

Determinación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de extractos de *Cercocarpus macrophylla*

ALONZO-ADAME María Yaneli^{1†}, NAVARRETE-OJENDI Paola Avinai^{1†}, TORRES-MORENO Heriberto², LÓPEZ-ROMERO Julio César³, RAMÍREZ-FRANCO Agustín⁴, AVILA-CABALLERO Luz Patricia⁵ y BELLO-MARTÍNEZ Jorge⁶.

Universidad Autónoma de Guerrero, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Av. Lázaro Cárdenas S/N Col. La Haciendita CU Sur C.P. 39070. Chilpancingo, Guerrero, México.

Recibido: septiembre, 22, 2020; Aceptado Febrero 9, 2021.

Resumen

Cercocarpus macrophylla es una planta de la medicina tradicional mexicana de la sierra de Guerrero que se utiliza para tratar diferentes tipos de enfermedades, tales como infecciones cutáneas, gastrointestinales y afecciones renales. Este estudio es el primer reporte sobre la capacidad antioxidante y antimicrobiana de los extractos de: *C. macrophylla*. La actividad antioxidante se evaluó mediante el ensayo de DPPH. La fracción EtOAc de *C. macrophylla* fue la muestra que presentó mayor actividad antioxidante (DPPH IC50 de 75.2 j.tg/mL).

En cuanto a la actividad antimicrobiana la fracción de diclorometano fue más efectiva con las bacterias gram positivas (50 ± 3.0 mg mL⁻¹) que con las gram negativas (150 ± 20 mg mL⁻¹), el estudio indicó que los hongos eran menos susceptibles que las bacterias (> 400 mg mL⁻¹). Los resultados obtenidos muestran que los extractos de *C. macrophylla* mostraron potencial como antioxidantes y antimicrobianos in vitro.

Palabras clave: Actividad antioxidante, Actividad antimicrobiana, *Cercocarpus macrophylla*

Abstract

Cercocarpus macrophylla is a plant of traditional Mexican medicine from the Sierra de Guerrero that is used to treat different types of diseases, such as skin infections, gastrointestinal and kidney conditions. This study is the first report on the antioxidant and antimicrobial capacity of extracts of: *C. macrophylla*. The antioxidant activity was evaluated by means of the DPPH assay. The EtOAc fraction of *C. macrophylla* was the sample that presented the highest antioxidant activity (DPPH IC50 of 75.2 j.tg/mL).

Regarding antimicrobial activity, the dichloromethane fraction was more effective with gram positive bacteria (50 ± 3.0 mg mL⁻¹) that with gram negative ones (150 ± 20 mg mL⁻¹), the study indicated that fungi were less susceptible than bacteria (> 400 mg mL⁻¹). The results showed that *C. macrophylla* extracts showed potential as antioxidants and antimicrobials in vitro.

Keywords: Antioxidant activity, Antimicrobial activity, *Cercocarpus macrophylla*

Citación: ALONZO-ADAME María Yaneli^{1†}, NAVARRETE-OJENDI Paola Avinai^{1†}, TORRES-MORENO Heriberto², LÓPEZ-ROMERO Julio César³, RAMÍREZ-FRANCO Agustín⁴, AVILA-CABALLERO Luz Patricia⁵ y BELLO-MARTÍNEZ Jorge⁶. Determinación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de extractos de *Cercocarpus macrophylla*. Foro de Estudios sobre Guerrero 2020, Mayo 2021- Abril 2022 Vol.9 No.1 280-285

*Correspondencia al Autor (beloj@uagro.m)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

La etnobotánica estudia la relación entre las plantas y los humanos, surgió desde que el hombre obtuvo los beneficios en la salud, se ha concentrado en pueblos indígenas y en comunidades lejanas, que tienen como costumbres o cultura en utilizar plantas medicinales para curar diferentes enfermedades que dañan al organismo (Núñez. 2006). Es un término de utilidad de plantas silvestres como medicina y es usada por 80 % de la población mundial, por lo cual se ha recomendado impulsar la documentación, reforzar la investigación y conservación de especies medicinales, y de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentales en las teorías, creencias y experiencias de diferentes culturas. (Design, 2012)

El género *Cercocarpus* pertenece a la familia Rosaceae, se le conoce con el nombre de “caoba de montaña” y en la región de la Mixteca Oaxaqueña como “ramón” (Conabio, 2019); en el estado de Guerrero es utilizado en la herbolaria medicinal por pobladores de la sierra para problemas renales, infecciones cutáneas y problemas gastrointestinales, es conocido como “palo rojo”.

