

Estudio fitoquímico integral del *Samanea saman* de la región occidental de Cuba

A comprehensive phytochemical study of Samanea saman in the western region of Cuba

*Dr. C. Jorge C. Milián Domínguez, MSc. Omaidá Iglesias Monroy,
Humberto Valdés Marquez, Yosvel Sanjudo Ramos*

jorgemdo@upr.edu.cu

Departamento de Química, Universidad de Pinar del Río, Pinar del Río, Cuba

Recibido: 20 de julio de 2016

Aprobado: 2 de abril de 2017

Resumen

Se realizó un estudio fitoquímico integral de *Samanea saman*, follaje, corteza, flores y frutos, para determinar la presencia de metabolitos secundarios y valorar sus potencialidades. Como métodos fundamentales de trabajo se emplea el tamizaje fitoquímico, análisis histórico-lógico, el estudio de documentos, la observación y la recolección de muestras. Dentro de los principales resultados del estudio de los distintos extractos, demostraron la presencia de sustancias como aminoácidos, alcaloides, carbohidratos reductores, taninos, saponinas y mucílagos.

Palabras clave: metabolitos secundarios, sostenibilidad; desarrollo agrícola.

Abstract

A comprehensive phytochemical study of *Samanea saman*, leaves, bark, flowers and fruits has been made to determine the presence of secondary metabolites and evaluate their potential. Work phytochemical screening, historical and logical analysis, the study of documents, observation and collection of samples is used. Among the main results of the study of the various extracts showed the presence of substances such as amino acids, alkaloids, reducing carbohydrates, tannins, saponins and mucilage.

Keywords: secondary metabolites, sustainability; agricultural development.

Introducción

El *Samanea saman* (Jacq.) Merr. [1] es un árbol de gran tamaño, oriundo del trópico seco americano, que se ha generalizado en todo el trópico húmedo y subhúmedo. Se extiende desde México, por toda la América Central hacia Colombia y Venezuela en Suramérica. Además, se encuentra naturalizado y ampliamente disperso en la mayor parte de las islas caribeñas, principalmente en Cuba, Jamaica, Puerto Rico e Islas Vírgenes, así como en las islas del Pacífico [2].

El algarrobo presenta características peculiares. Brinda excelente sombra, madera, y produce y distribuye gran cantidad de frutos (vainas) de alta calidad nutritiva, que son un importante suplemento forrajero para el ganado durante el período poco lluvioso. Su incorporación a las dietas, en niveles entre 10-30 %, muestra incremento en peso y en producción de leche, en vacas lecheras y otras especies productivas [3]. Su corteza es rugosa, pardo grisácea oscura y arrugada, con líneas horizontales. Las hojas son compuestas, bipinnadas de 3-9 pares de hasta 1 dm de largo, de 2-4 dm de longitud, raquis piloso. Las hojas son ligeramente sensibles a la luz y se cierran por la noche [2]. El algarrobo florece entre enero y mayo, con variaciones que dependen de la geografía del lugar donde crece. El pico de floración ocurre en abril y mayo, aunque se observaron floraciones en octubre en la provincia de Pinar del Río. Las flores son de color rosa claro, dispuestas en umbelas. Se reúnen en inflorescencias vistosas, situadas al final de las ramas. Los frutos son legumbres o vainas oscuras de 8 a 20 cm de largo. Se utiliza como forrajera por sus legumbres verdes y por sus semillas que son comestibles. La maduración de la fruta se produce de febrero a mayo. Las semillas son engrosadas, oblongas, elipsoidales, de 8-11,5 mm de largo y 5-7,5 mm de ancho, ligeramente achatadas por los lados, de color marrón. Cada vaina dispone de 15-20 semillas. También se cultiva como ornamental.

Las plantas producen una diversidad de sustancias, producto del metabolismo secundario, algunas responsables de la coloración y aromas de flores y frutos, otras vinculadas con interacciones ecológicas, como es el caso de la atracción de polinizadores, algunas de estas propiedades las hacen muy atractivas para los animales.

