

Estudio antibacteriano y fitoquímico preliminar de la *Nicandra john-tyleriana* (capulí cimarrón)

Preliminary antibacterial and phytochemical study of *Nicandra john-tyleriana* (capuli cimarron)

Fredy Pérez Azahuanche¹, Fernando Rodríguez Avalos²,
Pedro Lezama Asencio³, José González Cabeza⁴,
María Elena León Marrou⁵, Tulia Jave Gutierrez⁶

RESUMEN

Nicandra john-tyleriana es una nueva especie, conocida comúnmente como “capulí cimarrón”, pertenece a la familia Solanaceae. Probablemente, sus raíces pueden ser usadas como inhibidores de crecimiento bacteriano de los géneros *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Proteus* y *Pseudomonas*. Se realizó ensayos antibacterianos y fitoquímicos preliminares en el fruto, tallo y raíces. *Nicandra john-tyleriana* fue recolectada en el distrito de Salpo, provincia de Otuzco, región La Libertad (Perú). El ensayo antibacteriano se realizó mediante el método de difusión en agar y los metabolitos secundarios fueron determinados cualitativamente mediante ensayos a la gota. El fruto mostró un mayor efecto antibacteriano frente a las cepas ensayadas. En el fruto, tallo y raíces se encontraron: esteroides, flavonoides, cardiotónicos, taninos y antocianinas; adicionalmente, en las raíces se detectaron saponinas.

Palabras clave: *Nicandra john-tyleriana*, ensayo a la gota, metabolitos secundarios, actividad antibacteriana.

ABSTRACT

Nicandra john-tyleriana is a new specie, is known commonly as “capuli cimarron”, belongs to the Solanaceae family. Likely, the roots can be used as inhibitors of bacterial growth of *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Proteus* and *Pseudomonas* gen. Samples were collected in Salpo, province of Otuzco, department of La Libertad (Perú). Preliminary phytochemical and antibacterial test of fruit, stem and roots of *Nicandra john-tyleriana* were carried out with the purpose to determine, qualitatively, secondary metabolites. Drop test and agar well diffusion method were used for secondary metabolites and antibacterial activity, respectively. The ethanol extract of fruit showed the most antibacterial effect. Steroids, flavonoids, cardiotonics, tannins, anthocyanins compounds were found in fruit, stem and roots. Roots also showed the presence of saponins.

Key words: *Nicandra john-tyleriana*, drop test, secondary metabolites, antibacterial activity.

¹ Ingeniero Químico. Doctor en Ciencias c/mención Química. Profesor Asociado de la Universidad Privada Antenor Orrego.

² Ingeniero Químico. Doctor en Educación. Profesor Principal de la Universidad Privada Antenor Orrego.

³ Biólogo. Magister en Biotecnología. Profesor Asociado de la Universidad Privada Antenor Orrego.

⁴ Biólogo. Doctor en Biotecnología. Profesor de la Universidad Privada Antenor Orrego.

⁵ Ingeniera en Industrias Alimentarias. Magister en Industrias Alimentarias.

⁶ Ingeniera Química. Magister en Ciencias.

INTRODUCCIÓN

El Perú es un país con alta riqueza de especies vegetales curativas, en especial las de la zona norte y la selva, tal como lo demuestran los estudios realizados por Bussmann y Sharon (2006), con 510 especies de plantas medicinales correspondientes a los Departamentos de La Libertad, Piura, Lambayeque, Cajamarca y San Martín; agrupados principalmente en familias Asteraceae (69 especies), Fabaceae (35), Lamiaceae (25), Solanaceae (21), Euphorbiaceae (12) y Apiaceae-Poaceae (11). Así mismo, los estudios realizados por De Feo (1992), Molina (1990 y 2000), Roersch (1994), Villegas (1997), Bussmann y Sharon (2007), complementan la información sobre el uso medicinal y mágico de las especies medicinales.

Una de las áreas de investigación de mayor atención es el de la actividad antibacteriana de las plantas medicinales. Así, Magassouba *et al.* (2007) estudiaron 218 plantas medicinales de Nueva Guinea; Ferreira de Lima *et al.* (2006), 25 de Brazil; Palombo y Semple (2001), 39 de Australia; Rabe y Staden (1999), 21 de Sud Africa. En el Perú, Kloucek *et al.* (2007) estudiaron 6 especies vegetales del Departamento de Ucayali: *Abuta grandifolia* (Menispermaceae), *Dipteryx micrantha* (Leguminosae), *Cordia alliodora* (Boraginaceae), *Naucleopsis glabra* (Moraceae), *Pterocarpus rohrii* (Leguminosae), corteza radicular de *Maytenus macrocarpa* (Celastraceae); Kloucek *et al.* (2005) estudiaron nueve especies vegetales: *Brunfelsia grandiflora* (Solanaceae), *Caesalpinia spinosa* (Caesalpinaceae), *Dracontium lorentense* (Araceae), *Equisetum giganteum* (Equisetaceae), *Maytenus macrocarpa* (Celastraceae), *Phyllanthus amarus* (Euphorbiaceae), *Piper aduncum* (Piperaceae), *Terminalia catappa* (Combretaceae), y *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae); Langfield *et al.* (2004) estudiaron a *Peperomia galioides*, y Neto, *et al.* (2002) estudiaron 08 plantas medicinales del Callejón de Huaylas.