Las plantas han sido usadas como medicina alrededor del mundo por milenios: fueron la medicina original en todas las culturas y en las civilizaciones más grandes. La medicina natural es un campo terapéutico que parte de la integración del hombre a la naturaleza, constituyendo así una vía para contrarrestar los efectos adversos de los productos farmacéuticos obtenidos mediante la síntesis química. Su aplicabilidad en la terapéutica actual, le permite ser considerada como una de las más importantes modalidades de la medicina complementaria. Numerosas enfermedades son tratadas con productos fitofarmacéuticos o derivados de los mismos, fundamentalmente aquellas de origen infeccioso y las resultantes del desequilibrio del organismo. Más del 80% de los antimicrobianos empleados hoy en día proviene de fuentes naturales, mientras que la

casi totalidad de las especies antioxidantes tiene un origen vegetal. Ello es causado por la necesidad intrínseca de las plantas de disponer de un mecanismo de protección, en un ambiente caracterizado por una naturaleza oxidante y una diversidad microbiana patógena, para garantizar su adaptación al medio. En consecuencia, las especies vegetales son capaces de producir y bioprocasar un sinnúmero de metabolitos y elementos inorgánicos, que han sido extraídos y empleados empíricamente durante siglos por la población mundial en el tratamiento de estas patologías. Por muchos años, la medicina ha dependido del uso exclusivo de hojas, flores y cortezas de las plantas; sólo recientemente se han generado estudios referentes al uso medicinal de los frutos y las cáscaras de estos (Escalona , 2011).

Las plantas y árboles empleados son la base para el desarrollo de la medicina moderna, y en algunas zonas rurales e indígenas, son el único recurso del que disponen a falta de instituciones médicas y recursos monetarios para la adquisición de medicina moderna (Escamilla y Moreno, 2015).

Las principales especies de *Randia* que muestran actividad antioxidante no se han reportado en Guerrero, a pesar de que se ha localizado la presencia aproximada de especies (Conabio, 2019). La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa. (Cols et al, 2015)

La finalidad de esta investigación es conocer las propiedades antioxidantes y antimicrobianas que se encuentran en *Cercocarpus macrophylla*

Objetivos

Determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de *Cercocarpus macrophylla*

Materiales y Métodos

Colecta de plantas

Las plantas se recolectaron en julio de 2017 en Corral de Piedra, Municipio Leonardo Bravo, Guerrero, México. El material vegetal fue identificado botánicamente por Dra. Luz Patricia Ávila Caballero y un ejemplar fue depositado en el herbario de la Universidad Autónoma de Guerrero con número de registro UAGROCE17.

Preparación de extracto etanólico y fracciones de disolvente orgánicos.

Los extractos de plantas se obtuvieron con base en la metodología descrita por Bello-Martínez et al (2017). Brevemente, se extrajeron 500 g de muestra seca de corteza de *Cercocarpus macrophylla* (CM) con etanol al 96% (EtOH) a temperatura ambiente. El extracto etanólico se suspendió en una mezcla acuosa (3:2 de agua/metanol) y se fraccionó sucesivamente con n-hexano (Hx), diclorometano (CH₂Cl₂) y acetato de etilo (EtOAc) para producir las fracciones CMA, CMB y CMC respectivamente. Todos los extractos se almacenaron a -4 ° C en viales de vidrio ámbar hasta su uso.

Ensayo antioxidante

Cada muestra se disolvió en etanol al 96% para obtener una concentración de 1 mg/ml y luego se diluyó para preparar las concentraciones en serie para los ensayos correspondientes.

