

**ARTÍCULO ORIGINAL**

**Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Mirabilis jalapa* L.**

**Evaluation of the antimicrobial activity of the extracts of *Mirabilis jalapa* L.**

Aliuska Castillo Mompié;<sup>1</sup> Yoandris Manuel Pascual Sánchez;<sup>2</sup> Francisco de los Ángeles Cañete;<sup>3</sup> Caridad de la Paz Lorente.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Licenciada en Biología. Máster en Química Biológica. Asistente. Filial de Ciencias Médicas Haydeé Santamaría. Manzanillo. Granma.

<sup>2</sup> Ingeniero Agrónomo. Máster en Nutrición Animal. Asistente. Universidad de Granma. Bayamo. Granma.

<sup>3</sup> Licenciado en Tecnología de la Salud en la especialidad de Microbiología. Máster en Enfermedades Infecciosas. Instructor. Hospital Clínico-Quirúrgico Docente Celia Sánchez Manduley. Manzanillo. Granma.

<sup>4</sup> Ingeniera Química. Máster en Química Biológica. Asistente. Filial de Ciencias Médicas Haydeé Santamaría. Manzanillo. Granma.

## **Resumen**

Con el objetivo de evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos naturales de las hojas y tallos de maravilla (*Mirabilis jalapa L.*), se efectuó un estudio en el Centro de Estudio de Química Aplicada de la Universidad de Granma y el Laboratorio de Microbiología del Hospital Celia Sánchez Manduley. Para lo cual se realizó un tamizaje fitoquímico empleando técnicas sencillas para identificar los principales metabolitos con posible efecto antimicrobiano. La actividad antimicrobiana de los productos obtenidos fue evaluada utilizando el método de *Bauer-Kirby*. Presentando actividad las tinturas al 20%, los extractos secos, clorofórmicos, hexánico y de acetato de etilo. Además se determinó mediante Cromatografía de Capa Fina que en los extractos se encontraban: quinonas, coumarinas y flavonoides. Estos resultados permiten comprobar la variabilidad de compuestos químicos presentes, lo que justifica su uso de manera tradicional por la población.

**Descriptores DeCS: MIRABILIS; FITOTERAPIA**

## **Abstract**

With the aim of evaluating the antimicrobial activity *in vitro* of natural extracts of the leaves and stems of wonder (*Mirabilis jalapa L.*), it was

performed a research in the Center of Study of Applied Chemistry of the University of Granma and in the Microbiology Laboratory at Celia Sánchez Manduley Hospital. For that purpose it was applied a phytochemical screening using simple techniques in order to identify the main metabolites with possible antimicrobial effect. The antimicrobial activity of the products obtained was assessed using the Kirby-Bauer method. The dry, clorophormic, hexanic and ethyl acetate extracts presented activity to 20%. It was also determined by chromatography of thin skin that the extracts contained: quinones, coumarins and flavonoids. These results permitted to check the variability of chemical compounds, which justifies its use in a traditional way by the population.

***Subject heading: MIRABILIS; PHYTOTHERAPY***

## **Introducción**

Las enfermedades microbianas, constituyen uno de los problemas terapéuticos más importantes de la medicina moderna. Se estima que gracias al advenimiento de la era de los antibióticos y de la quimioterapia, la expectativa de vida de las poblaciones a nivel mundial se incrementó significativamente en los últimos 40 años. Sin embargo, tanto los antibióticos como los quimioterápicos antibacterianos, son posiblemente los agentes farmacológicos de peor utilización en la terapéutica de estas enfermedades. Lo cual ha

provocado que muchos agentes microbianos desarrollen resistencias frente a los mismos, fenómeno que apareció a la par de la creación de los antibióticos y se ha empeorado hasta nuestros días en que la situación resulta desfavorable y desesperante frente a muchas sepsis graves provocadas por gérmenes multirresistentes.<sup>1</sup>

La utilización de plantas medicinales para el tratamiento de diferentes enfermedades, incluidas la de etiología microbiana, constituye en la actualidad un desafío en la medicina y se ofrece como una alternativa, especialmente en aquellas patologías que son provocadas por agentes resistentes. Sin duda el reino vegetal ofrece una gran gama de especies de plantas que son potencialmente útiles para ser aplicadas a las enfermedades humanas, en concreto a aquellas producidas por microorganismos.<sup>2</sup>