Se afirma que a nivel mundial existe especial interés en el estudio de las propiedades antibacterianas de las plantas medicinales de uso popular, mediante extractos acuosos y etanólicos, y que en el Perú sólo en algunas zonas se ha llevado a cabo dicho estudio, donde sólo algunas especies de la diversidad biológica han tenido mayor atención (maca, uña de gato, sangre de grado, entre otros).

En La Libertad, zona de abundante riqueza en plantas medicinales, es necesario desarrollar estudios similares con las especies vegetales conocidas y, en especial, de nuevas especies para brindar una nueva fuente medicinal alternativa para la mayoría de la población.

Leyva y Pereyra (2007) han reportado el descubrimiento de una nueva especie vegetal denominada *Nicandra john-tyleriana* (Solanaceae), comúnmente llamada “capulí cimarrón”, que es abundante en el norte del Perú, en consecuencia, no está amenazada por la extinción. Indican además que, probablemente, las raíces pueden ser usadas como inhibidores de crecimiento bacteriano de los géneros *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Proteus* y *Pseudomonas*.

Nicandra john-tyleriana S. Leiva & E. Pereyra habita en el distrito de Salpo, provincia de Otuzco, Departamento La Libertad, crece entre los 1400 - 2550 m de elevación, presenta las flores dispuestas en ramas terminales dando la apariencia de racimos, el interior de la corola con 5 manchas púrpura-intenso, ligeramente romboidales, brillantes, en la hemialtura del tubo corolino sobre las nervaduras principales, anteras amarillas, ovario cremoso con disco nectarífero anaranjado-intenso, estilo cremoso, baya con el rezago del estilo persistente, pedúnculo fructífero con un anillo morado-intenso en el área de inserción al tallo y doblado 180° el área distal (Figura 1). A la fecha no se tiene reportado la composición de los metabolitos secundarios ni de la estructura de algún componente químico de la *Nicandra john-tyleriana* (Solanaceae).

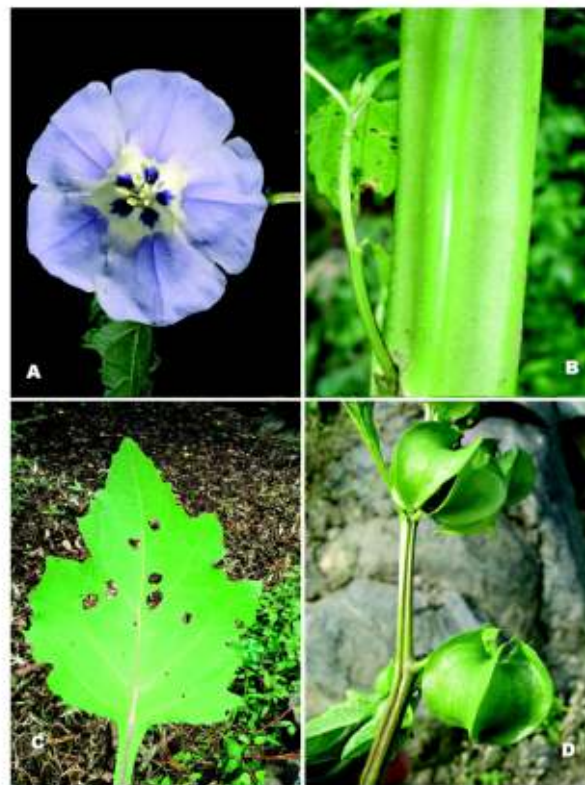


Figura 1. *Nicandra john-tyleriana*, capulí cimarrón. A. Rama florífera; B. Tallo; C. Hoja; D. Fruto

El presente trabajo es un estudio inicial sobre la actividad antibacteriana y fitoquímico preliminar de la *Nicandra john-tyleriana* (Solanaceae), capulí cimarrón.

MATERIAL Y MÉTODO

Especie vegetal

Nicandra john-tyleriana (Solanaceae) fue colectada en enero del 2009 en el distrito de Salpo y registrada en el Herbario UPAO como: S. Leiva & E. Pereyra 3615, HAO. El fruto, tallo y raíz fueron separados manualmente, luego secadas a 40 °C en una estufa (Selecth-Digitheat) y, posteriormente, pulverizados en un molino mecánico. El producto seco y molido se guardó en sobres Manila.

