo de ambos medios de cultivo, para verificar la viabilidad de la cepa y su capacidad de reproducirse.

Se analizó una muestra de 1 mL de cada medio de cultivo, se incubó a la temperatura y tiempo establecido y luego de efectuada la resiembra no hubo crecimiento de microorganismos, indicó que los tubos y el medio de cultivo utilizados en el proceso estaban estériles, como garantía de que no hubo contaminación externa.

Para determinar la actividad antifúngica de las formas farmacéuticas se elaboraron diluciones de trabajo de cada una de ellas, igualmente con el alcohol, este último sirvió como referencia para comparar la actividad antifúngica observada y establecer que la actividad detectada fuese atribuible solo a las formas farmacéuticas analizadas y no al alcohol.

Para las diluciones del alcohol al 30 % y 50 % se empleó agua bidestilada estéril, se realizaron siete diluciones dobles seriadas (1/2 hasta 1/128) y se incluyó un tubo con la sustancia sin diluir.

Para la preparación de las diluciones de las formas farmacéuticas en estudio de *D. cinerea* L, la técnica utilizada fue la misma señalada para el alcohol.⁽¹⁴⁾

La cepa de *Candida albicans* para el inóculo fue resembrada en caldo Sabouraud e incubada a temperatura ambiente de 24 a 72 horas. Luego fue resembrada en placas de Petri con agar Sabouraud, incubadas de igual forma y al cultivo obtenido se le realizó coloración de Gram, para constatar pureza y por último, se preparó una suspensión en caldo MH, se incubó a temperatura ambiente, entre 2 y 4 horas hasta lograr una turbidez al 0,5 Mc Farland equivalente a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colonias por mL, (UFC/mL).

La suspensión obtenida fue inoculada a las sustancias en estudio, se incubó a temperatura ambiente por 24 a 72 horas, se resembró en agar Sabouraud, se incubó por igual tiempo y se procedió a evaluar el crecimiento. Donde se obtuvo crecimiento, se verificó que coincidiera con la cepa inoculada, constatando la morfología y pureza. La evaluación de la actividad antifúngica se realizó mediante el crecimiento o inhibición del hongo en la placa, las lecturas fueron realizadas a las 24, 48 y 72 horas de haberse realizado la resiembra.

La actividad antifúngica del producto en estudio se considera positiva, cuando logra inhibir el crecimiento de la cepa, al superar en dos diluciones o más a la mostrada por el alcohol. La información fue recogida por el autor en una ficha de recolección de datos, confeccionado con los parámetros establecidos para ese fin. La información fue procesada mediante el paquete estadístico SPSS versión 26.0, aplicando la estadística descriptiva y como medida de resumen se utilizó la frecuencia absoluta. Para establecer la comparación entre la sustancia en estudio y el control, en este caso el alcohol, se empleó la prueba no paramétrica de Ji cuadrado de independencia donde se trabajó con una confiabilidad del 95 %.

RESULTADOS

La actividad inhibitoria del extracto fluido al 50 % de tallos de *D. cinerea L*, en las diluciones y réplicas realizadas, mostró actividad antifúngica. Se observó que el preparado inhibió el crecimiento de la *Candida albicans*, en su forma sin diluir y mantuvo esta actividad hasta la dilución 1/32, determinada como la concentración mínima inhibitoria (CMI) de este producto (Tabla 1).

Tabla 1 Comparación de la actividad inhibitoria del extracto de tallos al 50 % y del alcohol al 50 % en las réplicas realizadas

Diluciones	Extracto fluido de tallos 50 %						Alcohol 50 %					
	E	R1	R2	R3	R4	R5	E	R1	R2	R3	R4	R5
Sin diluir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1: 8*	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
1: 16*	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
1: 32*	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
1: 64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1: 128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Leyenda:

E: Experimento

R: Réplicas

(+) = Presencia de actividad antifúngica

(-) = No hubo inhibición del crecimiento de la cepa en estudio

*p≤0,005

No se demostró actividad inhibitoria del extracto fluido al 30 % de hojas de *D. cinerea L*, ante la *Candida albicans* en ninguna de las diluciones, ni aun en su forma sin diluir, observaciones que se repitieron en las cinco réplicas del experimento.

La actividad inhibitoria del alcohol fue estudiada. En el caso del alcohol al 30 % solo en su forma sin diluir y en la 1/2, siendo esta última su CMI, mientras que el alcohol al 50 %, logró inhibir la cepa de *Candida albicans*, hasta la dilución 1/4, considerada su CMI.

El gráfico 1 muestra la CMI del alcohol, de 1/4, mientras que la del producto en estudio fue de 1/32. Por lo que la actividad del producto fue efectiva, logró superar en tres diluciones la presentada por el alcohol (Figura 1).

