

ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE HOJA DE *Solanum elaeagnifolium*.

Ricardo Guadalupe López Ramos^{a,*}, Sonia Yesenia Silva Belmares^a, Lluvia Itzel López López^a, María Guadalupe de la Cruz Galicia^a, María Antonia González Zavala^a.

a) Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Investigación en Alimentos Blvd. V. Carranza e Ing. José Cárdenas. A.P. 935, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, México. *ricardolopez_1990@outlook.com

RESUMEN

Solanum elaeagnifolium (Solanaceae), posee potencial como agente nutracéutico y el fruto de esta planta ha sido empleada para la elaboración de queso artesanal. Esta especie vegetal se distribuye ampliamente en Coahuila. Los miembros de Solanaceae sintetizan una gran variedad de compuestos de importancia en alimentos y en biomedicina. Sin embargo no se cuenta con reportes como agente antimicrobiano ni de su composición química. Por lo que en este estudio se propuso realizar un análisis fitoquímico preliminar del extracto metanólico de hoja de *S. elaeagnifolium* (EMSe) y evaluar sus propiedades antimicrobianas sobre cepas multidrogoresistentes de importancia en alimentos. Los resultados relevaron efecto antibacteriano y la presencia de alcaloides y cumarinas.

ABSTRACT

Solanum elaeagnifolium (Solanaceae), has potential as a nutraceutical agent and the fruit of this plant has been used for producing artisan cheese. This plant species is widely distributed in Coahuila, members of Solanaceae synthesized a variety of compounds of importance in food and biomedicine. However there are no reports as an antimicrobial agent or chemical composition. In this study it was proposed to perform a preliminary phytochemical analysis from the methanolic extract of a *S. elaeagnifolium* leaf (EMSe) and evaluate its antimicrobial properties over multidrug resistance strains in food applications. The results revealed antibacterial effect and the presence of alkaloids and coumarins.

Palabras clave: *Solanum elaeagnifolium*, antimicrobiano, extracto metanólico.

Área: Microbiología y biotecnología.

INTRODUCCIÓN

Desde el descubrimiento de la penicilina, uno de los antibióticos más conocidos y empleados del mundo, se han reportado casos en los cuales se habla sobre un fenómeno de multidrogoresistencia, el cual genera cepas patógenas que han sido cada vez más difíciles de tratar y por ende ha obligado a las empresas farmacéuticas a desarrollar nuevas líneas de antibióticos y drogas que puedan hacer frente a los problemas de salud actuales (Kunin, 1993; Marquet et al., 2013; Franklin and Snow, 1989).

Las plantas tienen una capacidad de sintetizar una gran cantidad de compuestos que parecen no tener un papel importante en el metabolismo primario, a estos compuestos se les denomina metabolitos secundarios (Ms). Dentro de los Ms se encuentran alcaloides, cumarinas, sesquiterpenlactonas, entre otros. Los papeles que pueden desempeñar los Ms son muy variados, y dentro de ellos se mencionan los procesos de comunicación entre plantas y atracción de insectos, defensa de las plantas frente a plagas y patógenos, actividad antimicrobiana, antioxidante, inmunomoduladora, como sedantes, venenos, etc. (Bhatia et al., 2013; Tommaso et al., 2008).

Las plantas pertenecientes a la familia Solanaceae sintetizan una gran variedad de Ms que poseen actividad biológica entre los cuales se encuentran los alcaloides, pigmentos vegetales, terpenos, entre otros (Tommaso et al., 2008).

S. elaeagnifolium, también conocida por su nombre común como trompillo. Es una planta robusta perenne, que posee un complejo sistema de raíces capaces de alcanzar hasta los dos metros de profundidad. Sus hojas, de color verde a plateado grisáceo con un tamaño de entre 1 a 10 cm, tienen forma oblonga. Es originaria de América, encontrándose en gran cantidad en Norteamérica, norte de México y Argentina (Boys et al., 1984; Cirujeda et al., 2011).