Algunos metabolitos secundarios solo están presentes en determinadas especies y cumplen una función ecológica específica, como por ejemplo atraer a los insectos para transferirles el polen, o a animales para que estos consuman sus frutos y así poder

diseminar sus semillas. También pueden actuar como pesticidas naturales de defensa contra herbívoros o microorganismos patógenos, incluso como agentes alelopáticos (sustancias que permiten la competición entre especies vegetales), también se pueden sintetizar metabolitos secundarios en respuesta a daño en algún tejido de la planta, así como contra la luz UV y otros agentes físicos agresivos, incluso actuar como señales para la comunicación entre plantas con microorganismos simbiotes.

En estudios biológicos más recientes se determinó que la mayoría de los metabolitos secundarios cumplen funciones de defensa contra predadores y patógenos, actúan como agentes alelopáticos (que son liberados para ejercer efectos sobre otras plantas), o para atraer a los polinizadores o a los dispersores de las semillas [4, 5].

En el territorio seleccionado se pretende la explotación con sostenibilidad de los recursos forestales y dentro de esta actividad el aprovechamiento de los residuos provenientes de esta industria para la obtención de diferentes productos. Como objetivo general se propone: valorar las potencialidades agroforestales del *Samanea saman* basado en la presencia de importantes metabolitos secundarios determinados en el tamizaje fitoquímico realizado al follaje, corteza, flores y frutos.

Materiales y métodos

Selección y Características del área de estudio

El área de estudio seleccionada se encuentra en la Finca “Los Márquez” de la CCS Fortalecida “Pedro Saiden” perteneciente a la agricultura municipal de Pinar del Río. La selección de esta área está dada en lo fundamental por la cercanía a la Universidad de Pinar del Río donde se procesa la materia prima (follaje, corteza, flores y frutos de *Samanea saman*), lo que trae consigo un ahorro significativo por transportación y tiempo. Además, se conoce que la finca en cuestión posee más de 20 algarrobos en diferentes estadios de desarrollo. Siendo posible realizar diferentes estudios y aprovechar considerables volúmenes de material.

Toma de muestras de corteza, follaje, flores y frutos de *Samanea saman*

El material se tomó de árboles en diferentes estadios de desarrollo, incluso se realizaron análisis de corteza de árboles talados, con edades comprendidas entre 5 y 70 años, en los meses de septiembre de 2015 y enero de 2016, lo que aportó información valiosa sobre el desarrollo de la especie. Los ejemplares seleccionados fueron aquellos distantes

de la carretera para evitar la contaminación con sustancias químicas producidas por la combustión de los motores de los autos. La toma del material se realizó de forma aleatoria, tomando material de 5 y 10 árboles, considerando un muestreo en cada uno de los árboles a diferentes partes del mismo: arriba, inferior, centro derecho e izquierdo. El material recolectado se mezcla para obtener muestras homogéneas [6].

Procesamiento de la muestra

El material de estudio fue trasladado al Laboratorio de investigaciones de la Universidad de Pinar del Río, donde como paso inicial e imprescindible, es desfibrado de forma manual y en un molinillo rústico, para obtener partículas de 7-8 mm [6]. Lo anterior facilita la extracción de los componentes activos de las muestras.

Obtención de los extractos

Para la preparación de los extractos se tomaron las partes aéreas de las plantas (hojas, corteza, flores y frutos). El follaje, las flores y los frutos se procesaron verdes, también las hojas, frutos y corteza se procesaron secas en condiciones naturales, durante 72 horas y posteriormente en la estufa durante 24 horas a 60 °C, para luego triturarlas finamente, a tamaño de partícula 0,8 μ . De este material se toman 10 g y se siguió el esquema propuesto.

Las maceraciones se realizaron por espacio de 48 horas. Los solventes de cada maceración fueron concentrados por separado a presión reducida hasta un volumen de 5 mL.

Análisis de índices de calidad de las muestras

Determinación del pH de la disolución

El pH de la disolución se determina con 0,9-1,000 0 g de la muestra en 100 mL de agua destilada, mediante potenciometría directa en un pH metro 211 marca HANNA.

