

# TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS DE SEIS PLANTAS MEDICINALES USADAS EN AMAZONAS

María del Pilar Rodríguez-Quezada<sup>1</sup>

Oscar Andrés Gamarra-Torres<sup>2</sup>

Fredy Romel Pérez-Azahuanche<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Licenciada de Enfermería, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Amazonas, Perú.

<sup>2</sup> Biólogo, Facultad de Ingeniería Civil y Ambiental, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Amazonas, Perú.

<sup>3</sup> Ingeniero Químico, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Privada Antenor Orrego, La Libertad, Perú.

Autor corresponsal: María del Pilar Rodríguez

E-mail: pilar.rodriguez@untrm.edu.pe

Recibido: 19/7/2020

Aceptado: 27/11/2020

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue identificar cualitativamente los metabolitos secundarios y evaluar la actividad antibacteriana de los extractos acuosos y alcohólicos de *Passiflora ligularis*, *Sambucus peruvianus*, *Desmodium molliculum*, *Urtica dioica*, *Malva silvestris* y *Lomatia ligularis* sobre *Escherichia coli* y *Pseudomonas aureginosa*, responsables de infecciones urinarias y puerperales. El tamizaje fitoquímico reveló presencia de esteroides, flavonoides, taninos y antocianinas en la mayoría de las plantas. Los extractos alcohólicos de *Sambucus peruvianus* y *Lomatia ligularis* mostraron cierto efecto antibacteriano sobre *Pseudomonas aureginosa*; pero la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* fue mayor con los extractos alcohólicos de *Desmodium molliculum* y *Passiflora ligularis*.

**Palabras clave:** plantas medicinales, metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana.

# PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE EXTRACTS OF SIX MEDICINAL PLANTS USED IN AMAZON

## ABSTRACT

The objective of the study was to qualitatively identify the secondary metabolites and to evaluate the antibacterial activity of the aqueous and alcoholic extracts of *Passiflora ligularis*, *Sambucus peruvianus*, *Desmodium molliculum*, *Urtica dioica*, *Malva silvestris* and *Lomatia ligularis* on *Escherichia coli* and *Pseudomonas aureginosa*, responsible for urinary and puerperal infections. The phytochemical screening revealed the presence of steroids, flavonoids, tannins, and anthocyanins in most plants. The alcoholic extracts of *Sambucus peruvianus* and *Lomatia ligularis* showed a certain antibacterial effect on *Pseudomonas aureginosa*; but the inhibition of the growth *Escherichia coli* was greater with the alcoholic extracts of *Desmodium molliculum* and *Passiflora ligularis*.

**Keywords:** medicinal plants, secondary metabolites, antimicrobial activity.

## INTRODUCCIÓN

Los reportes muestran a *Pseudomonas aureginosa* y *Escherichia coli* como los principales agentes de morbilidad en diferentes edades y sistemas humanos (1). A ello se suman las consecuencias de la automedicación con antibióticos, es decir la exposición innecesaria de una cepa bacteriana a un antibiótico (2). Estudios en nacionales e internacionales han encontrado que tanto *Escherichia coli* como *Pseudomonas aureginosa* han presentado resistencia a cefalosporinas de la primera hasta la tercera generación y otros antibióticos (3,4), posiblemente asociada a la automedicación en poblaciones de rurales (5). Ante esta situación de salud pública, las plantas medicinales son una alternativa de la medicina natural contra microorganismos con alta resistencia antibiótica (6) por los efectos bactericidas o bacteriostáticos de los metabolitos secundarios que hay en ellas (7).

Perú tiene aproximadamente el 10% de las especies de flora del mundo, 1000 son nativas, 900 son amazónicas (8). La población de Amazonas usa la flora para tratar diversas dolencias e infecciones. *Passiflora ligularis*, *Sambucus peruvianus*, *Desmodium uncinatum*, *Urtica dioica*, *Malva silvestris* y *Lomatia ligularis* fueron elegidas para evaluar cualitativamente su composición fitoquímica y actividad antibacteriana ya que los agentes de medicina tradicional de la región amazónica las usan para tratar infecciones urinarias y puerperales.