Entre los compuestos químicos encontrados en *S. elaeagnifolium* se encuentra la solanina (alcaloide), que ha demostrado tener propiedades biológicas (Villaseñor and Espinosa, 1998), sin embargo no se cuenta con reportes de su evaluación como agente antimicrobiano ni de pruebas químicas que especifiquen la presencia de otros compuestos del metabolismo secundario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del extracto metanólico de *Solanum elaeagnifolium* (EMSe)

Se colectó la hoja de *S. elaeagnifolium* en una zona urbana, se lavó varias veces con agua y se dejó secar al sol durante unos 3 días, posteriormente se pulverizó e hizo un ensayo por triplicado en donde se usaron 3 frascos que contenían cada uno 10 gramos de la hoja pulverizada con 100 mL de metanol destilado, la extracción se realizó a temperatura ambiente en agitación constante durante 2 horas con 4 ciclos de velocidad usando un equipo de agitación automático Burrell.

El EMSe obtenido se filtró y se concentró en rotavapor BUCHI RE120, a una temperatura de entre 35°C – 45°C, para esto se empleó un recirculador a -6 °C marca LAUDA RA8, con esto se obtuvo el EMSe crudo, a partir del cual, se preparó una solución madre de 2,000.00 ppm y se mantuvo en congelación para su conservación y posterior análisis.

Caracterización fitoquímica preliminar del EMSe

Las pruebas para la caracterización fitoquímica preliminar del EMSe se realizaron en una placa de vidrio de 6 pozos, agregando 100 uL de la solución madre del EMSe a 2,000 ppm y 20 uL del reactivo correspondiente a cada prueba.

Para la prueba de Insaturaciones, se empleó KMnO_4 al 2%, la prueba resultó positiva si se observaba un cambio en la coloración con la consecuente aparición de un precipitado color café.

Para la determinación de cumarinas y lactonas, se usó NaOH al 10%, la reacción se consideró positiva si aparecía una coloración amarilla que desaparecía al acidular con 20uL de HCl, la prueba es positiva.

Para la determinación de alcaloides se empleó la prueba de Dragendorff, empleado una solución preparada con una mezcla de dos soluciones, una con nitrato de bismuto en ácido acético glacial y otra con yoduro de potasio en agua. La prueba se consideró positiva si ocurría la aparición de color naranja o rojo oscuro.

Para determinación de flavonoides se empleó la prueba de Shinoda, agregando una limadura de magnesio y posteriormente adicionando 20uL de HCl. La prueba se considera positiva con la aparición de colores naranja, rosa, rojo, azul o violeta.

Para determinar oxidrilos fenólicos se empleó la prueba del cloruro férrico donde se agregó al EMSe una solución de FeCl_3 en agua al 2.5%. Se considera positiva si se produce una coloración o precipitado rojo, azul, violeta o verde.

Para determinar azúcares reductores se empleó la prueba de Molisch, en la cual se mezclaron 300uL de EMSe con 60uL del reactivo de Molisch. La prueba es positiva si se forma un anillo coloreado en la interface.

Evaluación del efecto antimicrobiano:

La evaluación del efecto antibacteriano se realizó por el método de dilución en placa apegado a la normativa M11-A6, la cual especifica el empleo la solución de escala 0.5 del método de Mc. Farland para el ajuste de la suspensión bacteriana sobre la cual se evalúan diferentes antibacterianos.

Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro para microplacas BioTek ELx800 a 625 nm. Las pruebas se realizaron en microplacas de 96 pozos, la bacteria empleada para el ensayo de efecto antimicrobiano preliminar fue *Escherichia coli*, la solución bacteriana de trabajo fue de 1×10^6 UFC y medio líquido Muller Hinton. El rango de concentraciones probadas fue de 5,000 a 4.8 ppm del EMSe, además se probó un control positivo, uno negativo, un control de viabilidad y un blanco. Se incubaron las placas a 37°C durante un día y después se leyó en un lector de microplacas BioTek ELx800.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Análisis fitoquímico

Los resultados de las pruebas químicas del extracto metanólico de *S. elaeagnifolium* confirmaron la presencia de alcaloides, así como de otros metabolitos secundarios tales como: cumarinas y lactonas, además de la presencia de Insaturaciones como parte de las estructuras químicas presentes en el extracto. La presencia tanto de alcaloides como de cumarinas, muestra que *S. elaeagnifolium* podría ser una fuente importante de compuestos con actividad biológica, específicamente farmacológica y terapéutica, tal como la antimicrobiana reportada por Zaki en 2012 (Zaki et al., 2012).

