

Caracterización química y actividad biológica de las hojas y semillas de *Chrysobalanus icaco* L. (Icaco)

Chemical characterization and biological activity of leaves and seeds of *Chrysobalanus icaco* L. (icaco)

Eriberto Villagra¹ <https://orcid.org/0000-0002-1926-4650>

Edmond Quintero¹ <https://orcid.org/0000-0002-5335-0480>

Aldahir Mero² <https://orcid.org/0000-0002-4546-6096>

Estela Guerrero De León² <https://orcid.org/0000-0002-0029-1827>

Juan A. Morán-Pinzón² <https://orcid.org/0000-0002-5559-231X>

Jorge A. Palermo³ <https://orcid.org/0000-0002-0892-9389>

Laura P. Patiño Cano^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-7490-7578>

¹Universidad Autónoma de Chiriquí, Escuela de Química, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Centro de Investigación de Productos Naturales y Biotecnología (CIPNABIOT). Chiriquí, Panamá.

²Universidad de Panamá Facultad de Medicina, Centro de Servicios e Investigaciones Farmacológicas (CESIFAR). Panamá, Panamá.

³Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Química Orgánica. Buenos Aires, Argentina.

*Autor para la correspondencia: laura.patino@unachi.ac.pa

RESUMEN

Introducción: *Chrysobalanus icaco* L. (*Chrysobalanaceae*) es un arbusto utilizado en la fitoterapia tradicional latinoamericana, pero en la provincia de Chiriquí se ha registrado el uso de su fruto para hacer conservas, no de forma medicinal.

Objetivo: Caracterizar los metabolitos secundarios presentes en las hojas y semillas de *Chrysobalanus icaco* y evaluar su actividad biológica *in vitro*.

Métodos: Los metabolitos secundarios presentes en los extractos de las hojas, semilla inmadura y madura de *Chrysobalanus icaco*, se detectaron a través de tamizaje fitoquímico y purificación por técnicas cromatográficas. Posteriormente se evaluó el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante total de la infusión de las hojas, semillas y pulpa de esta especie, así como la actividad antibacteriana *in vitro*.

Resultados: En las hojas se identificaron por tamizaje fitoquímico, flavonoides, glucósidos cardiotónicos, triterpenos y esteroides. Para la semilla inmadura se encontró presencia mayoritaria de mezclas de azúcares, mientras que para la semilla madura se detectaron ácidos grasos en el endocarpio (almendra). Los datos de polifenoles totales en extractos de Icaco mostraron alto contenido de estos metabolitos en la infusión de hojas secas, y la inhibición del radical DPPH fue mayor también para las hojas secas de icaco, seguido de la infusión de semilla inmadura. Por otro lado, la infusión de hojas secas y el licuado de la pulpa fueron los que mostraron una mayor inhibición contra la cepa de *Staphylococcus* spp. en el ensayo de actividad antibacteriana.

Conclusión: Las hojas secas de *Chrysobalanus icaco* mostraron alto contenido de polifenoles, asociado a su potencial actividad antioxidante y antibacteriana. Además, se aportaron nuevos datos de composición química de la semilla, se observó que los azúcares detectados inicialmente en la semilla inmadura se pierden considerablemente con la maduración del fruto.

Palabras clave: *Chrysobalanus icaco*; metabolitos secundarios; tamizaje fitoquímico; infusión; actividad antioxidante.

ABSTRACT

Introduction: *Chrysobalanus icaco* L. (Chrysobalanaceae) is a shrub used in Latin American traditional phytotherapy, but in the province of Chiriquí its fruit has been reported to be used in food preserves, not for medicinal purposes.

Objective: Characterize the secondary metabolites present in *Chrysobalanus icaco* leaves and seeds and evaluate their *in vitro* biological activity.

Methods: The secondary metabolites present in extracts from leaves and immature and mature seeds of icaco were detected by phytochemical screening and purification with chromatographic techniques. Evaluation was then conducted of total polyphenolic content and total antioxidant activity of the leaf, seed and pulp infusion as well as its antibacterial activity *in vitro*.

Results: Phytochemical screening of the leaves found flavonoids, cardiotonic glycosides, triterpenes and steroids. Sugar mixtures were the most abundant components in immature seeds, whereas fatty acids were found in the endocarp (almond) of mature seeds. Total polyphenolic data about icaco extracts showed high contents of these metabolites in the dry leaf infusion. DPPH radical inhibition was also greater for icaco dry leaves, followed by immature leaf infusion. The dry leaf infusion and the pulp shake displayed the greatest inhibition against the *Staphylococcus* spp. strain in the antibacterial activity test.