## MATERIAL Y MÉTODO

### Diseño

Investigación aplicada de diseño experimental *in vitro* con dos grupos experimentales: cepas de bacterias gramnegativas. *E. coli* y *P. aureginosa* -obtenidas del Laboratorio Referencial de la Dirección Regional de Salud de Amazonas- usándose 24 extractos vegetales de *Passiflora ligularis* 'granadilla', *Sambucus peruvianus* 'sauco', *Desmodium molliculum* 'pie de perro', *Urtica dioica* 'ortiga', *Malva silvestris* 'malva' y *Lomatia ligularis* 'palpar', para realizar el tamizaje fitoquímico, y 18 extractos acuosos y 18 extractos alcohólicos para observar el efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano.

### Material vegetal

Hojas y tallos de malva y pie de perro en la localidad de Chachapoyas; granadilla, ortiga y sauco en Huancas y palpar en Levanto. Luego se identificaron taxonómicamente, recolectadas manualmente entre los meses de abril y agosto.

### Preparación de extractos vegetales para el perfil fitoquímico

Molienda y pesaje de 5 g del material vegetal seco para cuatro muestras por cada especie, empacadas con papel filtro y colocadas en vasos de precipitados de 150 ml. Se añadió 30-40 ml del disolvente (cloroformo, etanol al 96%, agua o HCl al 1%) a cada muestra, se taparon y calentaron en baño maría por 5 minutos (para HCl al 1%, fueron 10 minutos).

### Pruebas cualitativas de gota a gota

A los cuatro extractos de cada especie vegetal se les agregó el reactivo indicado para determinar cualitativamente el metabolito secundario (9).

- a) Ensayos con extracto diclorometánico o clorofórmico.
  - Ensayo de Liebermann-Burchard: el cambio de color a rosado-azul muy rápido, verde intenso aunque rápido, verde oscuro, es positivo para esteroides por la oxidación.
  - Ensayo Borntrager: el color rosado (++) o rojo (+++) es positivo para quinonas.
- b) Ensayos con extracto metanólico o etanólico.
  - Ensayo de Shinoda: si existe flavonoide, lo reduce, cambiando a color amarillo, anaranjado, rojo o violeta intensos.
  - Ensayo Kedde: el color azul, rosa, violeta es positivo para glucósidos cardiotónicos.
  - Ensayo de Cloruro férrico: la coloración verde-azul es positivo para taninos.
- c) Ensayos con extracto acuoso.
  - Prueba de espuma: en un tubo de ensayo se adicionan 5 ml de agua al extracto vegetal (1 ml), si aparece espuma en la superficie del líquido >2cm de altura y permanece por más de 2 minutos, es positiva la prueba.
  - Ensayo de antocianinas: se hizo la prueba de pH, la coloración azul o verde es una reacción positiva.
- d) Ensayos con extracto ácido (HCl al 1%).
  - Ensayos Dragendorff, Meyer y Wagner: la turbidez o precipitados rojo a naranja, blanco a crema y marrón, significan presencia de alcaloides.

### Ensayo *in vitro* de la actividad antibacteriana

Las muestras vegetales se identificaron, seleccionaron, secaron en el horno a 40°C, molieron con mortero y pesaron 20 g para cada muestra. El extracto acuoso se preparó con 20 g de la muestra vegetal y 100 ml de agua destilada, sometiéndose a ebullición por 5 minutos, se

dejó reposar por 20 minutos, filtró y usó. El extracto alcohólico se preparó con 20 g de la muestra vegetal y 100 ml de etanol 70%, se maceró por 5 días, filtró, calentó en estufa a 37°C y esterilizó con radiación ultravioleta por 24 horas. *Echericha coli* fue cultivada en Mc Conkey y *Pseudomona aureginosa* en el medio de cultivo Nutrient Agar. Luego se realizó la prueba de difusión en disco según los estándares internacionales, para determinar la concentración inhibitoria mínima de las bacterias, con 3 repeticiones, promediando los valores obtenidos en cada caso.