En Cuba existen numerosas especies vegetales que constituyen una fuente potencial de materia prima para la búsqueda de compuestos que proporcionen tales efectos farmacológicos. Este propósito resulta más razonable si se tiene en cuenta los recursos naturales abundantes en el territorio, tal es el caso de *Mirabilis jalapa L*, la cual es utilizada comúnmente por la población para curar afecciones dermatológicas tales como acné juvenil y pecas. Además para la cicatrización de numerosas heridas.<sup>3</sup>

El objetivo de este trabajo fue realizar la evaluación antimicrobiana de diferentes extractos obtenidos de la planta *Mirabilis jalapa L.*

## **Método**

La colecta del material vegetal se efectuó en el municipio Manzanillo, provincia Granma en el mes de Septiembre de 2010, para lo cual se seleccionaron las hojas y tallos de la *Mirabilis jalapa L.* Su identificación taxonómica se realizó en el herbario del Museo Tomas Romay, del Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO) de la Provincia Santiago de Cuba. Coinciendo con el ejemplar No: 15398, allí depositado. El material fue clasificado, lavado y secado durante 3 días, a una temperatura de 60 °C durante 48 horas en estufa con circulación de aire. Posteriormente se pulverizó en un molino de martillo Culatte typs MFC, con un tamaño de partícula de 1mm y se guardaran en frasco de color ámbar para su utilización en la elaboración de los extractos.

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana se empleó el método de difusión en agar por diseminación superficial en disco (*Bauer - Kirby*). Para los Test Microbiológicos se utilizaron cepas de referencia internacional, depositadas en el *American Type Culture Collection* (ATCC) y forman parte de una batería mínima de 2 cepas: *Escherichia coli* (ATCC 113-3) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737). También se emplearon 3 cepas salvajes de *Staphylococcus*

*aureus*, *Escherichia coli*, y *Candida sp* aisladas en el laboratorio de microbiología del Hospital Clínico quirúrgico Docente "Celia Sánchez Manduley". La identificación y tipificación de estas cepas bacterianas se realizaron conforme a perfiles bioquímicos y a las recomendaciones del Manual de Microbiología Clínica.<sup>2</sup>

Se emplearon discos de antibióticos para antibiogramas y discos para la determinación de la susceptibilidad antifúngica de las levaduras de amplio espectro para cepas bacterianas y levaduras. En este sentido se usaron discos de Ciprofloxacina (CIP) de 5 µg/disco y Fluconazol (FLU) de 25 µg/disco, para bacterias y levaduras respectivamente. Se evaluaron por este método las tinturas al 20 %, los extractos secos obtenidos a partir de las tinturas de la planta estudiada y las 3 fracciones de extracción con solventes inmiscibles de polaridad creciente de la hoja de la *Mirabilis jalapa* L. Para ello se resuspendieron 100 mg de los extractos secos obtenidos a partir de las tinturas al 20 % y los extractos secos obtenidos a partir de las extracciones sucesivas en 1 mL de dimetilformamida para una concentración final de 100 mg/ml y para el caso de las tinturas se embebieron los discos de papel de filtro en las soluciones obtenidas en la elaboración de la tintura por maceración. Como control negativo se emplearon discos de papel de filtro de 7 mm de diámetro cargados con 6 µl de dimetilformamida y etanol al 70 %, que fue el solvente empleado en la preparación de las soluciones a evaluar.

Con el fin de identificar los posibles compuestos orgánicos responsables de la actividad antimicrobiana procedentes de las diferentes partes de la planta evaluada, se procedió a su extracción en solventes inmiscibles de polaridad creciente mediante una extracción sucesiva solidó-líquido, así como a la identificación de la familia química a la que pertenece mediante tamizaje fitoquímico, lo cual fue asistida por una Cromatografía en Capa Fina (CCF).

Se aplicó un diseño estadístico completamente aleatorizado y todos los ensayos se efectuaron por triplicado.

