

## **Poliextractos de plantas medicinales vs bacterias asociadas a infecciones respiratorias agudas (IRAS)**

Rosa Iris Mayo Tadeo<sup>1</sup>  
Mónica Espinoza Rojo<sup>1</sup>  
Javier Jiménez Hernández<sup>1</sup>  
Flaviano Godínez Jaimes<sup>2</sup>  
Agustín Damián Nava<sup>3</sup>  
Dolores Vargas Álvarez<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Guerrero-Facultad de Ciencias Químico Biológicas y Biomédicas-CU. Avenida Lázaro Cárdenas s/n, col. La haciendita, Chilpancingo de los Bravo, México. CP. 39090. (roxina071.iris@hotmail.com; monespinoza@yahoo.com; jjimenezuagro@gmail.com). <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Guerrero-Facultad de Matemáticas. Avenida Lázaro Cárdenas s/n, col. La haciendita, Chilpancingo de los Bravo, México. CP. 39090. (fgodinezj@gmail.com). <sup>3</sup>Universidad Autónoma de Guerrero-Facultad de Ciencias Agrícolas y Ambientales. Iguala de la Independencia, Guerrero, México. (agudana@yahoo.com.mx).

§Autora para correspondencia: dvargas@uagro.mx.

### **Resumen**

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo el modelaje para la elaboración de la formulación de un jarabe a base de extractos vegetales de bugambilia, eucalipto, canela, caléndula e ítamo para inhibir el crecimiento de *S. aureus* y *S. pyogenes*, bacterias asociadas con las infecciones respiratorias. Se determinó por cromatografía la presencia de los metabolitos secundarios en los extractos metanólicos de cada especie, así como también se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos y de los jarabes y su capacidad antioxidante. Se encontró que el extracto de eucalipto es el mejor para inhibir a las bacterias, al igual que en su forma de jarabe y el extracto de canela es el mejor antioxidante.

**Palabras claves:** actividad antibacteriana, actividad antioxidante, extractos vegetales, metabolitos secundarios.

Recibido: junio de 2020

Aceptado: julio de 2020

Desde tiempos antiguos se han usado diferentes métodos de conservación de la salud a través de la herbolaria. Actualmente Francia es el país que más ha repuntado en la obtención de nuevas estrategias de generación de conocimiento sobre los productos naturales, por cada proceso de elucidación de metabolitos para identificar los principios activos (Harbone, 1997).

Sin embargo, desde tiempo inmemorial las culturas indígenas mexicanas han acostumbrado a coleccionar los azahres cada año el primer viernes de marzo en la transición del invierno a la primavera, preámbulo de la floración del 21 de marzo cuando entra con freses la primavera. Es costumbre recabar flores, botones florales y cortezas que se vierten en aceite para masajes o aguardiente para masajes y para tomar, lo que indica que es un solvente sustentable y potable apropiado para el consumo humano.

En las culturas popolucas, náhuatl, mixtecas y tonacas esta mezcla se denomina yolispa, curado, cúralo todo, digestivo, relajante y se acostumbra a guardar en un lugar oscuro y en fosas de tierra, con la finalidad de conservarlo hasta ocuparlo (Argueta *et al.*, 2000). En la construcción del pensamiento científico son poliestractos, que tienen innumerables funciones debido a que traspasan los objetivos de muchos antibióticos desde la actividad antimicrobiana y antioxidante (Márquez *et al.*, 2005).

El desequilibrio que causa estrés oxidativo y el balance del equilibrio de la flora mediante la conjunción de sus metabolitos extraídos en un solvente medianamente polar, esta ventaja comparativa genera la detención del estrés oxidativo, manteniendo estable la salud humana y hasta de cualquier ser vivo, por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo revelar el comportamiento de los extractos de forma individual y combinada en la actividad antimicrobiana y antioxidante.