### Inhibición del crecimiento bacteriano

Establece rangos del diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano: < 6 mm=sin actividad antimicrobiana; 6-8 mm=baja actividad antimicrobiana; 8-10 mm=actividad antimicrobiana media; 10-14 mm=alta actividad antimicrobiana (10).

### Análisis de datos

Los datos se procesaron en el software Excell, analizados con estadísticos descriptivos y presentados en tablas y figuras. El efecto de inhibición de cada extracto respecto al generado por el antibiótico (control positivo) se calculó con la fórmula (11):

$$\% \text{ Efecto de Inhibición} = \frac{\text{diámetro medio del halo de inhibición del extracto}}{\text{diámetro medio del halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

La investigación fue revisada por una comisión de investigación de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

## RESULTADOS

Lo agentes tradicionales de las localidades donde se recogieron las muestras, usan las hojas y tallos de las plantas medicinales escogidas (Fig. 1) en infusión para tratar inflamación urinaria, dolor abdominal bajo, retención de orina e infecciones puerperales. Usan mezclas hervidas del tallo de 'cola de caballo', granos de 'cebada' y hojas de 'pie de perro' para la infección urinaria.

La caracterización taxonómica y el tamizaje fitoquímico de cada especie vegetal se muestra en la Tabla I. Se encontraron esteroides, flavonoides, cardiotónicos, taninos y antocianinas en *Passiflora ligularis* A. L. Juss, *Lomatia ligularis* y *Sambucus peruvianus* H.B.K., quinonas en *Lomatia ligularis*, cardiotónicos en la mayoría de especies vegetales, excepto en *Desmodium molliculum* y *Urtica dioica*. Los extractos alcohólicos de *Sambucus peruvianus* H.B.K. y *Lomatia ligularis* tuvieron cierta actividad antimicrobiana sobre *P. aureginosa*, según el promedio de

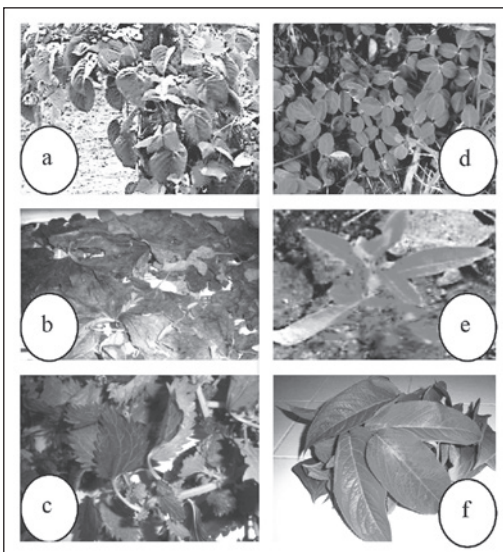


Figura 1. a) *Passiflora ligularis*, b) *Malva silvestris*, c) *Urtica dioica*, d) *Desmodium molliculum*, e) *Lomatia ligularis*, f) *Sambucus peruvianus*.

diámetro de inhibición (Fig. 2) y porcentaje de inhibición bacteriana (Fig. 3).

La actividad antibacteriana sobre *E. coli* fue alta con extracto alcohólico *Desmodium molliculum*, media con *Passiflora ligularis* y baja con *Lomatia ligularis*. El promedio de diámetro de inhibición y porcentaje de inhibición bacteriana se pueden ver en las Figuras 4 y 5.

