

Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos secos de tinturas al 20 % de *Mammea americana* L.

Phytochemical screening and antibacterial activity of dry extracts of 20 % tinctures from *Mammea americana* L.

MSc. Harold Remón Rodríguez, MSc. Alejandro Alarcón Zayas, Dr. C. Manuel Almeida Saavedra, MSc. Yosvel Viera Tamayo, Dr. C. Melquíades Ramos Escalona, Lic. Yurdanys Bazan Osorio

Universidad de Granma, Bayamo, Cuba.

RESUMEN

Introducción: el mamey amarillo (*Mammea americana* L.) se utiliza ampliamente en la curación de diversos tipos de enfermedades producidas por parásitos e insectos.

Objetivo: realizar el tamizaje fitoquímico y determinar la actividad antibacteriana de los extractos secos de la tintura al 20 % de las hojas y corteza del fuste de esta planta.

Métodos: se recolectaron hojas y corteza del fuste de la planta objeto de estudio, que fueron lavadas, desinfectadas, secadas y pulverizadas. Luego se procedió a la elaboración de las tinturas al 20 % por el método de maceración de la droga. Los extractos secos de las partes estudiadas de la planta se obtuvieron a partir de las tinturas al 20 % y se emplearon para los ensayos del tamizaje fitoquímico y la evaluación de la actividad antibacteriana.

Resultados: se comprobó la existencia de una alta diversidad de metabolitos secundarios, con predominio de los alcaloides, coumarinas, fenoles o taninos, quinonas y flavonoides. Los extractos secos mostraron actividad antibacteriana *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737).

Conclusiones: se destacan, por su significativa presencia, flavonoides, alcaloides, taninos y cumarinas, los cuales resultan de interés biológico y farmacológico por sus posibles aplicaciones terapéuticas.

Palabras clave: *Mammea americana*, tamizaje fitoquímico, extractos, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

Introduction: the yellow mamee (*Mammea americana* L.) is widely used to cure different diseases caused by parasites and insects.

Objective: to perform a phytochemical screening and to determine antibacterial activity of dry extracts of 20 % tincture from the leaves and the bark of this plant.

Methods: the leaves and stem bark of the plant were harvested, washed, disinfected, dried and crushed. Then it proceeded to the preparation of 20 % tinctures through drug maceration. The dried extracts of the studied parts were obtained from the 20 % tinctures and used to evaluate the phytochemical screening tests and the antibacterial activity.

Results: the existence of a high diversity of secondary metabolites, predominantly alkaloids, coumarins, phenols and / or tannins, quinones, and flavonoids were confirmed. The dried extracts showed antibacterial activity *in vitro* against *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737).

Conclusions: flavonoids, alkaloids, tannins and coumarins, which are of biological and pharmacological interest for their potential therapeutic applications, were significantly present in these extracts.

Key words: *Mammea americana* (L.), phytochemical screening, extracts, secondary metabolites.

INTRODUCCIÓN

La medicina natural y tradicional forma parte importante del acervo cultural de la humanidad desarrollada en cada país y región del mundo, con características propias, en franca dependencia de los recursos disponibles. Se toma de base además, la idiosincrasia de sus habitantes, como resultado de una evolución lenta pero avalada por la experiencia práctica.¹

En el devenir histórico, la práctica de la medicina tomó dos rumbos distintos; mientras que en el mundo oriental mantuvo su aplicación práctica, en el occidental sobre todo en el pasado siglo, se trabajó en la síntesis de sustancias medicamentosas, lo cual unido al desarrollo industrial y de los medios de diagnóstico, dio lugar a una carrera competitiva que inundó el mercado con todo tipo de medicamentos más o menos útiles sin tener en cuenta el mayor o menor daño que ellos podían producir.^{2,3}

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce el papel de las plantas medicinales en la cura y el tratamiento de diversas enfermedades que afectan al hombre e identifican más de 119 sustancias químicas pertenecientes a 60 familias.³