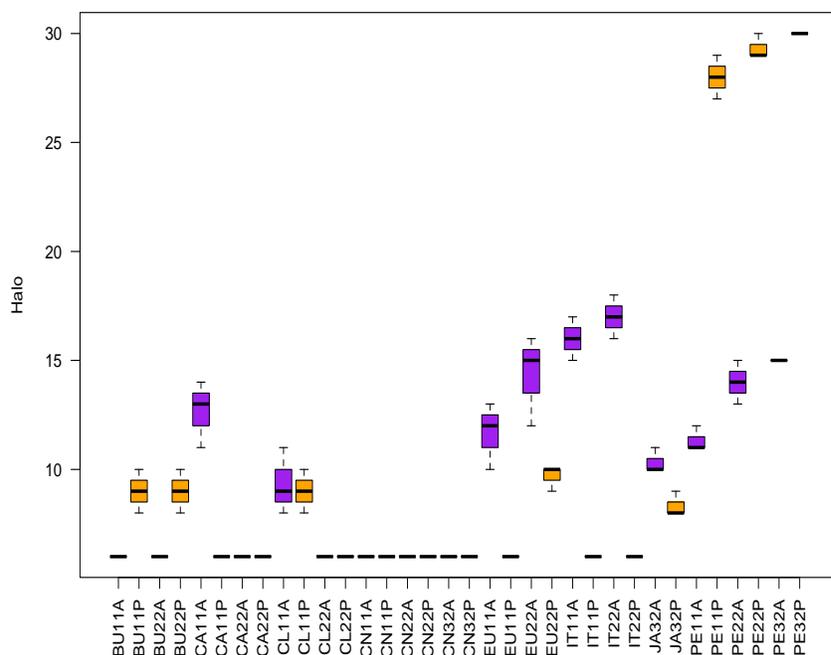
El material vegetal consta de cinco especies de plantas, de las cuales se obtuvieron flores de bugambilia roja y morada, frutos de eucalipto, corteza de canela y hojas de ítamo obtenidos de diferentes lugares. Las muestras fueron coleccionadas en la comunidad de Acahuizotla, Chilpancingo, Guerrero. Se estudiaron dos variedades de caléndula (S2 y S3). Para la canela y eucalipto las plantas se separaron por partes, se lavaron con agua y se secaron a temperatura ambiente.

Para la bugambilia y el ítamo se colocaron en bolsas de papel perforadas en una estufa de convección a 60 °C, volteándolas diario durante tres días. Para la obtención de los extractos se pesaron 60 g de cada muestra, adicionando 500 ml de etanol al 95%, mediante el método de soxhlet a diferentes ciclos de lavado. Una vez obtenidos los extractos, fueron concentrados en un rotavapor hasta obtener un volumen mínimo, para luego dejar secarlos a temperatura ambiente con el fin de evaporar el resto del solvente y así obtener un extracto crudo y se realizó una cromatografía de papel para verificar las bandas de los metabolitos presentes como un control de calidad.

Se utilizaron cepas de bacterias de *S. pyogenes* y *S. aureus*. Se seleccionaron los medios de cultivo agar Mueller-Hinton para *S. aureus* y agar sangre para *S. pyogenes*. Primero se preparó el inóculo de las cepas bacterianas a utilizar, ajustándolos con un nefelómetro de 0.5 de la escala de MacFarland, correspondiente a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  células  $\text{ml}^{-1}$ . La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó con el método de Kirby-Bauer. El control positivo fue un disco de penicilina de 10  $\mu\text{g}$  y el negativo fue un disco con 20  $\mu\text{L}$  de etanol. Cada una de las pruebas se realizó por triplicado. Por otro lado, se determinó la actividad antioxidante de los extractos de cada planta, se realizó por el método del DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo).

Los resultados se expresaron como concentración inhibitoria IC50 (en mg ml<sup>-1</sup>), esto es, la cantidad de sustancia en 1 ml de reacción, necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH. Para la elaboración de un jarabe se realizó el pesaje de todos los componentes de la fórmula, se añadió en el aguamiel de abeja y se agitó suavemente hasta obtener una mezcla homogénea, después se adicionó un colorante (microencapsulado de jamaica variedad tecuanapa producto de un resultado de otra investigación): enseguida se incorporó el saborizante, por último, se añadió el principio activo y se agitó suavemente la mezcla. Para evaluar el efecto inhibitor de las formulaciones obtenidas sobre el crecimiento de las cepas bacterianas, se utilizó la misma metodología realizada para los extractos crudos de las cinco plantas colocando 10 µl en cada disco.