Conclusion: Icaco dry leaves exhibited a high polyphenolic content, associated to their antioxidant and antibacterial activity. Fresh data were also contributed about the chemical composition of the seed. It was observed that the sugars initially detected in immature seeds are considerably lost as the fruit ripens.

Keyword: *Chrysobalanus icaco*, secondary metabolites, phytochemical screening, infusion, antioxidant activity.

Recibido: 30/05/2019

Aceptado: 04/03/2020

Introducción

En la Provincia de Chiriquí (Panamá) es común el uso de frutos de *Chrysobalanus icaco* L. en la preparación de jaleas y como ingrediente para dulces, tradición de uso compartido con otros países.⁽¹⁾ Aunque en Panamá esta planta carece de uso medicinal reportado, en otros países, como por ejemplo Brasil, donde se le conoce comúnmente como Ajuru o Baijru, esta planta posee uso tradicional en el control de la glicemia.⁽²⁾ Estos usos están apoyados en gran parte por resultados obtenidos a partir de estudios experimentales que han demostrado que los extractos de *C. icaco* tienen actividad antifúngica contra especies de *Candida*,⁽³⁾ inducen la reducción de peso en roedores^(4,5) y reducen los niveles de glucosa en sangre.⁽⁶⁾

Chrysobalanus icaco es una especie polimórfica única que varía principalmente en la forma y tamaño de las hojas y en el color y el tamaño de los frutos.⁽⁷⁾ Tres morfotipos de *C. icaco* pueden distinguirse por el color del fruto maduro: blanco (WM), rojo (RM) y negro (BM). Aunque ha sido descrito que estas formas diferentes crecen frecuentemente una al lado de la otra sin separación ecológica, en las zonas bajas de la provincia de Chiriquí es más frecuente observar la especie de frutos rojos.

Chrysobalanus icaco ha sido objeto de diferentes estudios fitoquímicos, los cuales han reportado la presencia de flavonoides y terpenoides, como grupos químicos de interés farmacológico.^(8,9) En la medicina tradicional de países como Brasil, Tanzania y Nigeria, se usa en forma de infusión, decocción, tintura, entre otras preparaciones.⁽¹⁰⁾

El objetivo de este estudio fue caracterizar los metabolitos secundarios presentes en las hojas y semillas de *Chrysobalanus icaco* y evaluar su actividad biológica *in vitro*.

Métodos

Recolección y tratamiento de la muestra vegetal

Las muestras vegetales fueron recolectadas en diferentes fechas durante el 2017, en la región de Bágala, distrito de Boquerón, provincia de Chiriquí. Los datos de recolección e identificación, así como los extractos obtenidos a partir de cada una de las partes de la planta, se presentan resumidos en la figura 1. La identificación fue realizada en el Herbario de la Universidad Autónoma de Chiriquí (Panamá), por el taxónomo Rafael Rincón con código de registro (C-001-02-2017), correspondiente al nombre científico *Chrysobalanus icaco* L., perteneciente a la familia *Chrysobalanaceae*.

Se pesaron aproximadamente 200 g de material vegetal fresco (hojas), y se dividieron en dos partes iguales. Una parte se trabajó de forma directa y se denominó hojas frescas de Icaco, del cual se obtuvieron tanto el extracto metanólico (EMHF) mediante percolación por 24 horas a temperatura ambiente, así como el extracto acuoso (EHF) y la infusión (IHF). La otra parte del material vegetal fue secado en horno aproximadamente a 40 °C, por tres días, y una vez seco, se registró su peso, se molieron las hojas y se obtuvo el extracto metanólico mediante percolación por tres días a temperatura ambiente (EMHS), así como la infusión (IHS). Todos los extractos se guardaron en viales y refrigeración hasta su uso posterior.

En el caso de los frutos inmaduros se lavaron con agua, se pesaron, despulparon y secaron en horno a 40 °C, por 24 horas. El material seco fue pesado nuevamente y, empleando un procedimiento manual, se procedió a partirlo, hallándose una estructura hueca en su interior, la que se le llamó semilla inmadura de Icaco (SII), al no presentar pulpa. La SII fue molida y dividida en dos partes iguales. Una parte fue extraída con metanol durante 3 días a temperatura ambiente, luego se filtró y concentró para obtener el extracto correspondiente (EMSII). Con la segunda porción se preparó un extracto acuoso, llamado infusión de semilla inmadura (ISI). Un procedimiento similar al descrito para los frutos inmaduros fue empleado para obtener los extractos de frutos maduros. Tras el proceso de despulpa y secado, se procedió a partir la semilla, observándose que estaba compuesta por dos partes: el exocarpio, al que llamamos cáscara de Icaco (CI) y el endocarpio, que

se encuentra en el interior de la cáscara y que llamamos almendra de Icaco (AI). Ambas muestras se extrajeron con metanol, para obtener los extractos (EMCI y EMAI), respectivamente. A su vez, se preparó un extracto acuoso de la semilla madura, denominado infusión de semilla madura (ISM).