Las plantas medicinales sintetizan a partir de su metabolismo primario, sustancias químicas conocidas como metabolitos secundarios (llamados también principios activos), los cuales ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre los organismos vivos.⁴ Su utilidad primordial es servir como droga o medicamento que alivie las enfermedades o restablezca la salud perdida.⁵

El uso de las plantas con fines curativos se remonta a muchos años atrás y guarda relación con la flora existente en cada territorio.⁴ A pesar de ser muy antigua su utilización y de transmitirse de generación en generación, en la actualidad es objeto de múltiples investigaciones científicas, en las cuales se ha demostrado experimentalmente algunas de las acciones atribuidas.⁵ Esto brinda la oportunidad de encontrar nuevos agentes activos desde el punto de vista farmacológico, a partir de una fuente de materia prima renovable, por lo que es de gran interés realizar un tamizaje fitoquímico dirigido al conocimiento de las principales familias de metabolitos secundarios que sean de interés biológico. Dentro de estas, la *Mammea americana* L. es una de las de mayor importancia.⁵

Atendiendo a los reportes populares realizados, se ha demostrado que la planta *M. americana* se utiliza ampliamente en la curación de diversas enfermedades debido a su efecto antiparasitario e insecticida. Para estos fines, se utiliza el látex de la semilla contra el *Aedes aegypti*, que elimina las larvas de ese vector. Por otra parte, se ha confirmado el efecto de la fruta para tratar la anemia, mientras que la resina y la decocción de la corteza se emplean contra los parásitos, infecciones micóticas y eczemas.^{6,7} La infusión de sus hojas es un antifebrífugo.⁸ Su acción antibacteriana no ha sido validada experimentalmente, ni se disponen reportes hasta el momento. En este trabajo se determinaron los metabolitos secundarios presentes en esta planta y se evaluó su actividad antibacteriana para corroborar los usos etnobotánicos que se le atribuyen.

MÉTODOS

El material vegetal se recolectó a las 8:00 a.m. del día 17 de abril de 2010, en la localidad "Los Rondones" perteneciente al municipio de Jiguaní, provincia de Granma, con una temperatura promedio de 23,5 °C. Se identificó por el Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Granma, con el propósito de eliminar la parte del material que no reunía las condiciones para su posterior estudio, según la norma ramal de salud pública (NRSP) 309 del Ministerio de Salud Pública (MINSAP).⁹

Se tomaron muestras de las hojas y corteza del fuste, en estado adulto, las cuales se lavaron y desinfectaron con una disolución de NaClO 2 %;¹⁰ se secaron al aire a temperatura ambiente y se extendieron en bandejas perforadas, volteándose diariamente durante 7 d. Luego se sometieron durante 1 h a temperatura de 60 °C en una estufa (WSU 400, Alemana) con recirculación de aire. A continuación, se trituraron en un molino hasta obtener un polvo grueso, que se pasó por un tamiz circular de 2 mm (TGL 0-4188 WEB Metallwebwrei Neustadt-Orla, Alemania). Finalmente, estas se emplearon en la elaboración de las tinturas al 20 %.

Obtención de las tinturas al 20 %

Las tinturas al 20 % se obtuvieron a partir de los polvos (tamaño de partícula menor que 2 mm de diámetro), utilizando como menstruo una solución etanólica al 70 % (v:v) en agua destilada. Se usaron 50 g de la droga cruda para obtener 250 mL de tintura al 20 %. El método de extracción empleado para la obtención de las tinturas fue la maceración de la droga pulverizada en zaranda (MLW, Alemania) a 60 rpm durante 15 min a intervalos de 10 h, por un tiempo de 7 d, según la norma ramal de salud pública 312,¹¹ la norma cubana de salud pública 313¹² y el programa de medicina tradicional y natural.¹³

Después de realizada la extracción se filtró a presión reducida para lograr la homogeneidad y transparencia total de cada producto. El filtrado (tintura al 20 %) se almacenó en un frasco color ámbar y se sometió a reposo durante 72 h a temperaturas de 4 a 8 °C. Transcurrido el tiempo indicado, en los casos en que se observó precipitado se procedió a una segunda filtración. Las tinturas se almacenaron en frascos color ámbar para evitar la descomposición de la sustancia activa por acción de la luz, porque muchos principios activos extraídos de plantas son fotosensibles.