Las medias de los tratamientos de las fórmulas basadas en caléndula tienen medias de halos de inhibición muy pequeñas, por el contrario, algunas fórmulas basadas en penicilina tienen los mejores resultados, esto se aprecia en Figura 1.



**Figura 1. Distribución de los halos de inhibición (cm) de los tratamientos estadísticos estudiados.**

En la Figura 1 se describen los resultados obtenidos del análisis estadístico de los antibiogramas realizados de las muestras utilizadas, con los controles positivo en este caso se utilizó un disco con 10 µg de penicilina y el control negativo fue un disco de papel con 20 µl de alcohol con diámetro de 6 mm. (BU= buganvilias, caléndula, CA= canela, control negativo, eucalipto, itamo, jarabe y penicilina.

Para la cepa de *S. aureus*, el tratamiento BU11A presentó un rango de 24.5 al igual que el control negativo CN11A, mientras que el tratamiento C11A obtuvo el menor rango de inhibición de 60, es decir, que el poder inhibitor de este tratamiento es mínimo. Se observó también que frente a este microorganismo los tratamientos que presentaron un mayor rango fueron: IT11A, seguido de CA11A y EU11A los cuales tuvieron valores de 88.33, 76.5 y 72.5 por arriba del PE11A presentando un rango de 72.33 que se usó como control positivo.

En la Figura 1 para *S. pyogenes*, se muestra que los tratamientos CA22P, CL22P e IT22P no presentaron halos de inhibición teniendo una media de rango igual que el CN22P (control negativo), mientras que los jarabes de BU22P tiene una media de rango de inhibición de 57.83 y el EU22P presentó una media de rango de 62.17, el PE22P (antibiótico) fue el que obtuvo un mayor halo de inhibición esto debido a que es un tratamiento específico para esta bacteria.

En la cepa de *S. aureus*, se observa que los jarabes BU22A, CA22A, CL22A tienen medias de rangos de inhibición de 24.5 al igual que el CN22A (control negativo), por otro lado, los tratamientos de EU22A tiene un valor de 82.83 e IT22A de 91.17 de medias de rango de inhibición mayores que el PE22A teniendo un rango de solo 81 (antibiótico) el cual se utilizó como control positivo.

La muestra del tratamiento PE32P (control positivo), debido que este es un antibiótico específico para estas bacterias, mientras que el jarabe (JA32A) presentó mayor sensibilidad frente a *S. aureus* con un rango de 66.67, en comparación con *S. pyogenes* con un valor de 53.5. En la Figura 1 se muestra que todas las plantas presentaron actividad antioxidante en diferentes grados, siendo la canela la que presentó mayor actividad antioxidante, lo cual se vio reflejado en el análisis estadístico del IC50 (Cantidad de extracto necesaria para reducir 50% del radical), en el cual el mejor antioxidante es aquel del que se necesita una menor cantidad para reducir solo 50% del radical libre (DPPH), como lo muestra el Cuadro 1.

**Cuadro 1. Actividad antioxidante de extractos metanólicos de las plantas.**

Especie	Potencial antioxidante (%)	CI50 (mg) <sup>§</sup>
Canela	100 ±0	0.25 a
Eucalipto	29.9 ±0.3	0.8 c
Caléndula (S2)	33.1 ±0.3	0.7 c
Ítamo	12.1 ±0.8	2.08 d
Bugambilia roja	73.7 ±3.5	0.34 b

±= desviación estándar; §= medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $\alpha= 0.05$ ).

Con base a los resultados obtenidos de la actividad antibacteriana de los extractos frente a *Staphylococcus aureus* se establece que los extractos de canela, ítamo, caléndula y eucalipto (García *et al.*, 2004) funcionan como inhibidores bacterianos contra estas cepas utilizando 20  $\mu$ l (Figura 1). Estudios realizados por Márquez *et al.* (2005) demuestran que el ítamo puede inhibir a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Pseudomonas aeruginosa* con 10 mg ml<sup>-1</sup> de extracto etanólico.