## DISCUSIÓN

El género *Passiflora* es una especie tropical, nativa de la amazonia peruana (12). Los resultados de *Passiflora ligularis* A.L. Juss sobre *E. Coli* concuerda con lo reportado en la solución hidroalcohólica 70% a 5000 ppm de *Passiflora ligularis* de los municipios Gigante y Palestina de Colombia (13).

La presencia de ciertos metabolitos secundarios en *Passiflora ligularis* A.L. Juss, *Lomatia ligularis* y *Sambucus peruvianus* H.B.K. serían los responsables de la actividad antibacterial. Los taninos afectan el medio donde los microorganismos crecen (14), los flavonoides tienen actividad en la pared celular de las bacterias (15) y las saponinas desnaturalizan la membrana celular (16).

Reportes de actividad antimicrobiana de extractos crudos de *Urtica dioica* sobre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (17) explicarían los resultados negativos de los extractos alcohólicos y acuosos de las hojas y tallos de *Urtica dioica* sobre *E. coli* y *P. aureginosa*.

Tabla I. Taxonomía y tamizaje fitoquímico de las hojas y tallos de seis plantas medicinales usadas en Amazonas.

Extractos	Metabolitos secundarios							Taxonomía	
	Q	E	F	C	T	An	S		A
<i>Passiflora ligularis</i> A. L. Juss									
CHCl <sub>3</sub>	-	++							División: angiospermac Clase : magnoliopsida
EtOH			+	+++	+++				Orden : passiflorales
H <sub>2</sub> O						++	+		Familia : passifloraceae
HCl 1%								-	Género : passiflora Especie : ligularis
<i>Malva silvestris</i>									
CHCl <sub>3</sub>	-	+							División : magnoliophyta Clase : magnoliopsida
EtOH			+	+	+				Orden : malvales
H <sub>2</sub> O						-	-		Familia : malvaceae
HCl 1%								-	Género : malva Especie : silvestris
<i>Urtica dioica</i>									
CHCl <sub>3</sub>	-	+							División : magnoliophyta Clase : magnoliopsida
EtOH			+	-	+				Orden : rosales
H <sub>2</sub> O						+	+-		Familia : urticaceae
HCl 1%								-	Género : urtica Especie : dioica
<i>Desmodium molliculum</i>									
CHCl <sub>3</sub>	-	+							División : angiospermac Clase : magnoliopsida
EtOH			+	-	+				Orden : rosales
H <sub>2</sub> O						++	-		Familia : fabaceae
HCl 1%								-	Género : desmodium Especie : uncinatum
<i>Lomatia ligularis</i>									
CHCl <sub>3</sub>	+	+							División : angiospermac Clase : magnoliopsida
EtOH			++	++	+++				Orden : proteales
H <sub>2</sub> O						+-	-		Familia : proteasceae
HCl 1%								-	Género : lomatia Especie : ligularis
<i>Sambucus peruvianus</i>									
CHCl <sub>3</sub>	-	+							División : angiospermac Clase : magnoliopsida
EtOH			++	+++	+++				Orden : dipsacales
H <sub>2</sub> O						++	-		Familia : caprifoliaceae
HCl 1%								-	Género : sambucus Especie : peruvianus

Q=Quinonas; E=Esteroides; F=Flavonoides; C=Cardiotónicos; T=Taninos; An=Antocianinas  
S=Saponinas; A=Alcaloides; (+)=Presencia de metabolito secundario; (-)=Ausencia de metabolito secundario.

Debería realizarse ensayos con otras bacterias para comprobar su beneficio antimicrobiano.

La sensación de bienestar con el uso tradicional de la 'malva' para el dolor abdominal bajo y la retención de orina, síntomas de la infección urinaria, se debería a la presencia de esteroides y flavonoides en sus hojas, por sus propiedades antiinflamatorias y diuréticas (15).