Análisis de la humedad

La determinación del contenido de humedad se realiza mediante el método gravimétrico. Se toman entre 5 y 10 g de las muestras, se pesan en balanza analítica con precisión de $\pm 0,000$ 1g y se secan en estufa a temperatura de 103 ± 2 °C, hasta obtener masa constante. Para ejecutar este ensayo se empleó una balanza analítica digital Sartorius MC 1, AC 210s, estufa Baxun (china) y Ziehen alemana

% de Humedad: Se determinó empleando los criterios que la definen como la diferencia entre la masa húmeda y la masa seca por cien. [7]

Tamizaje fitoquímico

El esquema que proponemos utiliza la extracción sucesiva con solventes de polaridad creciente, con la finalidad de lograr el mayor agotamiento de la droga, ensayándose en cada extracto los metabolitos que de acuerdo a su solubilidad pueden ser extraídos en estos solventes (tabla 1). Cada extracto fue sometido a un análisis cualitativo mediante reacciones químicas resumidas en la guía para tamizaje fotoquímico. [8]

TABLA 1. PRINCIPALES ENSAYOS DE ACUERDO A LA SOLUBILIDAD

Grupo de compuestos	Ensayo	Extractos		
		Etéreo	Alcohólico	Acuoso
Saponinas	Espuma	/	X	X
Principios amargos y astringentes	Sabor	/	/	X
Alcaloides	<i>Dragendorff</i>	X	X	X
	<i>Wagner</i>	/	X	X
Aminoácidos y aminas	Ninhidrina	/	X	X
Azúcares reductores	<i>Fehling</i>	/	X	X
Fenoles y taninos	FeCl ₃	/	X	X
	Gelatina	/	X	X
Flavonoides	<i>Shinoda</i>	/	X	X
Leucoantocianidinas	Leucoantocianidinas	/	/	/
Mucílagos	Al tacto	/	/	X
Aceites esenciales y grasas	Sudán	X	X	X
	Papel blanco sin reactivo	X	X	X
Cumarinas	<i>Baljet</i>	X	X	X
Carotenos	<i>Carr-Price</i>			
Glucósidos cardiotónicos	<i>Kedde</i>	/	X	/
Triterpenos esteroides y	<i>Lieberman-Bouchard</i>	X	X	X
Quinonas	<i>Bornträger</i>		X	X
Resinas		/	X	/

Los espacios con X indican la realización del ensayo al extracto, / significa que no se realizó el ensayo.

Además, se realizaron otras pruebas que indican la presencia de metabolitos como muestra (tabla 2).

TABLA 2. OTRAS PRUEBAS REALIZADAS QUE INDICAN PRESENCIA DE METABOLITOS

Grupo de compuestos	Ensayo	Extractos		
		Etéreo	Alcohólico	Acuoso
Polipéptidos y proteínas	Biuret	X	X	X
Proteínas	Shakaguchi	X	X	X
Proteínas-aminoácidos	Ninhidrina	X	X	X
Triptófano	Hopkins-cole	X	X	X
Aminoácidos azufrados	<i>SH</i>	X	X	X

Los espacios con X indican la realización del ensayo al extracto, / significa que no se realizó el ensayo.

Resultados y discusión

En la tabla 3 aparecen los valores de pH determinados para los extractos preparados.

TABLA 3. VALORES DEL pH DE LOS EXTRACTOS PREPARADOS

Muestra	Valores de pH
Corteza	6,5
Follaje verde	6,2
<i>Follaje seco</i>	6,1
Fruto verde	6,0
Fruto seco	6,7
Flores	6,1

En la tabla 4 se muestran los parámetros de humedad de las muestras en estudio.