Tabla 1. Análisis fitoquímico preliminar del EMse

Prueba química	Resultado
Cumarinas	Positivo
Insaturaciones	Positivo
Identificación de lactonas	Positivo
Alcaloides	Positivo
Flavonoides	Negativo
Oxidrilos fenólicos	Negativo
Azúcares reductores	Negativo

Actividad antimicrobiana

Los resultados de la actividad antimicrobiana sobre *E. coli* revelaron que el extracto metanólico de *S. elaeagnifolium* presenta efecto antimicrobiano a concentraciones bajas de 39 a 5 ppm, mostrando un efecto de hormesis, lo cual es un fenómeno de respuesta a dosis caracterizado por una estimulación por dosis baja y una inhibición de la actividad para dosis altas. Éste efecto es una característica en incontables medicinas: con las dosis recomendadas por los médicos tienen un efecto curativo. Según lo referido por Mark P. en 2009 (Mattson, 2009). Los resultados se presentan en el gráfico1. Por otro lado el control positivo mostró un efecto del 100% de inhibición hasta en la concentración más baja probada que fue de 5 ppm.

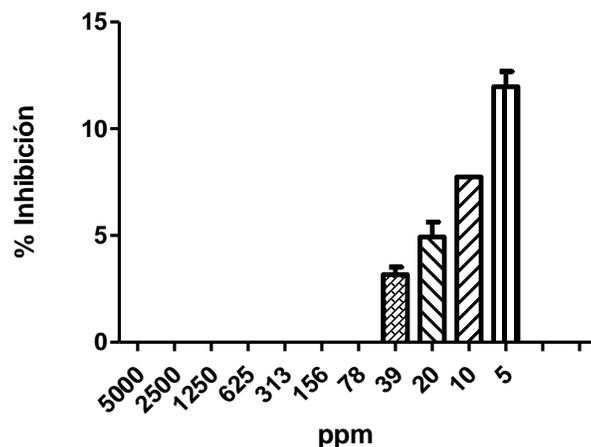


Grafico 1. Efecto antimicrobiano de *S. elaeagnifolium* sobre *E. coli*.

BIBLIOGRAFÍA

Kunin CM. 1993. Resistance to Antimicrobial Drugs—A Worldwide Calamity. *Ann Intern Med.* 7:557–561.

Marquet A, Ollivier F, Boutoille D, Thibaut S, Potel G and Ballereau F. 2013. A national network of infectious diseases experts. *Médecine et Maladies Infectieuses.* 43:11-12, 475–80.

Franklin TJ, GA Snow. 1989. Resistance to antimicrobial drugs. In: *Biochemistry of Antimicrobial Action*, Springer Netherlands. Chapman and Hall: New York, pp. 173–200.

Bhatia A, Bharti SK, Tewari SK, Sidhu OP and Roy R. 2013. Metabolic profiling for studying chemotype variations in *Withania somnifera* (L.) Dunal fruits using GC-MS and NMR spectroscopy. *Phytochemistry.* 93:105–15.

Tommaso R. I. Cataldi and Giuliana Bianco. 2008. Capillary Electrophoresis of Tropane Alkaloids and Glycoalkaloids Occurring in Solanaceae Plants. *Methods in Molecular Biology.* 384:171–203.

Boyd JW, Murray DS, Tyrl RJ. 1984. Silverleaf Nightshade, *Solanum elaeagnifolium*, Origin, Distribution, and Relation to Man. *New York Botanical Garden.* 38:210–217.

Cirujeda A, Fernández-Cavada S, Aibar J, León M and Zaragoza C. 2011. *Solanum elaeagnifolium* Cav. Disponible en: http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/AgriculturaAlimentacion/Areas/03_Sanidad_Vegetal/01_ProteccionVegetal/PublicacionesCPV/Informaciones_Tecnicas/HOJA_INFORMATIVA_SOLANUM_ELAEAGNIFOLIUM.pdf

Villaseñor Rios and Espinosa Garía. 1998. Catálogo de malezas de México. México. Fondo de Cultura Económica: México. pp. 448

Zaki RM, Elossaily YA and Kamal El-Dean AM. 2012. Synthesis and antimicrobial activity of novel benzo[f]coumarin compounds. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry.* 6:639–646.

Mattson, MP. (2008). Hormesis defined. *Ageing Research Reviews*, 7(1), 1–7.
doi:10.1016/j.arr.2007.08.007