Lu *et al.* (2011) establece que el aceite esencial de canela es fuerte agente antibacteriano frente a *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *S. typhimurium*. Martín *et al.* (2010) en la investigación de composición química y propiedades antimicrobianas del aceite esencial de tres especies de eucalipto demuestran la actividad antibacteriana frente a *S. aureus*. Lastra y Piquet (1999) mostraron la actividad antibacteriana de caléndula especialmente contra *S. aureus*, *S. fecalis*, *S. Schipochliev* y *S. Fleischner*.

El extracto de bugambilia fue el único que no inhibió a la bacteria, tal como se establece en un estudio realizado por Cáceres (1990); Abarca-Vargas y Petricevich (2018), en el que demuestra que los extractos acuoso y etanólico de hojas y flores de bugambilia son inactivos contra *E. coli* y *S. aureus*. Sin embargo, es conveniente utilizar concentraciones mayores del extracto para corroborar la inactividad. *Streptococcus pyogenes* fue sensible a los extractos de eucalipto y bugambilia (Figura 1) presentando resistencia a los demás extractos, esto puede deberse a que la bacteria presenta una cápsula y proteína M, que están asociadas a una mayor virulencia (Alós *et al.*, 2003).

Ávila *et al.* (2006) relacionaron la acción antibacteriana frente a *S. aureus* a la presencia de terpenos y flavonoides en la especie *D. tominse*. Tabares *et al.* (2007) describió que la identificación de triterpenos en una placa revelan la conexión entre su composición química, ya que estos atraviesan la barrera superficial de las bacterias y después se fijan sobre su membrana celular.

La actividad de los flavonoides frente a los microorganismos probablemente se debe a que forman complejos con las proteínas solubles, extracelulares y con las células de la pared bacteriana. Se cree que la actividad antimicrobiana de los taninos se debe a su interacción sobre las adhesinas, proteínas de la pared celular, y a su capacidad de unirse a polisacáridos (Cowan, 1999).

Cabe mencionar, que las formulaciones realizadas presentan un pH variado que va de 5.1 a 5.5 y grados brix de 58.9, valores que están dentro de lo establecido por la NMX-F-169-1984. El pH es uno de los factores de calidad a controlar en los jarabes, tanto como indicadores de las condiciones higiénicas; un valor bajo de este favorece la inactivación de microorganismos (FAO, 2004).

En la evaluación de la actividad antioxidante realizado por el método del DPPH, observamos que el extracto de canela mostró la mayor capacidad antioxidante en 100% a una concentración de 0.1 g ml<sup>-1</sup> de extracto metanólico, así mismo Castañeda *et al.* (2008) demostraron la capacidad antioxidante del extracto de canela obteniendo 90.11% del potencial antioxidante a una concentración 1 ug ml<sup>-1</sup>. Los extractos de bugambilia, caléndula, eucalipto (García *et al.*, 2004) e ítamo que presentaron un menor potencial antioxidante en comparación con la canela lo cual se ve reflejado en Cuadro 1.

El organismo está expuesto a una gran variedad de ROS (especies reactivas del oxígeno) y RNS (especies reactivas del nitrógeno) que se pueden generarse a partir de fuentes endógenas, relacionadas con el metabolismo del oxígeno y con las diversas reacciones de defensa de nuestro sistema inmunitario (Dreosti, 2000; Osorio *et al.*, 2009).

En las infecciones respiratorias, hay un gran incremento de células fagocíticas (leucocitos neutrófilos, macrófagos y eosinófilos), las cuales al activarse por medio de mediadores proinflamatorios o de productos bacterianos, víricos o de parásitos, destruyen las células infectadas por medio de un ataque oxidativo en el que se producen grandes cantidades de O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH, NO y OCl<sup>-</sup> (Bravo y López-Ortega, 1998). Es importante evaluar la actividad antioxidante de los extractos para ayudar a retardar o inhibir el estrés oxidativo en el tratamiento de muchas enfermedades y en las infecciones.