Obtención del extracto seco

Los extractos secos de las partes estudiadas de la planta se obtuvieron a partir de las tinturas al 20 % por rotoevaporación del solvente a 50 °C en un rotoevaporador (KIKA LABORTECHNIK HB4 Basic), los cuales se secaron en una estufa, con recirculación de aire a 40 °C hasta obtener una masa consistente y después se preservaron en frascos de color ámbar.

Tamizaje fitoquímico

Se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales del Centro de Estudio de Química Aplicada (CEQA) de la Universidad de Granma, Bayamo, Cuba, por la metodología descrita y reportada por *Sandoval y Suárez*,¹⁴ *Payo*.¹⁵ así como *Peña* y otros,² con el empleo de técnicas simples, rápidas y selectivas para la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en cada extracto, de acuerdo con la solubilidad que podían haber presentado en cada solvente empleado.

Evaluación de la actividad antibacteriana

Para la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos secos de las hojas y corteza del fuste de la *Mammea americana* (L.) se empleó el método de difusión en agar por diseminación superficial en disco (*Bauer-Kirby*). Este método fue publicado por la *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), y adoptado por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)¹⁶ como norma de aceptación general, a continuación se explica el principio en el cual se fundamenta ese método.

Microorganismos evaluados

Las cepas utilizadas en el ensayo de actividad antibacteriana son de referencia internacional, depositadas en el *American Type Culture Collection* (ATCC) y se relacionan a continuación: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737) y *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), esta última no patógena.

RESULTADOS

Tamizaje fitoquímico de los extractos secos de las tinturas al 20 % de Mammea americana

En la tabla 1 se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos secos de la tintura al 20 % de las hojas y la corteza del fuste de *M. americana*, donde se observa la alta diversidad de metabolitos secundarios presentes en esta especie arbórea, como: alcaloides, coumarinas, fenoles y taninos, quinonas y flavonoides.

Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos secos de las tinturas al 20 %

Tabla 1. Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos secos de las tinturas al 20 % de *Mammea americana*

Ensayos (metabolitos)	Hojas	Corteza
Mayer (alcaloides)	+	+
Baljet (coumarinas)	-	+
FeCl ₃ (fenoles y taninos)	+	+
Borntrager (quinonas)	+	+
Shinoda (flavonoides)	+	+
Wagner (alcaloides)	+	+

(-): ausencia, (+): presencia.

En la [tabla 2](#) se muestran los resultados de la evaluación *in vitro* de la actividad antibacteriana de los extractos secos de las tinturas al 20 % de las hojas de *M. americana*, donde se comprobó que solo mostraron actividad frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737); se destaca la dilución 1 (D1) de concentración 720 mg/mL con halos de inhibición que oscilaron entre 14 y 16 mm de diámetro, respectivamente, superados solo por el control positivo (gentamicina). La ausencia de halos de inhibición alrededor de los discos, que contienen DMSO (dimetilsulfóxido) y etanol al 70 % (controles negativos), sugieren que las hojas de esta planta poseen metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

Tabla 2. Resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos secos de las tinturas al 20 % en la hojas

Muestras	Diámetro del halo de inhibición (mm)											
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29737)			<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)			<i>Escherichia coli</i> (ATCC 113-3)			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)		
	No. de réplicas			No. de réplicas			No. de réplicas			No. de réplicas		
Extractos secos	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
D1 720 mg/mL	14	16	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D2 360 mg/mL	13	13	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D3 180 mg/mL	12	13	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gentamicina	20			22			21			-		
Etanol 70 %	-			-			-			-		
Dimetilsulfóxido	-			-			-			-		

En la [tabla 3](#) se muestran los resultados de la evaluación *in vitro* de la actividad antibacteriana de los extractos secos de la tintura al 20 % del fuste de la corteza de *M. americana*, donde se observó un comportamiento muy similar al de los extractos secos de las hojas, con la diferencia de que los halos de inhibición obtenidos para la dilución 1 (D1) con 780 mg/mL oscilaron entre 15 y 17 mm de diámetro para la cepa *S. aureus*, muy superiores a las diluciones 2 y 3 (D2 y D3) de los extractos evaluados.