Para el caso del análisis de concentración de polifenoles totales, se compararon los extractos obtenidos con dos extractos acuosos de pulpa de Icaco: infusión de pulpa (IP) y el licuado de pulpa (LP), con el fin de examinar los valores obtenidos, teniendo en cuenta que la mayoría de los estudios reportados han sido realizados sobre la pulpa de esta planta.

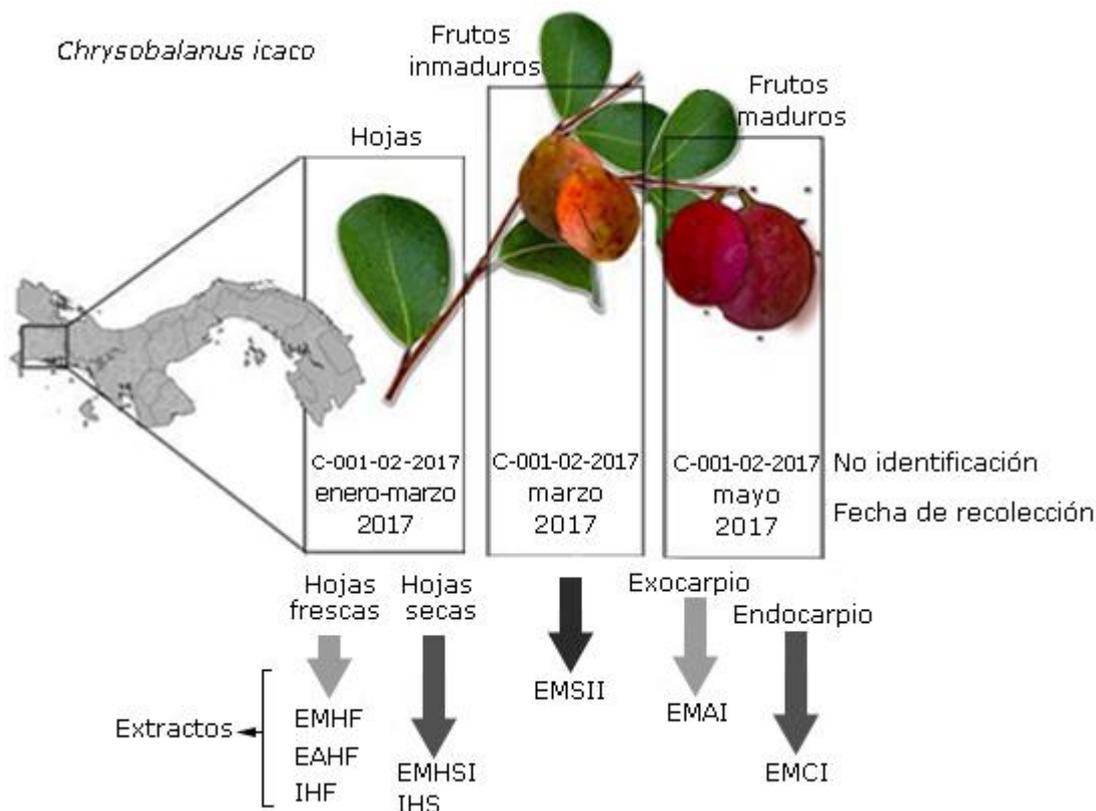


Fig. 1- Datos de recolección e identificación de *C. icaco* L.

Purificación y análisis de la muestra

La purificación fue realizada usando técnicas cromatográficas como la cromatografía de columna de fase normal, cromatografía de columna de Sephadex y la cromatografía de capa fina preparativa. Por otra parte, la evaluación de los contenidos de polifenoles totales, en las hojas, semillas y pulpa, empleando el método de Folin-Ciocalteu. Los datos de actividad antioxidante fueron obtenidos mediante el método de inhibición del radical DPPH.