## Conclusiones

La canela demostró una mayor capacidad antioxidante en comparación con los demás extractos utilizados, la mezcla utilizada con los cinco extractos funciona mejor como inhibidor contra la cepa *S.aureus*, el eucalipto presentó el mayor halo de inhibición antibacteriana como extracto solo, así como, también en forma de jarabe contra *S.aureus* y *S. pyogenes*.

## Literatura citada

- Abarca-Vargas, R. and Petricevich, V. L. 2018. Bougainvillea genus: a review on Phytochemistry, pharmacology, and toxicology. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM, 9070927. doi:10.1155/2018/9070927.
- Alós, J. I.; Aracil, B.; Oteo, J.; Torres, C. y Gómez, J. L. 2003. Significant increase in the prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin- and miconazole-susceptible (M phenotype) *Streptococcus pyogenes* in Spain. J. Antimicrob. Chem. 51:333-337.
- Argueta, V.; Cano, A. y Rodarte M. 2000. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Tomo III, Instituto Nacional Indigenista (Ed). México. 1786.
- Ávila, L.; Baquero, E.; Viña, A. y Murillo, E. 2006. Actividad antibacteriana de *Diplostephium tolimense* Cuatrec. (Asteraceae) frente a *Staphylococcus aureus* Vitae. Rev. Fac. Quím. Farm. 13(1):55-60.
- Bravo, M. y López-Ortega, A. 1998. Radicales libres e inflamación (Free radicals and inflammation). Gaceta de Ciencias Vet. 4(2):31-40.
- Cáceres, A. C.; Moreles, L. M. y Navarro, G. 1990. Demostración de la actividad antimicrobiana de algunas especies vegetales usadas popularmente como medicinales en la Cuenca del Caribe. Ciencia y Tec. 2001(1):81-87.
- Castañeda, C. B.; Ramos, L. L. E. e Ibáñez, V. L. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas Horizonte Médico. Universidad de San Martín de Porres La Molina, Perú. 8(1):56-72.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. 12(4):564-582.
- Dreosti, I. E. 2000. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. Nutrition. 16(8):692-694.
- FAO. 2004. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT. Emergencia café y reducción de la aflatoxina A en el café.
- García, C. H.; Quert, A. R.; Becquer, R. C. y Castañera, M. 2004. Fitoquímica del eucalipto sp. Rev For. Baracoa 1. 37-46 pp.
- Harborne, J. B. 1997. Biochemical plant ecology. Plant biochemistry. Ed. Elsevier. 503-516 pp.
- Lastra, V. H. and Piquet, G. R. 1999. *Calendula officinalis*. Rev. Cubana Farmacol. 33(3):188-94.
- Lu, F.; Ding, Y. C.; Ye, X. Q. and Ding, Y. T. 2011. Antibacterial Effect of cinnamon oil combined with thyme or clove oil. Agric. Sci. China. 10(9):1482-1487.
- Márquez, V. R.; Mercado, P. A.; Vargas, M. C. and de La Rosa, T. C. 2005. Antibacterial activity of *Pedilanthus tithymaloides* (L.) poit (Ultimorrial) Actual Biol. 27(1):21-25.
- Martin, G.; Jian, Z.; Min, A. and Samson, A. 2010. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalytus species. Food Chem. 119(2):731-737.
- NMX-F-169-1984. Alimentos para humanos. Jarabes. Foods for humans. Syrups. Normas mexicanas. Dirección general de normas.

- Osorio, E.; Montoya, G. y Bastida, G. 2009. Caracterización fitoquímica de una fracción de bioflavonoides de *Garcinia madruno*: su inhibición de la oxidación de LDL humana y su mecanismo de estabilización de especies radicalarias. *Vitae*. 16(3):369-377.
- Tabares, P. L.; Ávila, F.; Torres, D.; Cardona, W.; Quiñones Forero, J. 2007. Metabolitos secundarios antivirales de algunas especies de la familia *Euphorbiaceae*. *Scienti et Technica*. 1(33):107-110.