Preparación de extractos

Se pesó tres muestras secas y molidas de fruto con pesos de 3; 3 y 5 g, luego, se empaquetaron con papel filtro y colocaron en vasos de 200 mL. A continuación se agregó, a cada vaso, 30 mL de solvente de diferente polaridad (cloroformo, etanol y agua), respectivamente, y se taparon con luna de reloj. Se sometieron a ebullición en baño maría por espacio de 5 minutos, evitando que se evapore el solvente. Los paquetes fueron retirados; El correspondiente al extracto acuoso (5 g) se colocó en otro vaso de 200 mL, donde se le agregó 30 mL de HCl al 1% y se sometió a calentamiento en baño maría por 5 minutos. El mismo procedimiento fue repetido para el tallo y la raíz. Los 12 extractos obtenidos fueron sometidos al ensayo fitoquímico preliminar. Sólo los extractos acuosos y etanólicos se sometieron al ensayo antibacteriano.

Análisis fitoquímico preliminar

Los ensayos fitoquímicos preliminares se realizaron según Cain *et al.* (1961) citado por Domínguez (1973) empleando el análisis a la gota con los extractos, del fruto y tallo, para determinar los metabolitos secundario. En los extractos clorofórmicos se realizaron los ensayos para esteroides (*Liebermann-Burchard*) y quinonas (*Bomtrager*); en los etanólicos, para flavonoides (*Shimoda*), cardiotónicos (reactivo de Kedde), compuestos fenólicos (cloruro férrico); en los acuosos, para compuestos fenólicos (cloruro férrico), saponinas (espuma) y antocianinas; y en los ácidos, para alcaloides (*Dragendorff*, *Mayery Wagner*).

Estudio antibacteriano

Se empleó el método de difusión en agar; extractos etanólico y acuoso. Las cepas usadas fueron: *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Enterococcus faecalis* ATCC

51299, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* LT2, *Enterococcus faecium* y *Pseudomonas*. Como control positivo se empleó fenol al 10% y control negativo etanol al 96%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los Cuadros 1, 2 y 3 se reportan los metabolitos secundarios detectados en el fruto, tallo y raíz, respectivamente. La presencia de los metabolitos secundarios fueron deducidas de sus colores característicos en cada ensayo: esteroides (verde-azul), flavonoides (rojo a magenta), compuestos fenólicos (amarillo verdoso), antocianinas (cambio de color según pH), y para las saponinas se usó la prueba de la formación de espuma. La prueba de alcaloides fue negativa.

Los resultados muestran que el fruto, tallo y raíz de la *Nicandra john-tyleriana* (Solanaceae) presentan esteroides, flavonoides, cardiotónicos, taninos, antocianinas y sólo la raíz presenta saponinas. Esta diferencia química debería estudiarse para uso medicinal.

Los flavonoides han demostrado tener un amplio espectro de actividad biológica, tales como propiedades anticancerígenas (Middleton *et al.*, 2000), antivirales (Selway, 1986), antiinflamatoria (Middleton *et al.*, 2000; Gabor, 1986) y efectos para reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Middleton *et al.*, 2000; Facino *et al.*, 1999). Las saponinas son antibacterianas (Townsend *et al.*, 2006), los esteroides antivirales (Castilla *et al.*, 2009), los cardiotónicos incrementan la fuerza del músculo cardíaco (Takechi, M. 1998).

Los estudios antibacterianos de los extractos acuosos de las diferentes partes de las plantas no efectos positivos; por el contrario, los alcohólicos si mostraron tal actividad con todas las cepas ensayadas, en especial el fruto (Cuadro 4).

El perfil fitoquímico obtenido indicó que esta nueva especie podría usarse como planta medicinal con amplio espectro de actividad biológica. El estudio antibacteriano indicó cualitativamente que el fruto podría ser usado como un potencial antibacteriano natural. Los extractos etanólicos de la raíz, tallo y fruto mostraron mayor efectividad antibacteriana frente a la *Salmonella typhimurium* LT2, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas*. Sin embargo, es necesario continuar con los estudios para encontrar la dosis letal media, la concentración mínima inhibitoria; así como separar los componentes puros responsables de tal actividad biológica.