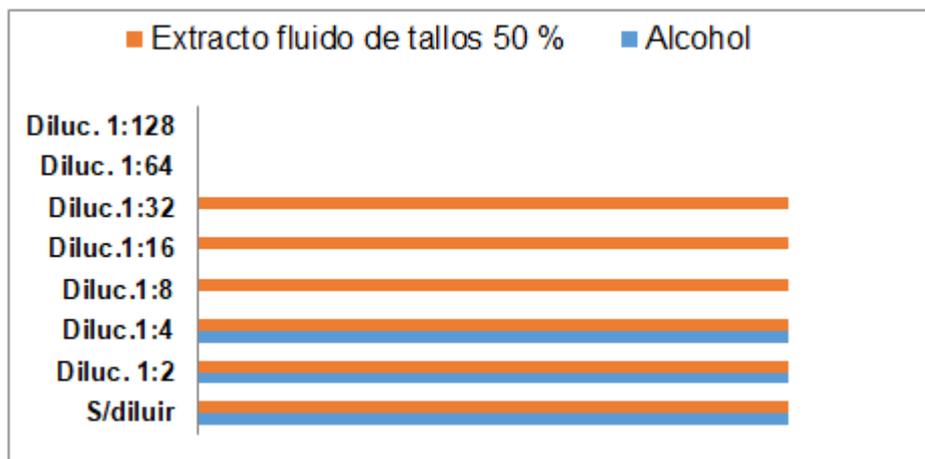


Figura 1 Actividad antifúngica efectiva del extracto fluido de tallos 50 %.

DISCUSIÓN

La planta *D. cinerea L*. ha sido investigada en diversas situaciones, pero no se hallaron estudios anteriores que describan o analicen sus posibles acciones sobre especies de hongos, aunque las propiedades de sus metabolitos activos son prometedores en este sentido.

En la investigación, solo el extracto fluido de tallos al 50 % logró inhibir el crecimiento de la cepa de *Candida albicans* estudiada, la CMI del producto fue de 1/32, lo que implica un posible uso terapéutico en estas afecciones, pero se necesita avanzar en su estudio. Estas observaciones apoyan el uso de este producto en la práctica frente a infecciones por *Candida albicans*, sobre todo como alternativa en situaciones de resistencia a la terapéutica convencional e incluso, como primera elección en algunas situaciones clínicas, como es el caso de la existencia de contraindicaciones a las terapias habituales.

También pudiera valorarse un uso combinado para potenciar las acciones. Todo esto avalado por un ensayo clínico previo en seres humanos, donde queden demostrados sus efectos beneficiosos y su seguridad.^(15,16,17)

En el extracto de hojas al 30 %, no se observó inhibición del crecimiento, no se rechaza la posibilidad de posteriores estudios con preparados más concentrados. Un estudio realizado en Cuba, por Rodés

et al.,⁽⁶⁾ señala que los principales metabolitos hallados en extractos alcohólicos de cortezas y raíces, son cumarinas y carbohidratos reductores, otros estudios internacionales,^(18,19,20) señalan la actividad antimicrobiana de ambos principios activos. Llama la atención en el realizado por Rodés et al.,⁽⁶⁾ la ausencia de saponinas en el extracto alcohólico de ambas partes de la planta y el hallazgo de alcaloides solo en la raíz. La presencia de saponinas en extractos de la corteza y no en la raíz, pudiera justificar que solo la corteza se emplea para el tratamiento de la elefantiasis y los dolores de cabeza.⁽²¹⁾

La investigación de Neondo et al.,⁽²²⁾ sobre la planta *Dichrostachys cinerea*, a diferencia del estudio de Bolleddu et al.,⁽¹⁹⁾ sí detecta saponinas en la corteza de la planta. Armas,⁽⁹⁾ demostró la presencia de saponinas en todos los extractos estudiados, señala que el extracto metanólico de hojas presenta además taninos, triterpenos y aminoácidos, en igual proporción en hojas y corteza. Los flavonoides, cumarinas y carbohidratos también están presentes en cantidades similares en ambas, pero en una menor proporción que los anteriores componentes.

Por su parte el estudio de Kweyamba et al.,⁽²³⁾ se enfoca en evaluar la acción antibacteriana de taninos aislados de la planta *Dichrostachys cinerea*, el mismo indica un aumento de esta acción, antibacteriana con el aumento de la concentración de los taninos obtenidos, donde la CMI, estuvo en rangos de 4 y 5,5 mg/mL. Otra investigación realizada por Hernández,⁽¹³⁾ muestra que los flavonoides que contiene la planta exhiben sus acciones antibacterianas a través de los efectos sobre la permeabilidad de la membrana y por la inhibición de enzimas unidas a la membrana como la ATPasa y la fosfolipasa A₂ y esta propiedad puede explicar también los mecanismos de acción antioxidante.