Tabla 3. Resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos secos de las tinturas al 20 % en la corteza del fuste

Muestras	Diámetro del halo de inhibición (mm)											
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29737)			<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)			<i>Escherichia coli</i> (ATCC 113-3)			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)		
	No. de réplicas			No. de réplicas			No. de réplicas			No. de réplicas		
Extracto seco	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
D1 720 mg/mL	17	16	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D2 360 mg/mL	15	14	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D3 180 mg/mL	13	12	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gentamicina	20			22			21			-		
Etanol 70 %	-			-			-			-		
Dimetilsulfóxido	-			-			-			-		

DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestra la gran diversidad de metabolitos secundarios identificados en la especie *Mammea americana*, lo cual justifica la utilidad de esta planta en la cura de diversas afecciones. Se ha demostrado científicamente que la presencia de taninos y fenoles alerta sobre la posible actividad antibacteriana de esta especie de planta, ampliamente distribuida en la región.¹⁷ Se comprueba, además, la ausencia de coumarinas en los extractos secos de las hojas.

En la tabla 2, los resultados obtenidos son importantes, porque hay que tener en cuenta la diferencia de las concentraciones de los principios activos entre los discos de los antibióticos comerciales y los que contienen los extractos secos. En tal sentido, los discos comerciales contienen el principio activo con altos niveles de pureza, mientras que los extractos secos de las hojas de la planta, solo contienen la masa de las sustancias solubles en el solvente. Para lograr mejores resultados, se debe trabajar en el aislamiento y la purificación de los principios activos, también probar su verdadero potencial antibacteriano.

*Gurinder y Daljit*¹⁸ realizaron un estudio fitoquímico de tres especies vegetales (*Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* y *Trachyspermum ammi*) y aislaron los metabolitos secundarios presentes en estas plantas y demostraron que presentaron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, así como otras cepas patógenas de interés clínico. Esos autores comprobaron, además, que solo las saponinas resultaron efectivas frente a *Staphylococcus aureus*. En tal sentido, es probable que en esta investigación se diera un fenómeno similar, aunque se conoce que las familias químicas están representadas por compuestos disímiles en familias botánicas diferentes e incluso en especies diferentes de un mismo género.

En varios estudios, *Ahmet y otros*¹⁹ demostraron que los aceites esenciales extraídos de *Cyclotrichium niveum* Boiss. poseen actividad antimicrobiana contra bacterias grampositiva y gramnegativa, cuatro de ellos presentes en este trabajo. Asimismo, comprobaron que la cepa bacteriana más resistente fue la *P. aeruginosa*.

En las cepas de *E. coli*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa* no hubo actividad antibacteriana para ninguna de las fracciones de la planta; se han descrito varios mecanismos de resistencia de estas cepas que podrían explicar a su vez la ausencia de actividad de los extractos evaluados frente a estos microorganismos, lo cual podría estar relacionado con la baja permeabilidad de la pared celular a los agentes bacterianos, la alta capacidad genética de expresar un amplio repertorio de mecanismos de resistencia, por mutaciones en los genes cromosomales que regulan la expresión de genes de resistencia y por la adquisición de genes de resistencia foráneos vía plásmidos, transposones y bacteriófagos.²⁰

En una amplia investigación realizada por *Sukanya* y otros²¹ en la India, con nueve especies diferentes de plantas frente a cuatro cepas bacterianas, se muestran resultados similares a los obtenidos en este trabajo. En ese sentido, no se encontraron principios activos solubles en etanol con actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*.

Se comprobó la existencia de una alta diversidad de metabolitos secundarios en los extractos secos de la planta *M. americana*, con predominio de los alcaloides, las coumarinas, los fenoles y taninos, las quinonas y los flavonoides, los cuales mostraron actividad antibacteriana *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737).

