

Escuela de Farmacia y Odontología
Departamento de Ciencias Biológicas

ACCIÓN ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *RUBUS URTICAEFOLIUS*

Dr. José de Paula Silva¹ y Lic. Antonio Martins de Siqueira²

Resumen

Rubus urticaefolius, la mora de la mata, según "raiceros y conocedores de la planta"; es utilizada para el tratamiento de afecciones, en especial las de la cavidad oral. El género *Rubus* comprende especies populares como frambuesa, frambuesa silvestre, mora, mora de la mata, de gran dispersión por el Brasil. Fueron recogidas muestras y obtenidos extractos hidroalcohólicos de partes distintas del vegetal, se realizó la extracción con la planta verde y después se seca. El método para la determinación de la actividad antimicrobiana empleado fue el de la difusión en agar con orificios. Los extractos presentaron actividad antimicrobiana contra determinadas especies de bacterias. Fueron realizadas 2 extracciones en 2 ensayos de actividad antimicrobiana por el método de la difusión en agar *Müller-Hinton*, y *Sabouraud*. El extracto produjo halos de inhibición en cultivos de *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Descriptores DeCS: PLANTAS MEDICINALES; MEDICINA TRADICIONAL; ENFERMEDADES DE LA BOCA.

Summary

Rubus urticaefolius, multiberry of the bush, according to "experts in plants" is used to treatment of affections, specially those of oral cavity. Gender *Rubus* include popular species like raspberry, wild raspberry, multiberry, multiberry orchard, very scattered in Brazil. Samples were collected and hydroalcoholic extracts of different parts of the plant, were obtained. We made extraction while fluit was green and then, it was dried. Method used for assessment of antimicrobial activity was agar diffusion with holes. Extracts had antimicrobial activity against specific species of bacteria. Two extractions were performed in 2 trials of antimicrobial activity by method of *Müller-Hinton* and *Sabouraud* agar diffusion. Extract yields inhibition halos in cultures of *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*.

Subject headings: PLANTS, MEDICINAL; MEDICINE TRADITIONAL; MOUTH DISEASES.

El género *Rubus* es conocido popularmente como mora, siendo el género formado de plantas arbustivas con tallo subterráneo y formación de pseudofrutos, flores, blancas y tallo con espículas. La especie escogida *Rubus urticaefolius*, para este experimento fue la mora de la mata, que según "raiceros y conocedores de la planta" es utilizada para el tratamiento de afecciones, en especial las de la cavidad oral.

Según *Jorge* y otros (1993) en el Brasil en particular son conocidas como moras de la mata y comprenden 3 especies: *Rubus rosaefolius*, *Rubus brasiliensis* y *Rubus urticaefolius*.

Con relación a los constituyentes químicos del género *Rubus*, pueden ser observados según *Costa* (1994), ácidos libres, azúcares, sustancias pépticas, ácidos ascórbico, fólico, acético, caproico y benzoico, así como, cumarinas. Las semillas son ricas en ácido linoleico.

¹ Profesor Titular en Microbiología e Inmunología. EFOA. Departamento de Ciencias Biológicas. Escuela de Farmacia y Odontología. Alfenas, Minas Gerais. Brasil.

² Máster en Farmacología. EFOA. Universidad del Estado de Minas Gerais. Campus de Passos, Brasil.

La actividad antibacteriana del género *Rubus* ya fue evidenciada en la especie *Rubus pinfaensis*. Richards (1994) determinó la presencia de 5 tipos diferentes de componentes que demostraban actividad frente a la bacterias *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.¹⁻³

Segundo Nogueira (1998) planteó que el clima del Brasil y la situación geográfica contribuyen a la diversidad de plantas medicinales, y que entre las familias de plantas brasileñas que son fuente de medicamentos de uso popular la *Rosaceae* ha sido ampliamente utilizada.

Estudios farmacológicos de *Rosaceae* demostraban que el género *Rubus* podría ser fuente importante de principios activos, aunque pocos de ellos ya fueron descritos, como los glicosídeos de *Rubus brasiliensis* que es una fuente rica de medicamentos de uso popular utilizada en el sur y sureste brasileño. El autor afirma que ningún estudio farmacológico sobre esta especie fue encontrado en la literatura.⁴

Métodos

Las cosechas de *Rubus urticaefolius* fueron realizadas en el período de la mañana, en la propiedad denominada Sitio de la Laguna, en el municipio de Alfenas, Minas Gerais. Las muestras fueron embaladas y encaminadas para el laboratorio de Microbiología de la Escuela de Farmacia y Odontología de Alfenas (EFOA), para el procesamiento y producción de los extractos hidroalcohólicos.

Después de la cosecha del *Rubus urticaefolius*, y separación en tallo, hoja y fruto, cada parte fue dividida en 2 porciones de masas iguales. Una de las porciones fue triturada y sometida inmediatamente al proceso de extracción. La otra fue sometida a proceso de secado en estufa a 450 °C durante 48 h y, a seguir, sometida a extracción en las mismas condiciones establecidas para la primera.