TABLA 4. PARÁMETROS DE HUMEDAD DE LAS MUESTRAS

Muestra	Masa Húmeda	Masa seca	Contenido de agua	% de humedad
Corteza	10 g	7,1 g	2,7 g	27 %
Follaje verde	10 g	6,2 g	3,8 g	38 %
<i>Follaje seco</i>	10 g	9,1 g	0,9 g	9 %
Fruto verde	12,6 g	7,2 g	5,4 g	42,8 %
Fruto seco	16 g	15,3 g	0,7 g	4,3 %
Flores	10 g	5,9 g	4,1 g	41 %

Se puede apreciar que los mayores contenidos de humedad lo presentan los frutos verdes y las flores y los menores valores corresponden al follaje y fruto secos. Estos parámetros indican que la corteza, el follaje y los frutos secos pueden ser conservados por un periodo de tiempo prolongado, lo que acentúa su importancia desde el punto de vista investigativo.

Se puede apreciar que los mayores contenidos de humedad lo presentan los frutos verdes y las flores y los menores valores corresponden al follaje y fruto secos, estos parámetros indican que la corteza, el follaje y los frutos secos pueden ser conservados por un periodo de tiempo prolongado, lo que acentúa su importancia desde el punto de vista investigativo.

La determinación del contenido de humedad indicó la cantidad de agua involucrada en la composición de los mismos. El contenido de humedad se expresa generalmente como porcentaje, las cifras varían en los productos naturales. En los tejidos vegetales y animales existe dos formas generales: agua libre y agua ligada, como soluto o como solvente; en forma libre, formando hidratos o como agua adsorbida.

Los ensayos realizados en el estudio fitoquímico empleando las técnicas seleccionadas, evidenciaron la presencia de una gama importante de metabolitos secundarios.

Estudio fitoquímico

El estudio fitoquímico evidenció la presencia de un grupo importante de metabolitos secundarios (tabla 5).

TABLA 5. PRINCIPALES METABOLITOS PRESENTES EN EL ALGARROBO (*Samanea Saman*)

Grupo de compuestos	Corteza	Follaje	Flores	Frutos
	Taninos	+++	+	+++
Carbohidratos	+	+++	+++	+++
Flavonoides	+	+++	+	
Saponinas	+++	+++	+++	+++
Mucilago	++	++		
Coumarinas	++	++	++	
Aminoácidos libres		+++	+++	+++
Fenoles	+++	++		+
Quinonas		++		
Alcaloides	+++	+	+++	+

Los espacios en blanco significan que esos ensayos no fueron realizados, + significa que se obtuvo una respuesta positiva para ese metabolito en el extracto, - significa que se obtuvo una respuesta negativa para ese metabolito en el extracto.

La corteza ha sido poco estudiada, como se puede observar en la tabla 5, en el estudio fitoquímico realizado, se detectaron diversos metabolitos; se evidenció en los ensayos de Dragendorff la aparición de opalescencia, lo que demostró la existencia de alcaloides. Los alcaloides poseen una gran diversidad de estructuras químicas [9]. Son fisiológicamente activos en los animales, aún en bajas concentraciones, por lo que son muy usados en medicina. Ejemplos conocidos son la cocaína, la morfina, la atropina, la colchicina, la quinina, y la estricnina.

Al realizar el ensayo de cloruro férrico se comprobó la presencia de abundantes taninos, sobre todo del tipo pirocatecólicos, por la coloración verde intensa que tomó la muestra. En los extractos más polares, alcohólico y acuoso, se detectaron azúcares, flavonoides, quinonas y resinas. Además, en el extracto acuoso se encontraron saponinas y principios amargos y astringentes.

Por otra parte, resulta interesante señalar en esta especie cubana, la presencia de flavonoides y triterpenos, compuestos que también han sido encontrados en otras especies de algarrobo como el *Ceratonia silicua*, que han mostrado sus efectos farmacológicos relevantes sobre los sistemas nervioso y cardiovascular, entre otros. [10-13].