Los extractos metanólicos y acuosos de la hojas y semillas de icaco se filtraron y concentraron en un evaporador rotatorio Buchi® a presión reducida para obtener el extracto crudo correspondiente, posteriormente, se analizó su perfil químico mediante cromatografía de capa fina (CCF)⁽¹¹⁾ y pruebas de tamizaje fitoquímico para identificación de metabolitos secundarios en extractos vegetales.⁽¹²⁾

Determinación de compuestos polifenólicos totales (CPT)

Los compuestos polifenólicos totales en muestras acuosas de icaco fueron determinados usando el método de Folin-Ciocalteu.⁽¹³⁾ La cuantificación se realizó en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesis 10s) a 760 nm. Los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico equivalente (AGE) por gramos de muestra fresca y seca. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Determinación de actividad antioxidante total (AAT)

Para la determinación del porcentaje de inhibición al radical DPPH,⁽¹⁴⁾ se usaron microplacas de 96 pocillos y se analizaron solo 4 extractos (IHF, IHS, ISM e ISI). Se colocaron 100 µL de DPPH y 100 µL de los extractos previamente disueltos en DMSO a las concentraciones desde 31,25 µg/mL hasta 2000 µg/mL. Como sustancia de referencia y a las mismas concentraciones, se empleó quercetina, un flavonoide con reconocida actividad antioxidante. Incubamos cada microplaca en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. Transcurrido el período de incubación, se obtuvieron los valores de absorbancia a una longitud de onda de 517 nm en un espectrofotómetro Epoch®. Cada evaluación se realizó por triplicado, considerando como actividad antioxidante una disminución en la absorbancia del pocillo y cambio de coloración del DPPH de morado a amarillo. El porcentaje de inhibición fue calculado con la fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{OD DPPH en el pocillo} - \text{OD producto}}{\text{OD DPPH en el pocillo}} \times 100$$

Nota: OD: densidad óptica

Evaluación de la actividad antibacteriana por el método de difusión en pozos

Los ensayos de actividad antibacteriana se realizaron empleando las bacterias Gram negativas: *Escherichia coli* y *Klebsiella spp* y la bacteria Gram positiva *Staphylococcus spp*, aisladas de muestras ambientales, suministradas por el laboratorio de Microbiología de la Universidad Autónoma de Chiriquí. Se prepararon diferentes concentraciones de los extractos de Icaco a los que se le determinó la CPT y la AAT previamente. Para la determinación de la actividad antibacteriana se empleó el método de difusión en pozos de 5 mm de diámetro. Las cajas se sellaron y se incubaron a 36 °C durante 20 h. La actividad antibacteriana se determinó midiendo el diámetro de la zona de inhibición. También se determinó la CMI (Concentración Mínima Inhibitoria) empleando el método de dilución, para los extractos que presentaron una mayor inhibición contra los microorganismos evaluados. Así la CMI corresponde a la mínima concentración del producto ensayado donde no se observa crecimiento (turbidez) y fue establecida con el indicador TTC (cloruro de 2, 3, 5-trifeniltetrazolio), y los datos se expresan en mg/mL para cada muestra. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se empleó Gentamicina como control positivo.

Resultados. Identificación de metabolitos secundarios

La tabla 1 muestra los metabolitos secundarios identificados mediante prueba de tamizaje fitoquímico de los diferentes extractos crudos de las hojas frescas y secas. La prueba de tamizaje fitoquímico en los extractos de hojas frescas indicó que en el extracto metanólico se identificaron mayoritariamente alcaloides, terpenos, flavonoides y saponinas, mientras que en el extracto acuoso se detectaron flavonoides, terpenos y esteroides como compuestos mayoritarios;

mientras que la infusión de hojas frescas fue la que presentó menor diversidad de metabolitos secundarios. Para las hojas secas se observó un comportamiento similar, ya que en el extracto metanólico se detectaron alcaloides, terpenos, flavonoides, saponinas y taninos, mientras que en la infusión de hojas secas fueron los taninos, fenoles y flavonoides los mayoritarios.

Tabla 1- Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *Chrysobalanus icaco* L.

Metabolito secundario	EHF	EMHF	EMHS	IHF	IHS
Alcaloides	----	+++	+++	---	----
Esteroides/Triterpenos	++	+++	+++	++	++
Flavonoides	++	+++	+++	+	+
Glucósidos cardiotónicos	++	++	++	+	+
Saponinas	+++	+++	++	---	+
Compuestos fenólicos	++	+++	+++	+	+++

(+++): Abundante, (++) moderado, (+): leve, (---): negativo. EHF: Extracto acuoso de hojas frescas, EMHF: Extracto metanólico de hojas frescas, EMHS: Extracto metanólico hojas secas, IHF: Infusión hojas frescas, IHS: Infusión hojas secas.