La composición fitoquímica de la planta *Dichrostachys cinerea* L. respalda muchos de los usos en los que esta se emplea, pero es necesario profundizar en la caracterización de la planta, así como desarrollar estudios de seguridad, para establecer los metabolitos a los que se le pudieran atribuir estas acciones y también desentrañar los posibles mecanismos implicados en ese comportamiento.

CONCLUSIONES

El extracto fluido de tallos de *Dichrostachys cinerea* L. al 50 %, inhibió el crecimiento de *Candida albicans* en varias de las diluciones realizadas y su CMI fue de 1/32.

El extracto fluido de hojas al 30 % no mostró capacidad de inhibir el crecimiento de la cepa estudiada en ninguna de las diluciones.

Se sugiere continuar estudios experimentales *in vitro* sobre la actividad antimicrobiana de la *Dichrostachys cinerea* L. que incluya el empleo de otras formas farmacéuticas y también diseñar estudios que permitan demostrar la eficacia y efectividad terapéutica de esta planta en el tratamiento de afecciones producidas por *Candida albicans*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zurita Macalupú S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev perú med exp salud publica [Internet]. 2018 Ene-Mar [citado 20 Abr 2020];35(1):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000100019
2. Geada López D, López Rodríguez A, Geada López G. Preliminary assessment of germinating inhibitory activity of marabou vegetal extracts (*Dichrostachys cinerea*). Sixth edition of the International Conference on Agricultural Development and Sustainability Agrocentro 2014. VI Symposium of Agriculture Engineering [Internet]. 2014 [citado 20 Abr 2020]. Disponible en: https://gaffi.org/wp-content/uploads/GAFFI_Road_Map_interactive-final0415.pdf
3. García Gómez D, Abreu Duarte R, Mesa Coello L, López Pérez M, Adjudah Truffín C. Situación actual de la candidiasis sistémica en pacientes hospitalizados. Acta médica del centro [Internet]. 2020 Abr-Jun [citado 20 Abr 2020];14(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2709-79272020000200182
4. Argüelles Prieto A. Investigación de biocompuestos polifenólicos con potencial antimicrobiano para el diseño y desarrollo de productos de aplicación en biomedicina [tesis doctoral]. España: Universidad de Murcia; 2020 [citado 20 Abr 2020]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=291121>
5. Franco-Curiel DL, De La Fuente I, Ribacoba L, Fernández-Rodríguez M, Guridi A, Sevillano E, et al. Estudio comparativo de la Candidiasis Invasiva en México y España [tesis]. España: Universidad del País Vasco; 2018 [citado 20 Abr 2020]. Disponible en: <https://sciforum.net/manuscripts/4596/slides.pdf>
6. Rodés Reyes S, Peña Fuentes D, Hermosilla Espinosa R. Tamizaje fitoquímico de extractos y tinturas al 20 % de la raíz y corteza de *Dichrostachys cinerea* L. (Marabú). Rev cuba plantas med [Internet]. 2015 [citado 20 Abr 2020];19(2):156-66. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v20n2/pla02215.pdf>
7. Okhuarobo A, Nwamaife G, Ozolua R. Analgesic and anti-inflammatory effects of the aqueous leaf extract of *Dichrostachys cinerea*. J Appl Sci Environ Manage [Internet]. 2017 Ago [citado 20 Abr 2020];21(5):821-25. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/jasem/article/download/163336/152823>
8. Jaramillo-Ordoñez CE. Actividad antifúngica y antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Usnea laevis* frente a *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Med Hered [Internet]. 2020 Jul-Sep [citado 11 Sep 2023];31(3). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2020000300169
9. Armas González Y. Evaluación preclínica de la actividad diurética y antioxidante de extractos de <http://revistaamc.sld.cu/>

- Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn [tesis]. Santa Clara: Universidad Central Marta Abreu; 2010 [citado 20 Abr 2020]. Disponible en: <https://dspace.uclv.edu.cu/handle/123456789/1005?show=full>
10. Ministerio de Salud Pública. Programa para el desarrollo y la generalización de la medicina tradicional y natural [Internet]. La Habana: MINSAP; 2011 [citado 20 Abr 2020]. Disponible en: <https://files.sld.cu/mednat/files/2014/08/prog-nac-mtn-2012.pdf>
11. Reategui Quiróz LH, Feria Infante AF. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita*. (Tumbo) por inducción experimental em ratas albinas (Hottzman) [tesis]. Lima: Universidad Maria Auxiliadora; 2022 [citado 20 Abr 2020]. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1104/TESIS%20FERIA-REATEGUI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
12. Bolleddu R, Venkatesh S, Hazra K, Rao MM, Shyamsunder R. Anatomical and antihyperglycemic activity of *Dichrostachys cinerea* roots. Med Journ [Internet]. 2020 [citado 20 Abr 2020];13(3):258-63. Disponible en: <http://www.mjdrdypv.org/article.asp?issn=25898302;year=2020;volume=13;issue=3;spage=258;epage=263;aulast=Bolleddu>
13. Hernández Rodríguez A. Guía metodológica de investigación para el desarrollo de un fitomedicamento [Internet]. La Habana: ECIMED; 2017 [citado 20 Abr 2020]. Disponible en: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/02/1050975/guia-metodologica-de-investigacion-para-el-desarrollo-de-un-fi_bkoyAgO.pdf
14. Rodríguez Pérez CM. Prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos. En: Llop Hernández A, Valdés Dapena Vivanco M, Zuazo Silva JL, editores. Microbiología y Parasitología Médica. T III. La Habana: Ciencias Médicas; 2001.p. 610-618.
15. Goyes-Baca MJ, Sacon-Espinosa MR, Poveda-Paredes FX. Manejo del sistema de salud de Ecuador frente a la resistencia antimicrobiana. Rev inf cient [Internet]. 2023 [citado 20 Abr 2023];102:4048. Disponible en: <https://revinfcientifica.sld.cu/index.php/ric/article/view/4048/5491>
16. Ministerio de Salud Pública. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. Buenas Prácticas Farmacéuticas. Sistema Regulador en Cuba. 2^{da} ed [Internet]. La Habana: CECMED; 2017 [citado 20 Abr 2023]. Disponible en: https://www.cecmec.cu/sites/default/files/adjuntos/DocsLicencias/bpfarmaceuticas_0.pdf
17. Ministerio de Salud Pública. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. Buenas Prácticas de Laboratorio para el Control de Medicamentos. Regulación No 37-2012 [Internet]. La Habana: CECMED; 2012 [citado 29 Jun 2023]. Disponible en: https://www.cecmec.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/reg_37-2012_buenas_practicas_lab_opt.pdf
18. Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Fazly Bazzaz BS. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. Antimicrobial Resistance & Infection Control [Internet]. 2019 [citado 29 Jun 2023]. Disponible en: <http://revistaamc.sld.cu/>

2023];8:118. Disponible en: <https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-019-0559-6>

19. Bolleddu R, Venkatesh S, Rao MM, Shyamsunder R. Investigation of the pharmacognostical, phytochemical, and antioxidant studies of various fractions of *Dichrostachys cinerea* root. *J Nat Sci Med* [Internet]. 2019 [citado 20 Abr 2020];2(3):141-6. Disponible en: <https://doaj.org/article/d0823d0963304828b1d319366e70b392>

20. Mazur M, Masłowiec D. Antimicrobial Activity of Lactones. *Antibiotics* [Internet]. 2022 [citado 29 Jun 2023];11(10):1327. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/10/1327>

21. Adu OT, Naidoo Y, Lin J, Adu TS, Sivaram V, Dewir YH, et al. Phytochemical Screening and Biological Activities of *Diospyros villosa* (L.) De Winter Leaf and Stem-Bark Extracts. *Horticultrae* [Internet]. 2022 [citado 20 Abr 2023];8(10):945. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2311-7524/8/10/945>

22. Neondo JO, Mbithe CM, Njenga PK, Muthuri CW. Phytochemical characterization, antibacterial screening and toxicity evaluation of *Dichrostachys cinerea*. *Int J Med Plants Res* [Internet]. 2012 [citado 20 Abr 2020];1(4):032-7. Disponible en: <https://docplayer.net/61008621-Phytochemical-characterization-antibacterial-screening-and-toxicity-evaluation-of-dichrostachys-cinerea.html>

23. Kweyamba PA, Zofou D, Efange N, Assob JC, Kitau J, Nyindo M. In vitro and in vivo studies on antimalarial activity of *Commiphora africana* and *Dichrostachys cinerea* used by the Maasai in Arusha region, Tanzania. *Malar J* [Internet]. 2019 Abr [citado 20 Abr 2020];18(1): 119. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1186/s12936-019-2752-8>

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Dianelys Busquets-Carballo (Conceptualización. Análisis formal. Metodología. Curación de datos. Redacción del borrador original. Investigación).

María del Carmen Galdós-Sánchez (Conceptualización. Investigación).

Nayivis de la Fuente-Fernández (Supervisión y validación. Investigación).

María del Carmen Sospedra-Blanco (Análisis formal. Metodología. Redacción del borrador original. Revisión. Edición).

Yanet García-Fonte (Análisis formal. Metodología. Redacción del borrador original. Revisión. Edición).