Los porcentajes del efecto inhibitorio de extractos híbridos de *Morus alba* L sobre *E. coli* y *P. aureginosa*, fueron menor al 50%, comparados con la ceftazidima (11); superado por *Desmodium molliculum* frente a gentamicina, posiblemente por el efecto de los esteroi-

des sobre la selectividad de la membrana citoplasmática y la naturaleza coloidal del protoplasma de la célula bacteriana (15), los taninos causan astringencia de la célula bacteriana y los flavonoides afectan su membrana celular (16).

*Sambucus peruviana* H.B.K., planta nativa de Perú (18), tiene metabolitos secundarios que coinciden con lo reportado en el extracto etanólico de las hojas de *Sambucus peruviana* Kunth (19) y la actividad antimicrobiana en extractos de flores y hojas de esta planta (20).

Los taninos, al secar y desinflamar la mucosa del tracto intestinal, son eficaces en la diarrea y cólicos; son vaso-

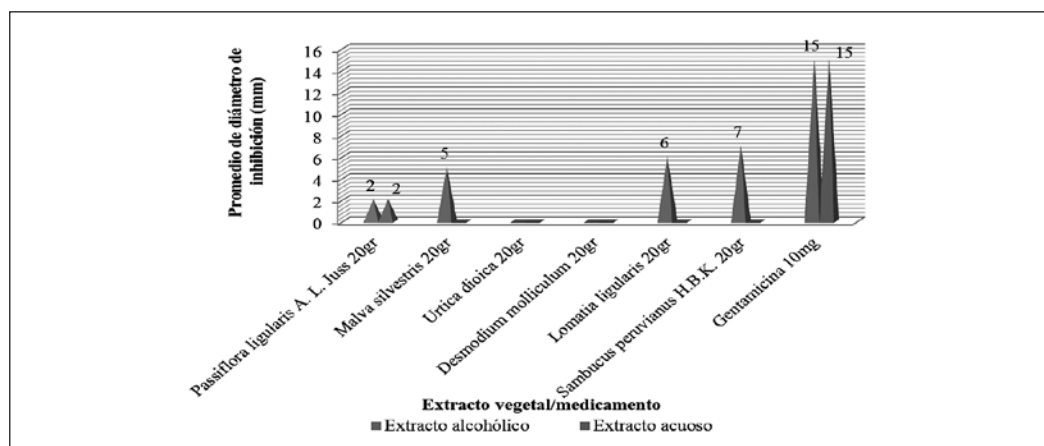


Figura 2. Promedio de diámetro de inhibición de crecimiento de *P. aureginosa* con extractos vegetales y medicamento control.

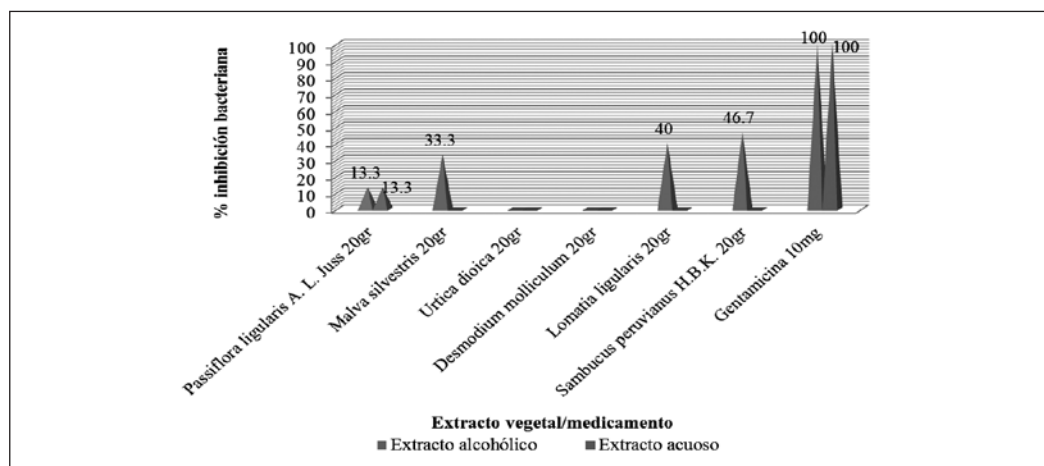


Figura 3. Porcentaje de inhibición de crecimiento de *P. aureginosa* con extractos vegetales y medicamento control.