## **Resultados**

En la tabla 1 se muestran los resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana de la tintura al 20 % y el extracto seco correspondientes, frente a cuatro cepas bacterianas y una cepa de un hongo levaduriforme.

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de la actividad antibacteriana y antifúngica de las fracciones de extracción solidó - líquido de la planta evaluada.

En la tabla 3 se presentan los resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos hexánicos, clorofórmico y de acetato de etilo de la hoja de *Mirabilis jalapa L*, que fue la que mostro actividad antimicrobiana.

Observándose gran variabilidad de metabolitos secundarios tales como: quinonas, fenoles y taninos, flavonoides y coumarinas. Siendo las quinonas y coumarinas las que están presente en los tres extractos evaluados. Con una mayor presencia de coumarinas.

En la figura 1 se muestran los resultados de la Cromatografía de Capa Fina de los extractos hexánico, clorofórmico y acetato de etilo de la hoja de *Mirabilis jalapa L.*

## **Discusión**

Se evidencia que la Ciprofloxacina presenta halos de inhibición entre 16-31 mm de diámetro frente a las cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737), *Staphylococcus aureus* salvaje, *Escherichia coli* (ATCC 113-3) y *Escherichia coli* salvaje, por lo que son sensibles (S) a la Ciprofloxacina (CIP). En el caso de la *Candida sp.*, el Fluconazol (FLU) presenta halos de inhibición entre 29- 30 mm de diámetro, por lo que es sensible (S). <sup>4</sup> Los controles negativos (etanol al 70 % y DMF) no inhibieron el crecimiento de ninguna de las cepas bacterianas y fúngicas evaluadas por lo que los resultados obtenidos no estuvieron influidos, por el solvente.

Se observa que en los dos órganos evaluados los resultados obtenidos evidencian diferencias en la respuesta inhibitoria, pues en el tallo con las dos cepas de *Escherichia coli* los resultados fueron

entre 2-3 mm para las tinturas al 20% y extractos secos, lo que puede estar dado porque el tallo es un órgano de transporte en la planta y la concentración de metabolitos es transitoria. Sin embargo para ambas especies de *Escherichia coli* tanto salvaje como ATCC, en la tintura al 20% de las hojas el halo de inhibición fue de 10 mm mientras que en el extracto seco fue de 12 mm, lo que evidencia que en el extracto seco, existe una mayor concentración de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, no siendo así en la tintura. Para este mismo órgano pero en el caso de *Staphylococcus aureus*, salvaje y control se obtuvo un halo de inhibición de 9 mm para el caso del extracto seco, demostrando mayor cantidad de principios activos. Cuando se compara la bioactividad de los extractos de la planta en estudio y el (control positivo) Ciprofloxacin antibiótico comercial se pudo evidenciar que para  $p \leq 0.05$  existen diferencias significativas.

En el caso del estudio realizado con la *Candida sp* para los diferentes extractos de las hojas y el tallo de *Mirabilis jalapa L.* se muestran halos de inhibición de 2-5 mm, que no son significativos, por lo que se concluye que esta planta no presenta actividad antifúngica para las fracciones evaluadas. Por lo que se obtiene resultados similares a los de Rossi, quien no obtuvo resultados significativos con los productos metabólicos de las plantas frente a hongos unicelulares.<sup>5</sup>

Encontrando que para la hoja de *Mirabilis jalapa L.* la inhibición bacteriana fue significativos con los extractos hexánico, acetato de etilo y clorofórmico para la *Escherichia coli* salvaje con halos de inhibición entre 8 y 9 mm, mientras que con la cepa control de esta misma especie bacteriana solamente con el extracto de acetato de etilo se obtuvo un halo de inhibición de 9 mm. Frente a *Sthaphylococcus auerus* salvaje los halos de inhibición fueron entre 8 y 9 mm con los extractos clorofórmico y de acetato de etilo, sin embargo con la cepa control solamente mostro actividad el extracto de acetato de etilo con un halo de 9 mm. Con la *Candida sp.*, se observaron halos de inhibición con los tres extractos entre 8 y 10 mm, lo que nos sugiere que esta planta pudiera presentar principios activos con acción antifúngica. Los resultados obtenidos para esta planta coinciden con lo expuesto por Ponce, el cual reporto que los microorganismos son sensibles frente a un extracto natural cuando las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano se encuentran entre 9 y 14 mm, demostrándose que los resultados obtenidos son satisfactorios.<sup>6</sup>