En la tabla 2 se presentan los resultados comparativos de metabolitos secundarios obtenidos por pruebas de tamizaje fitoquímico, presente en la semilla inmadura de Icaco. No se detectaron alcaloides, los metabolitos más abundantes fueron, taninos, esteroides, flavonoides y carbohidratos. El espectro infrarrojo de la semilla inmadura presentó señales para grupos OH (3384 cm^{-1}), C = O (1740 cm^{-1}), C = C (1639 cm^{-1}) y enlace C-O (1238 y 1062 cm^{-1}), el porcentaje de grado Brix fue de 30° Bx en el extracto alcohólico al 95 %, además de presentar un olor y sabor dulce y dar positiva las pruebas para azúcares tanto reductores como no reductores (Molisch, Braun, Benedict y Seliwanoff), indicando posible presencia de carbohidratos.

Tabla 2- Tamizaje fitoquímico de los extractos metanólicos de las partes de la semilla de *Chrysobalanus icaco* L.

Metabolito secundario	EMSII	EMCI	EMAI
Alcaloides	----	---	---
Esteroides/Triterpenos	++	+++	++
Flavonoides	+++	+++	+++
Glucósidos cardiotónicos	++	+++	+++
Saponinas	---	++	+
Compuestos fenólicos	+++	+++	++
Carbohidratos	+++	++	++

(+++): Abundante, (++) moderado, (+): leve, (---): negativo
 EMSII: Extracto metanólico semilla inmadura, EMCI: Extracto metanólico cáscara, EMAI: Extracto metanólico almendra

Las pruebas de tamizaje para la semilla madura, tanto de la almendra como de la cáscara, dieron positivo para taninos, flavonoides y glucósidos cardiotónicos como metabolitos mayoritarios y una reacción leve para carbohidratos. Durante el proceso de extracción de la almendra se observó un sólido precipitado de coloración amarillo claro y olor rancio, soluble en hexano y que presentó bandas de absorción IR para OH (3454 cm^{-1}), C = O (1742 cm^{-1}), C-H (1464 cm^{-1}) y C-OH (1100 cm^{-1}), consistente con la posible presencia mayoritaria de ácidos grasos en ese extracto.

Concentración de polifenoles totales (CPT)

La infusión de hojas secas de Icaco (IHS) presentó un alto contenido de polifenoles totales (57,75 mg/g) comparado con la hoja fresca (12,43), la semilla madura (14,53), la semilla inmadura (12,41) y la pulpa (6,81), determinado mediante el método de Folin-Ciocalteu, cuyos resultados se presentan en la tabla 3.

Tabla 3- Valores semanales de CPT de las muestras de Icaco en mg EAG/g

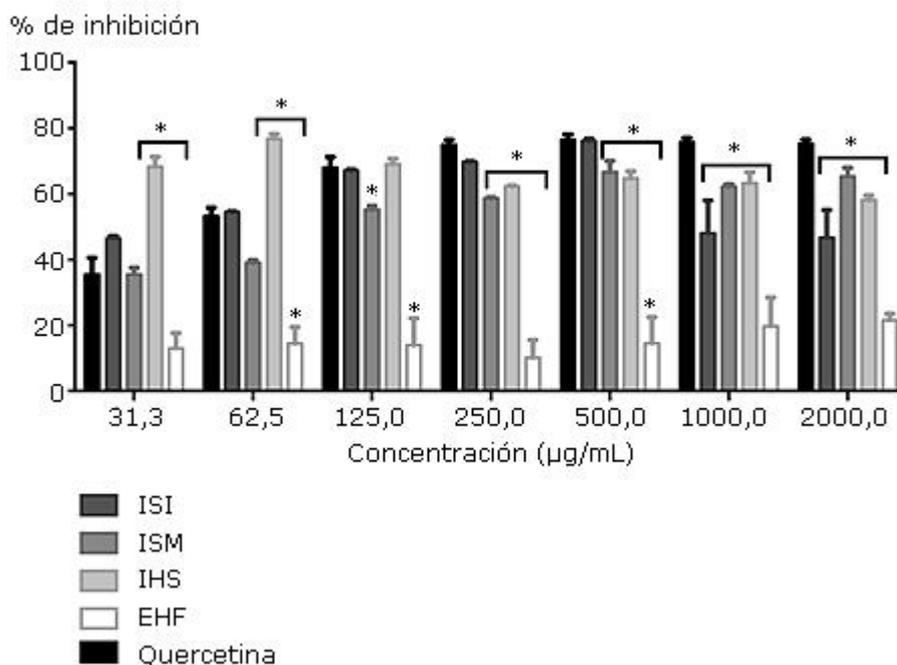
Medición	IHF	EHF	IHS	LP	ISM	ISI	IP
Semana 1	14,44	16,27	68,06	7,41	18,60	14,02	5,51
Semana 2	11,56	11,92	53,92	5,09	13,90	11,50	5,65
Semana 3	11,29	11,92	51,27	7,92	11,09	11,70	5,82
Promedio	12,43	13,37	57,75	6,81	14,53	12,41	5,66
DE	1,74	2,51	9,02	1,51	3,80	1,40	0,16