La extracción consistió en macerar, separadamente cada parte vegetal, en solución hidroalcohólica a 70 % durante 5 d a temperatura ambiente. Cada extracto fue filtrado en papel filtro común y concentrado en rotoevaporador hasta que aparentemente todo el alcohol fue eliminado. Los extractos así obtenidos fueron mantenidos congelados hasta el momento de la evaluación de sus probables actividades antimicrobianas.⁵⁻⁷

Para las pruebas de evaluación de la actividad antibiótica de los extractos, fueron utilizadas placas de Petri de 9 cm de diámetro, que contenían 20 mL de agar Müller-Hinton (BIOLAB®), en el caso de los tests frente a la bacterias, y 20 mL de agar Sabouraud (BIOLAB®), cuando fue el análisis frente a hongos.

Fueron realizados orificios de 6 mm en el gel, se utilizó un agujereador de corchos previamente esterilizado. En cada placa los orificios fueron distribuidos equidistantemente y fueron 6 orificios periféricos y 1 central.

La suspensión de cada microorganismo en solución fisiológica estéril, corresponde al tubo No. 1 de la escala de Mac Farland, fue inoculada separadamente en la superficie del medio de cultivo. Las placas fueron dejadas en estufa a 37 °C por 20 min para seca de la superficie. A seguir, cada orificio recibió 25 mL del extracto estéril del vegetal. Uno de los orificios fue utilizado como control, el cual consistió solamente en una mezcla hidroalcohólica que recibió el mismo tratamiento de aquel dispensado en las partes vegetales. Después de la distribución de los extractos, las placas fueron incubadas en estufa a 37 °C durante 24 h.

La lectura fue realizada por la mensuración del diámetro del halo de la zona de inhibición, considerando inclusive el diámetro del orificio.

Los extractos hidroalcohólicos fueron estandarizados de tal forma que todos tuviesen en el final la misma concentración en relación con el peso original del vegetal.

Para el ajuste de la concentración fue utilizada agua bidestilada y deionizada. Se adoptó como patrón la concentración de 0,68 mg/mL, referente a la masa de la parte vegetal y el volumen final del extracto. Este valor fue determinado en función de la muestra que presentó menor relación final masa/volumen, después de la evaporación en el rotoevaporador.^{8,9}

Resultados

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos con la utilización de extractos obtenidos en la utilización de *R. urticaefolius*, planta verde y seca, frente a 12 muestras bacterianas y 2 fúngicas.

Los extractos aquí empleados no recibieron otro tratamiento que el descrito respecto al ajuste de pH o conservación y fueron obtenidos de tallo, hoja y fruto.

Por los resultados se puede observar que las bacterias *Bacillus sp* y *Staphylococcus aureus* sufrieron inhibición en todas las situaciones y las bacterias *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa* sufrieron inhibición en determinadas situaciones, además algunos microorganismos no presentaron inhibición, en ninguna situación.

La tabla 2 demuestra que el fruto presentó la mayor probabilidad media de inhibición, 50 %, seguido por el tallo 10,19 % y hoja 4,01 %.

Con relación al órgano de la especie vegetal con actividad, el tallo (01) posee probabilidad media de inhibición de 10,19 %, la hoja (02) posee probabilidad de 4,01 % y el fruto (03) de 50 %. Los datos de la tabla 3 demuestran que existen diferencias y estas son significativas a 1 % (calculados respectivamente 0,03 % y 0,01 %). Se puede evaluar por lo tanto que la capacidad inhibitoria del fruto es diferente del tallo y de la hoja, en esta secuencia.

TABLA 1. Medida del halo de inhibición de extractos de *Rubus urticaefolius*, del material recogido en agosto de 1997, frente a algunas bacterias y hongos

Microorganismos	Medida del halo de inhibición en mm					
	Tallo verde	Tallo seco	Hoja verde	Hoja seca	Fruto verde	Fruto seco
<i>Bacillus subtilis</i> LME-02*	10	10	0	0	13	13
<i>Bacillus sp</i> LME-16	11	11	11	10	15	14
<i>C. violaceum</i> LME -11	0	0	0	0	0	0
<i>E. faecalis</i> LME - 10	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> LME -08	0	0	0	0	11	10
<i>Proteus mirabilis</i> LME -12	16	15	13	15	13	13
<i>P. aeruginosa</i> LME -19	0	0	0	0	13	13
<i>S. enteritidis</i> LME -18	0	0	0	0	0	0
<i>Salmonella sp</i> LME - 04	0	0	0	0	0	0
<i>S. marcescens</i> LME - 21	0	0	0	0	0	0
<i>S. aureus</i> LME -15	15	15	11	10	14	13
<i>S. pyogenes</i> LME - 01	0	0	0	0	0	0
<i>C.neoformans</i> LME - 00	0	0	0	0	0	0
<i>Candida albicans</i> LME - CA	0	0	0	0	0	0

* Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Farmacia y Odontología de Alfenas.