Teniendo en cuenta que *Staphylococcus aureus* que es una bacteria Gram positiva, que presenta una vía bioquímica resistente, que le permite bloquear el agente antimicrobiano cuando va entrando en la célula del hospedero y que estudios previos han demostrado que poseen genes que le permiten generar resistencia contra agentes

químicos y antibióticos, los resultados obtenidos en la presente investigación son alentadores.

Teniendo en cuenta lo planteado por la literatura, en el caso de la *Escherichia coli* que hace parte de las bacterias Gram negativas y que los mecanismos de resistencia de estas bacterias pueden presentarse como disminución de la permeabilidad celular por poseer una pequeña capa de peptidoglucano, la cual es más resistente, lo que puede sugerir que los extractos de esta planta pueden poseer sustancias capaces de contrarrestar los mecanismos de resistencia del microorganismo.<sup>5</sup>

Dedetectandose al observar en la placa con luz UV a 365 nm, sin revelador químico, para el extracto hexánico dos manchas rosadas que pueden ser (quinonas) y una amarilla que pueden ser (quinonas, coumarinas y flavonoides). Al comparar los resultados por el método de separación cromatográfico y el tamizaje fitoquímico en las hojas, se puede plantear que los metabolitos secundarios posibles responsables de la actividad antibacteriana en estos extractos son: las quinonas, los flavonoides y coumarinas.<sup>2</sup>

En el extracto clorofórmico se detectaron cuatro manchas, dos de color rosado que puede ser (quinonas), uno rojo (quinonas) y otra amarilla, que pueden ser (coumarinas y flavonoides). En el caso de la

cromatografía de capa fina del extracto de acetato de etilo se confirmó la presencia de metabolitos pues se observaron dos manchas, una de color rosado que puede ser (quinonas) y una roja (quinonas y coumarinas). La presencia de quinonas, flavonoides y coumarinas en las hojas de *Mirabilis jalapa L.* permite proponer a estos metabolitos como los posibles responsables de la actividad antimicrobiana en estos extractos coincidiendo dichos resultados con el análisis fitoquímico.<sup>4</sup>

## **Conclusiones**

Los extractos de las hojas de *Mirabilis jalapa L* presentaron acción antibacteriana frente a *Escherichia coli* salvaje y de referencia, los extractos hexánicos, clorofórmicos y de acetato de etilo de las hojas de *Mirabilis jalapa L* mostraron actividad antibacteriana y antifúngica frente a cepas salvajes de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y de *Candida sp* y los metabolitos secundarios, detectados mediante la Cromatografía de capa fina y el tamizaje fitoquímico, posibles responsables de la actividad antimicrobiana, en los extractos hexánicos, clorofórmicos y de acetato de etilo en *Mirabilis jalapa L.* fueron: quinonas, flavonoides y coumarinas.

## **Referencias Bibliográficas**

1. García PE, Pérez JL. Especies medicinales del delta del Orinoco: aspectos promisorios para la medicina tradicional cubana. La Habana: Ecimed; 2010.

2. Murray PR, Baron EJ, Faller MA, Tenover FC, Yolken RH. Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. Washington, DC: ASM; 1999.
3. Rossi C, Arias G, Lázaro N. Evaluación antimicrobiana y fitoquímica de Lepechenia meyenii. Walp. Salvia. Ciencia e Investigación 2002; 5(1).
4. Ponce A, Roura S, Del Valle C, Moreira M. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. Postharvest Biology and Technology 2008; 49: 294-300.
5. Tavarez W. Bacterias gram positivas problemas: resistencia do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. Rev da Sociedade Brasileira de Med Trop 2000; 33(3).
6. Wallace RJ. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proc Nutr Soc 2004; 63 (4): 621-9.