IHF: Infusión hojas fresca, EHF: Extracto de hojas fresca, IHS: Infusión de hojas secas, LP: Licuado de la pulpa, ISM: Infusión de la semilla madura, ISI: Infusión semilla inmadura, IP: Infusión de la pulpa, DE: Desviación estándar.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el tamizaje y la CPT, se seleccionaron solo los extractos con mejor perfil químico y concentración de compuestos oxidantes, para evaluarles su AAT y actividad antibacteriana, siendo estos: ISI, ISM, IHS, EHF y LP.

Actividad antioxidante total

Los datos de actividad antioxidante de los extractos evaluados frente al radical DPPH (figura 2) muestran que, para la mayoría de los extractos, el efecto es concentración dependiente, alcanzado la máxima actividad a la concentración de 500 µg/mL. Un comportamiento similar fue observado con el control positivo, quercetina. Sin embargo, cabe destacar que a bajas concentraciones (31.25 y 62.5 µg/mL) la IHS desarrolló una actividad inhibitoria de DPPH mayor que la generada por quercetina (62,2-72,2 % y 22,9-44,2 %, respectivamente). A concentraciones superiores, la capacidad antirradicalaria para este extracto disminuyó. Los efectos inhibitorios frente al radical DPPH alcanzados por los extractos ISI e ISM a la concentración de 500 µg/mL, fueron de 71.5 y 60.1 %, respectivamente. El extracto EHF no mostró capacidad para reducir la presencia del radical a las concentraciones ensayadas.



ISI: Infusión semilla inmadura, ISM: Infusión semilla madura, IHS: Infusión hojas secas, EHF: Extracto acuoso hojas frescas
Fig. 2- Actividad antioxidante total evaluada para muestras de Icaco.

Actividad antibacteriana

Todas las cepas bacterianas evaluadas fueron sensibles a las muestras de icaco. La mayor inhibición la presentaron el licuado de pulpa (LP, 13.66 mm) y la infusión de hojas secas (IHS, 13.33 mm) a una [c] de 160 mg/mL frente a *Staphylococcus spp.* Para *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones evaluadas de los diversos extractos, todos valores de inhibición mostraron entre 7,66 y 6,33 mg/mL. La selectividad mostrada por ambos extractos hacia *Staphylococcus spp.* se corroboró realizando un ensayo de dilución en caldo nutritivo a concentraciones en el rango de (0,0625 a 60 mg/mL), donde la Concentración Mínima Inhibitoria observada fue de 20 mg/mL para la infusión de hojas secas y 40 mg/mL para el licuado de pulpa.

Discusión

Los resultados obtenidos de las pruebas de tamizaje fitoquímico coinciden en gran parte con los estudios reportados para esta planta.^(15,16) Se encontró que no existe variación significativa para la presencia de metabolitos secundarios en los extractos metanólicos y acuosos de las hojas frescas y secas. Por otra parte, la infusión presentó componentes químicos más polares como polifenoles y taninos hidrolizables, lo que puede indicar que los metabolitos volátiles en las hojas frescas son minoritarios; según Vargas y otros,⁽¹⁷⁾ en el aceite esencial de Icaco se reportó la presencia de lupeol, un triterpeno como componente mayoritario y otros metabolitos similares característicos de la familia *Chrysobalanaceae*. La presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, triterpenos y esteroides detectados en el extracto metanólico de las hojas por las pruebas de tamizaje fitoquímico, guarda relación con lo reportado por Carnevale y otros, quienes señalan a la miricetina y sus derivados como marcadores taxonómicos para la mayoría de las especies de la familia *Chrysobalanaceae*, así como al ácido

pomólico, un triterpeno para la especie *Chrysobalanus venezuelanus*, hallado en la hoja de *Chrysobalanus icaco*.⁽¹⁸⁾

La IHS de Icaco presentó alto contenido de polifenoles totales ($57,75 \pm 9,02$ mg/mL), estos valores son comparables con los publicados por da Silva et. al para infusión de Icaco ($51,30 \pm 2,71$ mg/mL).⁽¹⁹⁾ De igual forma, la prueba de actividad antioxidante total mostró que el extracto de las hojas secas es el de mayor inhibición, con valores superiores a los de la Quercetina, a concentraciones menores de $125,0 \mu\text{g/mL}$. Estos resultados apoyan el uso de la infusión de las hojas secas de esta planta en la medicina tradicional.