Por los efectos biológicos que han sido reportados, se sugiere realizar estudios más profundos sobre la actividad biológica de los extractos de esta planta, con el objetivo emitir un criterio más exhaustivo sobre su eficacia, como forma de constatar sus usos en la medicina natural y tradicional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Las plantas medicinales. Primera parte. Trabajo original en el Boletín de Nutrición Infantil CANIA. Año 4, No. 8. noviembre de 2003[Citado 5 Abr 2011]. Disponible en: http://www.slan.org.ve/publicaciones/completas/plantas_medicinales_1.asp
2. Peña A, Torres E. Algunas consideraciones sobre el empleo de productos naturales en la medicina natural y tradicional. Monografía. Bayamo, Cuba: Universidad de Granma; 2002. p. 2-6.
3. Rodríguez A. Actividad antifúngica *in vitro* de una crema de *Plantago major* L. (Llantén). Rev Cubana Plant Med. 1996;1(3):9-12.
4. Martínez CM, Victorio FM, Campos MD. Determinación del efecto diurético de *Cymbopogon citratus* (DC) Staff (caña santa). Rev Cubana Plant Med. 1996;1(3):13-7.
5. Monte MA. Perspectiva de la fitoterapia. Acta Farm Bonaerense. 1990;9(2):131-9.
6. León MC. Efecto diurético y toxicidad aguda del *Orthosiphon aristatus* (Blume) Té de Riñón. Rev Cubana Plant Med. 1996;1(3):26-30.

7. Bantar C, Sartori B, Vesco E. A hospital wide intervention program to optimize the quality of antibiotic use: impact on prescribing practice, antibiotic consumption, cost savings, and bacterial resistance. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1162-71.
8. Jasovich A. El control de los antibióticos ¿Hasta donde duela? *Rev Chil Infect.* 2003;20(1):63-9.
9. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Norma Ramal de Salud Pública No. 309. Medicamentos de origen vegetal: droga cruda. Métodos de ensayos. La Habana: MINSAP; 1992.
10. Carballo C. Desinfección química de *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit. *Rev Cubana Plant Med.* 2005;10(2):10-3.
11. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Norma Ramal de Salud Pública No. 312. Métodos de ensayos para la determinación de los requisitos de los extractos fluidos y tinturas. La Habana: MINSAP; 1998.
12. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Norma Cubana Salud Pública-313. Métodos de ensayos a partir de drogas crudas. Salud Pública. La Habana. MINSAP. 1998.
13. Cuba. Programa Nacional de Medicina Tradicional y Natural. Ministerio de Salud Pública. La Habana: MINSAP; 1999.
14. Sandoval D, Suárez O. Estudio fitoquímico preliminar de detección de alcaloides y saponinas en plantas que crecen en Cuba. *Rev Cubana Farm.* 1990;24(2):288-96.
15. Payo A. Tamizaje fitoquímico preliminar de plantas que crecen en Sierra de Nipe, Holguín. *Rev Cubana Farm.* 1996;30(2):120-31.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Disk Diffusion Supplemental Tables. M100-S17 (M2). CLSI: Wayne Pa; 2007.
17. Taiz LT, Zeiger E. Secondary Metabolites and Plant Defense. *Plant Physiology.* 4th ed. USA: Sinauer Associates, Inc.; 2006.
18. Gurinder JK, Daljit SA. Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi*. *BMC Complementary Alternative Med.* 2009;9:30.
19. Ahmet A. Antimicrobial activity of the essential oil of *Cyclotrichium niveum* (Boiss.) Manden. Et Scheng. *African J Microbiol Research.* 2009;3(8):463-7.
20. Lambert PA. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Royal Society Med.* 2002;95(41):22-6.
21. Sukanya SL. Antimicrobial activity of leaf extracts of Indian medicinal plants against clinical and phytopathogenic bacteria. *African J Biotechnology.* 2009;8(23):6677-82.

Recibido: 11 de enero de 2012.

Aprobado: 17 de junio de 2012.

Harold Remón Rodríguez. Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias Técnicas, Universidad de Granma, Bayamo, Cuba. Correo electrónico: hremonr@udg.co.cu