Al hacer un análisis de los metabolitos secundarios presentes en los frutos se pudo apreciar la presencia de aminoácidos libres y alcaloides, llama la atención la presencia de flavonoides, lo que indica que sus propiedades antioxidantes pueden ser empleados en la obtención de otros productos bioactivos. Los frutos sirven de alimento para el ganado, lo cual es riesgoso si es consumido en abundancia, ya que las semillas poseen el alcaloide *pitecolobina*, que es tóxico, con propiedades abortivas. [13]

Estudios realizados por Esuoso [14] indicaron que en el mesocarpio carnoso los azúcares representan el 32,65 % del contenido total de nutrientes y de los cuatro tipos de azúcares identificados, la fructosa fue predominante con una concentración de 16,20 %. El fruto del algarrobo es oleífero. El aceite que se obtiene de las semillas contiene 5,6 % de ácidos grasos libres y está compuesto por nueve ácidos grasos, de ellos más del 90 % son insaturados.

Al observar los resultados del análisis fitoquímico a las flores es significativa la presencia de una variada cantidad de metabolitos secundarios, resaltando los alcaloides, observándose opalescencia en el tubo de ensayos de los extractos alcohólico y acuoso. En el caso de los flavonoides, el alcohol amílico se colorea de amarillo naranja y la presencia de los taninos aparece por una coloración verde. Esto posibilitaría continuar profundizando en su identificación para el empleo en la industria de la cosmética y productos medicinales.

En resumen, el estudio realizado evidencia una amplia aplicación por la presencia de una gran cantidad de metabolitos secundarios con propiedades bioactivas, eso hace de las partes estudiadas de esta especie, una importante fuente para el desarrollo desde el punto de vista agroforestal, sus frutos son legumbres o vainas oscuras de 8 a 20 cm de largo. Se utiliza como forrajera por sus legumbres verdes y secas además por sus semillas que son comestibles. También se cultiva como ornamental, tiene gran valor como sombra para el ganado en los pastizales. Además, en el país cada día su madera es más estimada en algunos lugares para el tallado artesanal y la elaboración de muebles. Se ha comprobado experimentalmente que desde el punto de vista agroecológico adiciona nitrógeno al suelo a través de la descomposición de la hojarasca de este árbol leguminoso.

Desde el punto de vista fitoquímico las pruebas de determinación de metabolitos secundarios, se encontró que en el follaje y la corteza aparecen identificados los

mayores números de metabolitos secundarios, seguidos de las flores y frutos. Los metabolitos más presentes son alcaloides, taninos, carbohidratos, saponinas, aminoácidos, azúcares reductores y flavonoides.

El análisis de los resultados del estudio fitoquímico al *Samanea saman* indican que esta especie tiene amplias posibilidades de ser empleado para la obtención de productos naturales (sustancias bioactivas y aceites esenciales), para la obtención de compuestos antioxidantes a partir de clorofila para su empleo en la medicina natural, la obtención de sustancias empleadas en el proceso de curtido de pieles, la elaboración de bebidas, preparación de extractos acuosos de la planta, que han demostrado actividad inhibitoria de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* [15, 16] y en general como fuente natural de antimicrobianos y antifúngicos, por la presencia de metabolitos, principalmente taninos condensados, capaces de cumplir estas funciones [17].

Trusharkumar [18] evaluó la actividad antioxidante y potencial citotóxico en preparados de extracto de la cáscara del *Samanea saman*, obteniendo buena actividad antioxidante y órgano-protectora en la cáscara y lo atribuyó a la presencia en ella de compuestos polifenólicos, como los flavonoides y taninos. En la figura 1 se muestran solamente algunas de las aplicaciones que tienen la corteza, el follaje, las flores y los frutos, que constituyen una fuente natural para potenciar el desarrollo de la agricultura con criterios de sostenibilidad.



Fig. 1. Potencialidades del *Samanea saman*

Conclusiones

El algarrobo, es una especie con alto potencial dado la cantidad de sustancias conocidas como metabolitos secundarios que le confieren propiedades agroforestales, nutritivas, bioactivas, medicinales medio-ambientales e industriales a las diferentes partes del árbol incluyendo su madera, lo que lo convierte en una especie de interés económico.