Los resultados del análisis de los frutos mostraron que existen grandes diferencias entre el contenido de carbohidratos de los frutos inmaduros (verdes) con respecto al fruto maduro (rojo), ya que en el primero la semilla posee un alto contenido de una mezcla de azúcares reductores y no reductores, además de una estructura hueca; mientras que las semillas de fruto maduro han perdido gran parte de su contenido de azúcares, posiblemente porque pasaron a la pulpa del fruto y, además, se observó la formación de una almendra diminuta en el interior de las semillas. Sin embargo, no se pudo comparar con datos de la literatura sobre esta misma especie, ya que no se encontró ningún estudio que evaluara la semilla inmadura de Icaco.

Por otro lado, se ha reportado que la semilla posee un alto contenido de ácidos grasos en concordancia con la muestra de semilla madura estudiada,⁽²⁰⁾ donde se detectó en la almendra, no así en la cascara de Icaco. Un hecho interesante, es que en los estudios previos citados sobre la semilla de Icaco no se menciona si trabajaron con la semilla completa o separando la almendra de la cascara.^(18,20)

Finalmente, se ha señalado que extractos de hojas de *C. icaco* L. en diversos solventes presentaron actividad contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, por lo que los resultados obtenidos respecto a la acción selectiva hacia la cepa de *Staphylococcus spp.* refuerzan el uso medicinal de esta especie como agente antibacteriano.^(6,9)

Los tipos de metabolitos secundarios hallados en las hojas coinciden, en gran medida, con lo reportado en la literatura, estando constituidas mayormente por terpenos, flavonoides, taninos, glicósidos cardiotónicos y saponinas.

La hoja seca de icaco es la parte de la planta que presentó mejor perfil químico, así como una mayor cantidad de polifenoles totales, actividad antioxidante y actividad antibacteriana contra *Staphylococcus spp.*, lo cual podría estar asociado a su uso medicinal.

La composición de azúcares presente en la semilla de la planta varió dependiendo del estado de maduración en el que se encontraban, fue mucho más abundante en la etapa inicial, lo cual plantea que esos azúcares posteriormente pasan a la pulpa, y esto podría vincularse con el valor nutritivo de este fruto.

Agradecimientos

Agradecemos a la Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología de Panamá (SENACYT) a través del proyecto ITE16-R1-016, a la Vicerrectoría de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Chiriquí, a la Fundación L'Oréal Panamá y a la Vicerrectoría de Investigación y Posgrado de la Universidad de Panamá por el apoyo económico para esta investigación.

Al Laboratorio de Microbiología y a la Escuela de Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad Autónoma de Chiriquí, por la realización de los ensayos antibacterianos y por el uso del equipo de espectroscopía Ultravioleta-Visible, respectivamente.