Ensayo de actividad de eliminación de radicales DPPH

El ensayo de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo se llevó a cabo usando un método modificado descrito por Nanjo et al. (1996). Se mezclaron extractos de plantas con una solución de DPPH (0,3 mM). Las mezclas se almacenaron en la oscuridad durante 30 min y se leyó la absorbancia a 517 nm en un lector de microplacas (Multiskan FC, Thermo Scientific). La actividad antioxidante se expresó como IC₅₀ (jig/mL). Los valores se obtuvieron mediante un análisis de regresión lineal (Molyneux, 2004).

Ensayo antimicrobiano

Los cultivos microbiológicos fueron proporcionados por el MSP Agustín Ramírez Francos de la colección del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Estatal de Guerrero. Se analizaron cepas estándar de dos especies bacterianas diferentes, de las cuales una era gramnegativa, *Escherichia coli* (ATCC® 25922 TM), y una grampositiva, *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923TM) Las cepas se mantuvieron en agar triptona soya (TSA) a 4 °C, y cepas de *Candida albicans* (ATCC® 90028 TM) en Sabouraud Dextrosa Agar a 35 ° C.

Los inocuos se prepararon en TSA. e Infusión Cerebro Corazón (BHI) para las levaduras durante 24 ha 37 °C. Las suspensiones celulares se diluyeron en agua de peptona al 0,1%, la turbidez de esta suspensión microbiológica coincidió con la turbidez de una escala de 0,5 McFarland.

Los estudios antibacterianos in vitro se realizaron mediante el método de microdilución en caldo como se lo describe (Velázquez et al., 2016), con algunas modificaciones. El control negativo consistió en remplazar la muestra por agua, mientras que el antibiótico ciprofloxacino (mg.ml⁻¹) se utilizó como control positivo de inhibición del crecimiento bacteriano y nistatina (100 UI ml⁻¹) para las levaduras. Los cultivos microbiológicos se incubaron a 37°C durante 24 h. Las placas se leyeron a 620 nm en un lector de microplacas (Thermo Scientific TM Multiskan TM FC, EE. UU.). La concentración inhibitoria mínima se definió como la concentración más baja de miel capaz de inhibir el crecimiento de bacterias al menos en un 50% (CMI50).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza de una vía y las diferencias se determinaron mediante la prueba de Tukey, utilizando el software GraphPad Prism V5-03. (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Valores de P<0.05 fueron considerados como estadísticamente significativos.

Resultados y Discusión

En la tabla 1 se muestran los resultados de la actividad antioxidante de los extractos etanólicos y sus correspondientes fracciones de polaridad creciente.

Los resultados obtenidos evidenciaron que los extractos de *C. macrophylla* poseen la capacidad de transferir electrones para estabilizar los radicales libres y reducir metales, lo que sugiere que estos tratamientos pueden considerarse una opción para inhibir o reducir las especies reactivas del oxígeno y estabilizar los radicales biológicos, esta acción se conoce como actividad antioxidante y es la capacidad total de medición analítica de concentración de radicales en un sistema oxidativo controlado (Clappini et al., 2013).

Tabla 1. Actividad Antioxidante de extractos de *C. macrophylla*

	DPPH IC ₅₀ (mg mL ⁻¹)
CM	175±10.0
CMA	> 400
CMB	150±3.0
CMC	75±2.0

* valores representan la media y la desviación estandar (±SD; n = 3) de tres experimentos independientes.

Tabla 2. Actividad Antimicrobiana extractos de *C. macrophylla*

	Actividad antimicrobiana (mg mL ⁻¹) ^a		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
CM	> 400	> 400	> 400
CMA	150±2.0	> 400	> 400
CMB	50±3.0	150±20	> 400
CMC	75±2.0	150±20	> 4000

* valores representan la media y la desviación estandar (±SD; n = 3) de tres experimentos independientes.

a: Actividad antimicrobiana como Minimum Inhibitory Concentration (MIC₅₀).

Estas acciones en las células de nuestro cuerpo, da un proceso controlado con una adecuada protección antioxidante. Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones en nuestra sangre, los que son captados por los radicales libres. (Avello & Suwalsky, 2006).