## Anexos

**Tabla 1. Resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos.**

Microorganismo (Cepas)	Planta	Órgano	Halos de inhibición (mm)		
			Control	Tintura	Extracto seco
<i>E.coli</i> (Salvaje)	<i>Mirabilis jalapa L.</i>	Tallo	16 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>
		Hoja	16 <sup>a</sup>	10 <sup>c</sup>	12 <sup>b</sup>
<i>E.coli</i> (ATCC)	<i>Mirabilis jalapa L.</i>	Tallo	31.6 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>
		Hoja	31.5 <sup>a</sup>	10 <sup>c</sup>	12 <sup>b</sup>
<i>S.aureus</i> (Salvaje)	<i>Mirabilis jalapa L.</i>	Tallo	16 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	2 <sup>b</sup>
		Hoja	15.6 <sup>a</sup>	7 <sup>c</sup>	9 <sup>b</sup>
<i>S.aureus</i> (ATCC)	<i>Mirabilis jalapa L.</i>	Tallo	31.6 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	2 <sup>b</sup>
		Hoja	32 <sup>a</sup>	8 <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>
<i>Candida sp.</i> (Salvaje)	<i>Mirabilis jalapa L.</i>	Tallo	30.7 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>
		Hoja	30 <sup>a</sup>	2.33 <sup>c</sup>	5.33 <sup>b</sup>

**Leyenda:** En el caso de las bacterias el control positivo es

Ciprofloxacin (CIP) y para el hongo es Fluconazol (FLU). Letras diferentes en las mismas filas significan diferencias estadísticamente significativas para  $p \leq 0,05$ .

**Tabla 2. Resultados de la actividad antibacteriana y antifúngica de las fracciones de extracción sólidó - líquido de las plantas evaluadas.**

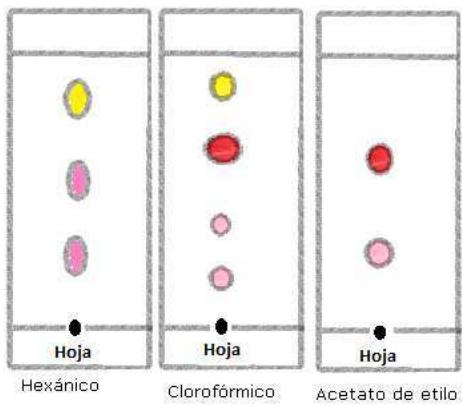
Microorganismo (Cepas)	Planta	Órgano	Halos de inhibición (mm)			
			F1	F2	F3	F4
E. coli (Salvaje)	Mirabilis jalapa	Hoja	15.7 <sup>a</sup>	8 <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>	9.33 <sup>b</sup>
E. coli (ATCC)	Mirabilis jalapa L.	Hoja	32 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	9 <sup>b</sup>
S. auerus (Salvaje)	Mirabilis jalapa L.	Hoja	15.7 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	8 <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>
S. auerus (ATCC)	Mirabilis jalapa L.	Hoja	31.6 <sup>a</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	9 <sup>b</sup>
Candida sp.	Mirabilis jalapa L.	Hoja	29.3 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>	8 <sup>c</sup>	10 <sup>b</sup>

**Leyenda:** F1 Control, F2 n-hexano, F3 Cloroformo, F4 Acetato de etilo. Letras diferentes en las mismas filas significan diferencias estadísticamente significativas para  $p \leq 0,05$ .

**Tabla 3. Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos Hexánico, clorofórmico y de acetato de etilo de la hoja de *Mirabilis jalapa L.***

Ensayos (metabolitos)	Hexánico	Clorofórmico	Acetato de Etilo
Borntrager (quinonas)	++	+	+
FeCl <sub>3</sub> (fenoles y taninos)	-	-	-
Shinoda (flavonoides)	+	+	-
Baljet (coumarinas)	++	++	++
Wagner(alcaloides)	-	-	-
Mayer(alcaloides)	-	-	-

**Leyenda:** (-) ausencia; (+) presencia y (++) , (+++) abundante.



**Figura 1. Cromatografía de Capa Fina de los extractos hexánico, clorofórmico y acetato de etilo de la hoja de *Mirabilis jalapa L.***

Recibido: 23 abril 2012.

Aprobado: 3 mayo 2012.