constrictores, antioxidantes, antidiabéticos, antimutagénicos, antimicrobianos (21). Los agentes tradicionales usan 'palpar' para el cólico abdominal. *Lomatia ligularis*. 'Palpar' fue la única que presentó quinonas, ya que por su propiedad ácido-base es antibacteriana, antifúngica, antipalúdica y anticancerígena (22), concordante con la actividad antibacteriana encontrada.

## CONCLUSIÓN

Los extractos alcohólicos de las hojas de *Sambucus peruvianus* H.B.K. y *Lomatia ligularis* tuvieron mayor actividad antibacteriana sobre *P. aureginosa*, así como *Desmodium molliculum* y *Passiflora ligularis* A.L. Juss sobre *E. coli*.

El extracto alcohólico de *Desmodium molliculum* superó el 50% de efecto inhibitorio comparado con gentamicina.

## BIBLIOGRAFIA

- Rincón H, Navarro K. Tendencias en la resistencia a los antimicrobianos en patógenos aislados de infecciones nosocomiales. Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc. 2016; 54 (1): 32-41.
- Acosta J, Verástegui C, Iglesias S, Moreno M, Failoc V. Efecto inhibitorio, in vitro del extracto etanólico de *Plantago major* 'llantén' frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y streptococcus β-hemolíticos. Rev Med Natur. 2019; 13 (2): 7-11.