El estudio fitoquímico realizado al árbol del algarrobo evidencia que su corteza, flores, hojas y frutos contienen metabolitos secundarios: flavonoides, taninos, terpenoides, azúcares reductores, alcaloides y entre otros, por lo que constituye una fuente de investigación con respecto a la obtención de productos naturales.

Referencias bibliográficas

1. JACQ, M. "Albizia lebbek (L.) Benth y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (vegetal material 23) in the methanogens population and ruminal microbial ecology". *Cuban J. Anim. Sci.* **46**, 273, 1759
2. STAPLES, G. W.; ELEVITCH, C. R. *Samanea saman* (rain tree). Species profiles for Pacific Island Agroforestry. [Consultado: 20 de septiembre de 2012]. Disponible: www.traditionaltree.org
3. RONCALLO, B. *et al.* Producción de vacas de doble propósito suplementadas con frutos de Algarrobillo (*Pithecellobium saman*) durante las lluvias. [en línea] [Consultado: 20 de mayo de 2009] Disponible: <http://www.fao.org/docrep/006/Y4435S/y4435s00.htm#Contents>.
4. LEVIN, D. A. "The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores". *Ann Rev. Ecol. Syst.* 1976, **7**, 121-159.
5. CRONQUIST A. "On the taxonomic significance of secondary metabolites in angiosperms". *Plant Syst Evol., suppl.* 1977, **1**, 179-189.
6. YAGODIN, V. I. *Fundamentos químicos y tecnológicos para el aprovechamiento del follaje verde*. MINED superior y media especializada de la URSS (en ruso), 1981.
7. GODOY, A. E.; MELÉNDEZ, P. *Manual de Análisis químico cuantitativo para Ingenieros Forestales*. Ciudad de la Habana. Cuba: Editorial Félix Varela, 2005.

8. NOGUEIRA, R.; SPENGLER, Z. *Guía para el tamizaje fotoquímico*. MINSAP, 1994
9. ROBINSONT. *The biochemistry of alkaloids*. 2ª ed. Nueva York: Springer, 1981.
10. MARTIN, J.; DUSEK, J. "The Baikal scullcap (*Scutellariabaicalensis*Georgi)-a potential source of new drugs". *CeskaSlov Farm*. 2002, **51** (6), 277-83.
11. BRONCEL, M. "Antiatherosclerotic properties of flavones from the roots of *Scutellariabaicalensis* Georgi". *WiadLek*. 2007, **60** (5-6), 294-297.
12. ISAAC, L. J. "Nutritional Value of Cassava Wastes Ensiled with *Albizia saman*Pod as Feed for Ruminants in Off Season". *Agricultural Journal*. 2010, **5**, 220-224.
13. LEE, H. *et al.* "Two novel neoclerodanediterpenoids from *Scutellariabarbata*". *Bioorg.Med Chem Lett*. 2010, **20**, 288-290.
14. ESUOSO, K. O. "The nutritive value of Monkey Pod (*Samanea saman*)". *Rivista Italiana delle Sostanze*. 1996, **73** (4), 165-168.
15. .OBASI, N. L.; EGBUONU, A. C. C.; UKOHA, P. O; EJIKEME, P. M. 2010. Comparative phytochemical and antimicrobial screening of some solvent extracts of *Samanea saman*. [Consultado: 20 de mayo de 2009] Disponible: www.academiejournal.org/article1379501137.
16. JAGESSAR, R. C.; MARS, A.; GOMATHINAYAGAM, S. "Selective Antimicrobial properties of Leaf extract of *Samanea saman* against *Candida albicans* *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* using several microbial methods". *Journal of American Science*. 2011, **108** (3), 108-119.
17. FERDOUS, A.; IMAM, M. Z.; AHMED, T. "Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Samanea saman* (Jacq.) Merr.Stamford". *J. Pharm. Sci*. 2010, **3** (1), 11-17.
18. TRUSHARKUMAR, P. J. Evaluation of bark of *Samanea saman* (Jacq.) Merr for antioxidant and organ protective properties. [Consultado: 20 de abril de 2013]. Disponible: <http://hdl.handle.net./123456789/5391>.