Referencias bibliográficas

1. Martínez A, Terán YM, Barazarte H, Petit-Jiménez D, D'Aubeterre R. Propiedades fisicoquímicas de la pulpa y semilla de Icaco (*Chrysobalanus icaco* L.) para su aprovechamiento agroindustrial. *Revista ASA*. 2016;7:66-82.
2. Fonseca-Kruel VS, Rodrigues Neves ME, Dunn de Araujo DS, Prance GT. Ethnobotany of Bajiru (*Chrysobalanus icaco* L.) in a coastal vegetation of Southeastern Brazil. *Research Square*. 2020 [acceso: 03/03/2020];1:1-17. Disponible en: <https://www.researchsquare.com/article/rs-12030/v1>
3. Bastos Silva JP, Maués Noronha Peres AR, Portal Paixão T, Silva ASB, Baetas AC, et al. Antifungal Activity of Hydroalcoholic Extract of *Chrysobalanus icaco* against oral clinical isolates of *Candida* species. *Pharmacognosy Res*. 2017;9(1):96-100.
4. Edema MO, Omogbai EK, Afijabi SA, Idaewor, PE. Pathological Changes Induced by *Chrysobalanus icaco* Seeds. *Nig. J. of Health and Biomed Sc*. 2007;6(1):35-37.
5. White PAS, Cercato LM, Batista VS, Camargo EA, De Lucca Jr W, Oliveira AS, et al. Aqueous extract of *Chrysobalanus icaco* leaves in lower doses, prevent fat gain in obese high-fat fed mice. *J Ethnopharmacology*. 2016;(179):92-100.
6. Oliveira Barbosa AP, de Oliveira Silveira G, Cortez de Menezes IA, Rezende Neto JM, Leal JB, dos Santos E. C, et al. Antidiabetic Effect of the *Chrysobalanus icaco* L. Aqueous Extract in Rats. *J Med Food*. 2013;16(6):538-43.
7. Pinto NEN, Prance GT, Poppi RJ, Fracassi da Silva JA. Chemotaxonomic study of *Chrysobalanus icaco* Linnaeus (Chrysobalanaceae) using ultra-high performance liquid chromatography coupled with diode array detection fingerprint in combination with multivariate analysis. *J Sep Sci*. 2017;40:2161-9.
8. Gustafson KR, Munro MHG. HIV inhibitory natural products: 3. Diterpenes from *Homalanthus acuminatus* and *Chrysobalanus icaco*. *Tetrahedron*. 1991;47(26):4547-54.
9. Castilho RO, Kaplan MAC. Phytochemical study and antimicrobial activity of *Chrysobalanus icaco*. *Chem Nat Compd*. 2011; 47(3):436.
10. Davies RM, Zibokere DS. Engineering Properties of Gbafi lo (*Chrysobalanus icaco*) Fruits and Kernels Preparatory to Primary Processing. *Agricultura Tropica Et Subtropica*. 2012;45(2):519-55.
11. Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Latha YL. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plant's extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2011;8(1):1-10.
12. Balamurugan V, Fatima S, Velurajan S. A guide to phytochemical analysis. *Int. J Adv Res Inn Ideas In Ed*. 2019;5(1):236-45.
13. Gracia Nava MA. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. 2007 [acceso: 03/03/2020]. Disponible en: https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf
14. Lin, HY, Chou C. Antioxidative activities of water-soluble disaccharide chitosan derivatives. *Food Research International*. 2004;37(9):883-9.

15. Alves-Feitosa E, Xavier HS, Perrelli K. Chrysobalanaceae: traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Rev Bras Farmacogn. 2012; 22 (5):1181-6.
16. Araújo-Filho HG, Santos Dias JD, Quintans-Júnior LJ, Santos MRV, White PAS, Barreto RSS, *et al.* Phytochemical screening and analgesic profile of the lyophilized aqueous extract obtained from *Chrysobalanus icaco* leaves in experimental protocols. Pharmaceutical Biology. 2016;54(12):3055-62.
17. Vargas CE, Mendes, MF, Azevedo DA, Pessoa FLP, Uller AC. Extraction of the essential oil of abajeru (*Chrysobalanus icaco*) using supercritical CO₂. J Supercritical Fluids. 2009;54(2):171-7.
18. Carnevale F, Pilon A, Da Silva V, Castro-Gamboa I. Chrysobalanaceae: Secondary metabolites, ethnopharmacology and pharmacological potential. Phytochem Rev. 2013;12:121-46.
19. Da Silva Port's P, Campos Chisté R, Teixeira Godoy H, Prado MA. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. Food Research International. 2013;875-81.
20. Medeiros de Aguiara T, Luob R, Almeida Melloc A, Azevedo-Meleiroc CH, Ubirajara Oliveira A, Sabaa-Srur, *et al.* Chemical Characterization of Cocoplum (*Chrysobalanus icaco* L) Seed Oil and Seeds. Journal of Regulatory Science. 2017;5(2):15-28.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Contribuciones de los autores

Eriberto Villagra: Realizó los análisis fitoquímicos, la purificación de las muestras y ensayo antimicrobiano. Aprobó la versión final del manuscrito.

Edmond Quintero: Realizó los análisis de actividad antioxidante. Aprobó la versión final del manuscrito.

Aldahir Mero: Realizó los análisis de actividad antioxidante. Aprobó la versión final del manuscrito.

Estela Guerrero De León: Realizó el análisis estadístico de los datos de actividad biológica y escritura del texto. Aprobó la versión final del manuscrito.

Juan A. Morán-Pinzón: Realizó el análisis estadístico de los datos de actividad biológica y escritura del texto. Aprobó la versión final del manuscrito.

Jorge A. Palermo: Realizó los análisis espectroscópicos y revisión del texto. Aprobó la versión final del manuscrito.

Laura P. Patiño Cano: Realizó la escritura del texto y revisión del análisis fitoquímico. Aprobó la versión final del manuscrito.