3. Díaz LM, Medina M, Duque AC, Miguélez R. Susceptibilidad antimicrobiana en muestras clínicas de pacientes con infecciones asociadas a la atención de salud. *Rev Haban Cienc Med*. 2017; 16(3):337-51.
4. Rajabi M, Abdar ME, Rafiei H, Aflatoonia MR, Abdar ZE. Infecciones nosocomiales y epidemiología de la resistencia a los antibióticos en hospitales universitarios en el sureste de Irán. *Glob. J. Health Sci* [Internet]. 2016 [citado 07 abril 2020]; 8 (2): 190-7. Recuperado a partir de: <http://dx.doi.org/10.5539/gjhs.v8n2p190>.
5. Asmat PE, Peña HH, Ruiz WB, Lezama PB. Detección de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos de tres hospitales de la ciudad de Trujillo-Perú, noviembre 2014. *Pblo Continente*. 2015; 26(1): 13:51.
6. Hernández J, Zaragoza A, López G, Peláez A, Olmedo A, Rivero N. Actividad antibacteriana y en nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico veterinario* [Internet]. 2018 [citado 29 marzo 2020]; 8 (1): 14-27. Recuperado a partir de: <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>.
7. Arce Z, Barrera A, Herrera E, Suárez MG, Rojas D, Suclupe E, Iglesias S. Efecto inhibitorio del extracto de semilla de *Moringa oleifera* sobre *Escherichia coli*  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido. *Rev Med Natur*. 2020; 14 (1):91-4.
8. Solís PL, Tapia LK. Prácticas relacionadas con el uso de plantas medicinales en el trabajo de parto y puerperio puesto de Salud Miramar-Región La Libertad abril 2015 [tesis en Internet]. [Trujillo]: Universidad Privada Antenor Orrego; 2015 [citado 18 de abril de 2020]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/1121>.
9. Clavijo N, Cruz B. Análisis Fitoquímico Preliminar *Pachira quinara* (Jacq.) W.S. Alverson. Semillas ambientales. 2017; 30-9.
10. Ríos N, Medina G, Jiménez J, Yáñez C, García M, Di Bernardo M, Guaitía M. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de algas venezolanas. *Rev Peru Biol*. 2009; 16 (1): 97-100.
11. Díaz M, Lugo Y, Fonte L, Castro I, López O, Montejó I. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de hojas frescas de *Morus alba* L. *Pastos y forrajes*. 2017; 40 (1): 43-8.
12. Cuya E, Escobedo J. Injerto de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) sobre maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) utilizando dos secciones de brotes de plantas adultas, dos tipos de injerto y dos cámaras húmedas individuales. *Anales Científicos* [Internet]. 2018 [citado 20 mayo 2020]; 79 (2): 431-5. Recuperado a partir de: <http://dx.doi.org/10.21704/ac.v79i2.918>.
13. Cabrera SA, Sandoval AP, Forero F. Potencial antioxidante y antimicrobiano de extractos acuosos e hidroalcológicos de granadilla (*Passiflora ligularis*). *Acta Agronómica* [Internet]. 2014 [citado 29 marzo 2020]; 63 (3): 204-11. Recuperado a partir de: DOI: <https://doi.org/10.15446/acag.v63n3.41976>.
14. Noles TL. Evaluación de la capacidad antibacteriana de los taninos extraídos del banano verde (*Musa sp*); rechazo de las bananeras frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600. [tesis en internet]. [Cuenca]. Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca, 2018; [citado 18 junio 2020]. Recuperado a partir de: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16597>.
15. Bonilla JA, Gonzales EJ, Iglesias S, Vergara ME. Efecto inhibitorio in vitro del extracto líquido de *Musa acuminata* frente a *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina y evaluación de la toxicidad en *Artemia salina*. *Rev Med Natur*. 2020; 14 (1): 95-100.
16. Más D, Martínez Y, Rodríguez R, Pupo G, Rosabal O, Olmo C. Análisis preliminar de metabolitos secundarios de polvos mixtos de hojas de plantas medicinales. *Rev Cubana Plant Med*. 2017; 22 (1): 1-9.
17. Pomboza P, QuisintuñavL, Dávila M, Llopis C, Vásquez C. Hábitats y usos tradicionales de especies de *Urtica*. en la cuenca alta del río Ambato, Tungurahua-Ecuador. *J. Selva Andina Biosph* [Internet]. 2016 [citado 18 marzo 2020]; 4(2): 48-58. Recuperado a partir de: [http://www.scielo.org/bo/pdf/jsab/v4n2/v4n2\\_a02.pdf](http://www.scielo.org/bo/pdf/jsab/v4n2/v4n2_a02.pdf).
18. Roman A, Lannacone J, Alvaríño L. Efecto tóxico de saúco, *Sambucus peruviana* (*caprifoliaceae*), en *Daphnia magna*, *Silophilus zeamais* y *Copidosoma koehleri* en Perú. *Chilean J. Agric. Anim. Sci.* [Internet]. 2017 [citado 18 marzo 2020]; 33 (1): 3-13. Recuperado a partir de: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902017005000101>.
19. Ruiz SG, Venegas E, Ruidías D, Horna L, López CW. Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de *Sambucus peruviana* H.B.K. (sauco) proveniente de la ciudad de Huamachuco. *Rev Farmaciencia* [Internet]. 2013 [citado 23 mayo 2020]; 1(2):57-64. Recuperado a partir de: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/464/4191>.
20. Borgo JR, Trujillo RP. Efecto antiinflamatorio del gel a base del extracto etanólico de las hojas de *Sambucus peruviana* Kunth (anciano) en ratas albinas. [tesis en internet]. [Lima]: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018 [citado 23 mayo 2020]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2425>.
21. Martínez Y, Martínez O, Olmos E, Siza S, Betancur C. Efecto nutracéutico de *Anacardium occidentale* en dietas de pollitos ponedores de reemplazo. *Revista MVZ Córdoba*. 2012; 17 (3): 3125-32.
22. Leyva E, Loredó SE, López LI, Escobedo EG, Navarro G. Importancia química y biológica de las naftoquinonas. *Afinidad*. 2017; 74 (577): 36-50.