TABLA 2. Determinación de la probabilidad media y probabilidad media en porcentaje de la actividad antimicrobiana de los extractos de *R. urticaefolius* con relación a la parte de la planta

Órganos de la planta	Probabilidad media	Probabilidad media (en porcentaje)
Tallo	0,101862	10,19 %
Hoja	0,040121	4,01 %
Fruto	0,5	50,00 %

TABLA 3. Determinación del Chi cuadrado de los contrastes de la actividad antimicrobiana en relación a la parte de la planta de *R. urticaefolius*, siendo 01 (tallo), 02 (hoja), 0,3 (fruto)

Contraste entre las partes de la planta	Chi cuadrado	Pr > Chi
0102 vs 03	13,2829	0,0003
01 vs 02	29,1151	0,0001

Discusión

Es común el empleo popular de partes vegetales con la finalidad de obtener variados efectos medicamentosos. Varios estudios han comprobado científicamente la eficacia de numerosos casos de tales usos. Entre las variadas aplicacio-

nes terapéuticas de los vegetales, se incluyen aquellas con finalidad antimicrobiana.

Las pesquisas dirigidas al estudio de los vegetales con potencial para auxiliar el tratamiento de numerosas enfermedades, podrán servir como instrumento de apoyo médico-social para un mayor grupo poblacional, principalmente aquel más carente. La propia industria farmacéutica se beneficia de los conocimientos en esa área, se han visto los recursos que anualmente son empleados en la pesquisa de principios activos en vegetales con posibles actividades terapéuticas.

Aliada a estos factores, se destaca la importancia de la transmisión de la información verbal por "raiceros y conocedores de la planta", como única forma de comunicación del conocimiento, en este caso la base científica, generalmente basada en experimentación empírica.

El experimento que envolvió la posible actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *R.urticaefolius* demostró la misma contra algunas especies bacterianas. Cultivos de *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, sufrieron inhibición de forma significativa, aunque otras especies no la hayan presentado.

Con relación a la parte de la planta con actividad antimicrobiana, se observó que la mejor acción fue obtenida por el fruto del *R. urticaefolius*, con 50 % de probabilidad media, seguida del tallo (10,1 %) y hoja (4 %). En la determinación de los contrastes, estas probabilidades medias fueron significativamente diferentes.

Conclusión

Los extractos de las muestras en las condiciones de los ensayos realizados presentaron actividad antimicrobiana contra determinadas especies bacterianas. El extracto sin neutralización produjo halos de inhibición en cultivos de *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, en proporciones variables.

Se puede concluir por tanto que el extracto de *R. urticaefolius* presenta actividad antimicrobiana frente a determinadas bacterias *Gram* positivas y *Gram* negativas, bien como cocos y bastones, entretanto no es capaz de inhibir el crecimiento de hongos.

La parte de la planta que presentó mayor actividad antibacteriana fue el fruto, seguido por el tallo y por la hoja.

La preparación del extracto que utilizó la planta verde recién recogida a la seca previa, no presentó diferencias significativas.

Se concluye por tanto que la especie vegetal *Rubus urticaefolius* presentó significativa actividad frente a algunas especies de bacterias *Gram* positivas y *Gram* negativas, aunque sin actividad antifúngica.

Referencias bibliográficas

1. Bauer AW. Current status of antibiotic susceptibility testing with single high potency discs. *Am J Med Technol* 1966;97-102.
2. Costa AF. *Farmacognosia*. 5ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian 1994;vol1:1580.
3. Durham DG, Liu X. A triterpene from *Rubus pinfaensis*. *Amsterdam: Phytochemistry*, 1994:1469-72.
4. Gomes FP. *Curso de estadística experimental*. 13ª ed., Piracicaba: Editorial Nobel, 1990:430.
5. Jorge LLF; Markman BED. Caracterização histológica das folhas e frutos de *Rubus rosaefolius* Smith. *Rev Inst Adolfo Lutz* 1993;1-4.
6. Martínez MJ. Actividad antimicrobiana del *Schinus terebenthifolius*. *Rev Cubana Plant Med* 1996;37-9.
7. _____. Evaluación de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava*. *Rev Cubana Plant Med* 1997;12-4.
8. Nogueira E. Anxiolytic effect of *Rubus brasiliensis* in rats and mice. *J Ethnopharmacol* 1998;111-7.
9. Richards RME, Liu X. Antibacterial activity of compounds from *Rubus pinfaensis*. *Plant Med* 1994;420-4.

Recibido: 1ro. de marzo del 2000. Aprobado: 12 de marzo del 2000.
Dr. José de Paula Silva. Escuela de Farmacia y Odontología "Rua Gabriel Montero da Silva", 714, Alfenas (Mg) Brasil. E mail: jpaula@passos.veng.br.