Adicional a esto, los resultados obtenidos en el presente estudio tienen un impacto positivo siendo el primer estudio que informa la actividad antioxidante de extracto etanólico de *C. macrophylla*. El potencial biológico de los extractos de plantas se atribuye a sus compuestos bioactivos. La actividad antioxidante se asocia generalmente con la presencia de compuestos fenólicos del extracto.

La fracción de acetato de etilo tuvo la mayor actividad antioxidante, mientras que la más baja se encontró en la fracción hexánica.

La actividad antibacteriana (Tabla 2) fue más efectiva con las bacterias gram positivas que con las gram negativas, el estudio indicó que los hongos eran menos susceptibles que las bacterias. Se encontró una correlación entre la actividad antimicrobiana y la capacidad antioxidante. Por lo que se cree exista una relación con el contenido de compuestos fenólicos, el contenido de flavonoides o entre los fenólicos y los flavonoides.

Conclusiones

El extracto de *C. macrophylla* presentó una buena actividad antioxidante, siendo la fracción de acetato de etilo la que presentó una mayor capacidad de captación de radicales libres. La actividad antimicrobiana fue mayor en bacterias gram(+) en comparación a gram (-) y levaduras. Es recomendable seguir realizando estudios adicionales por medio de otros métodos y técnicas de aislamiento e identificación estructural de los principios activos presentes en estos extractos estudiados en el presente trabajo.

Contribución

Alonzo Adame María Yaneli: Investigación, Metodología, Redacción.

Navarrete Ojendi Paola Avinai: Investigación, Metodología, Redacción.

Torres-Moreno Heriberto: Investigación, Análisis formal y Validación

López-Romero Julio César: Investigación, Análisis formal y Validación

Ramírez Franco Agustín: Cultivo de microorganismos, análisis y validación de bioensayos

Avila Caballero Luz P.: Investigación, Metodología; Análisis formal; Validación

Bello-Martínez Jorge: Conceptualización; Metodología; Administración de proyecto; Supervisión; Escritura: revisión y edición; Adquisición de fondos

Referencias

- Avello, M. & Suwalsky, M., (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales. *Atenea* 494 (II), 161-172.
- Bello-Martínez, J., Jiménez-Estrada, M., Rosas-Acevedo J.L., Avila-Caballero L.P., Vidal-Gutierrez, M., Patiño-Morales, C., et al. (2017). Antiproliferative activity of *Haematoxylum brasiletto* H. Karst. *Pharmacogn Mag.* ; 13 (50).
- Clappini, M. C., Stoppani, F., Martinez, R. & Alvarez, M. B., (2013). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenolicos y flavonoides en mieles de treboles, eucalipto y alfalfa. *Rev. Cienc. Tecnol.* 15 (19) 45–51.
- Cols, C. M. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Chil Nutr*, 42 (2), 1-2.
- Conabio (2019). Enciclovida. Recuperado el 18 de 06 de 2019, de <http://enciclovida.mx/especies/139694-randia>.
- Design, R.K., (2012). Estrategia de la OMS sobre la medicina tradicional 2002-2005. OMS, pp. 1-2.
- Escalona J.C., (2011). Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de *Tamarindus indica* L. como premisa para su introducción en la medicina complementaria. Universidad de Oriente Facultad de Ciencias Naturales Departamento de Farmacia. 90p.
- Escamilla B. E., y Moreno P. (2015). Plantas medicinales de La Matamba y El Piñonal, municipio de Jamapa, Veracruz. *Acércate a las personas que conocen las plantas medicinales en tu comunidad*, 11-98 p.
- Molyneux P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J Sci Technol.*
- Nanjo F, Goto K, Seto R, Suzuki M, Sakai M, Hara Y. (1996). Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radic Biol Med.*
- Nuñez, D. R. Y Obon de Castro, C., 2006. Introducción a la etobotánica. *Etnobotánica*, p. 2.
- Velazquez C, Navarro M, Acosta A, Angulo A, Dominguez Z, Robles-Zepeda R, Lugo E, Goycoolea FM, Velazquez EF, Astiazaran H, Hernandez J. (2007). Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis. *J Appl Microbiol* 103:1747–1756. V