Cuadro 1
METABOLITOS SECUNDARIOS EN EL FRUTO
DE LA *Nicandra john-tyleriana* (Solanaceae)
EN LOS EXTRACTOS CON DIFERENTES SOLVENTES

Ensayo	Cloroformo	Etanol (96%)	Agua	HCl 1%
Esteroides	+			
Quinonas	-			
Flavonoides		+		
Cardiotónicos		+		
Taninos		+	+	
Saponinas			-	
Antocianinas			+	
Alcaloides				-

(+) : Presencia
 (-) : Ausencia

Cuadro 2
METABOLITOS SECUNDARIOS DEL TALLO
DE LA *Nicandra john-tyleriana* (Solanaceae)
EN LOS EXTRACTOS CON DIFERENTES SOLVENTES

Ensayo	Cloroformo	Etanol (96%)	Agua	HCl 1%
Esteroides	+			
Quinonas	-			
Flavonoides		+		
Cardiotónicos		+		
Taninos		+	+	
Saponinas			-	
Antocianinas			+	
Alcaloides				-

(+) : Presencia
 (-) : Ausencia

Cuadro 3
METABOLITOS SECUNDARIOS EN LA RAZ
DE LA *Nicandra john-tyleriana* (Solanaceae)
EN LOS EXTRACTOS CON DIFERENTES SOLVENTES

Ensayo	Cloroformo	Etanol (96%)	Agua	HCl 1%
Esteroides	+			
Quinonas	-			
Flavonoides		+		
Cardiotónicos		+		
Taninos		+	+	
Saponinas			+	
Antocianinas			+	
Alcaloides				-

(+) : Presencia
 (-) : Ausencia

Cuadro 4

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA *Nicandra john-tyleriana* (Solanaceae)
FRENTE A DIFERENTES CEPAS (halo de inhibición en mm)

Cepas bacterianas	Fenol 10%	Etanol 96%	Extracto etanólico		
			Raíz	Tallo	Fruto
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	15	10	8	12	14
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	15	10	13	14	15
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	14	10	10	13	10
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	14	10	16	14	13
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	15	9	14	11	13
<i>Salmonella typhimurium</i> LT2	13	8	12	15	15
<i>Enterococcus faecium</i>	14	10	10	14	13
<i>Pseudomonas</i>	14	9	12	11	14

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Segundo Leyva Gonzáles de la Universidad Privada Antenor Orrego por la proporción de la planta para su estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bussmann, R. and D. Sharon, (2007) *Plants of the tour winds- The magic and medicinal flora of Peru*. Editorial Graficart, Trujillo-Perú.
- Bussmann, R. y D. Sharon, (2006) Traditional medicinal plant use in Northern Peru: tracking two thousand years of healing culture. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2:47.
- Cain B. F., Griffin W. J., Wall M. E. 1961. *New Zealand J. Sci.* 4, 3.
- Castilla, V.; Ramírez, J.; y Coto, C.E. 2009. *Química Viva - Número 1*, año 8: 8-25.
- De Feo V., (1992) Medicinal and magical plants on northern Peruvian Andes. *Fitoterapia*, 63, pp. 417-440.
- Dominguez X. 1973. *Métodos de Investigación Fotoquímica*, México, Edit. Limusa.
- Facino, R.M.; Carini, M. Aldini, G.; Berti, F.; Rossoni, G.; Bombardelli, E.; and Morazzoni, P. 1999. Diet enriched with procyanidins enhances antioxidant activity and reduces myocardial post-ischemic damage in rats. *Life Sci* 64: 943-949.
- Ferreira de Lima, M. R., et al., (2006) Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 105, 1-2, pp. 137-147.
- Kloucek, P. et al., (2005) Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Callería District. *Journal of Ethnopharmacology* 99, 2, pp. 309-312.
- Kloucek, P. et al., (2007) Antimicrobial activity of some medicinal barks used in Peruvian Amazon. *Journal of Ethnopharmacology* 111, 2, pp. 427-429.

Langfield, R. D. et al., (2004) Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. *Journal of Ethnopharmacology* 94, 2-3, pp. 279-281.

Leiva, S y Pereyra V. 2007. *Nicandra john-tyleriana* (Solanaceae) una nueva especie del Norte del Perú. *Arnaldoa* 14, 1, pp. 45-52.

Magassouba, F. B., et al., (2007) Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 114, 1, pp. 44-53.

Middleton, E.J.R.; Kandaswami, C., y Theoharides, T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev* 52: 651-673.

Molina C., (1990) The magic plants of ancient Peru. *Atti del V Congresso Nazionale della Società Italiana di Fitochimica*, Lp2.

Molina C., (2000) La uña de gato y su entorno. De la selva a la farmacia. Universidad de San Martín de Porres, Lima.

Palombo, E. A. and S. J. Semple, (2001) Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 77, 2-3, pp. 151-157.

Rabe, T. and J. Van Staden (1999) Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. *Journal of Ethnopharmacology* 56, 1, pp. 81-87.

Roersch C., (1994) *Plantas medicinales en el sur andino del Perú*. Koeltz Scientific Books, Königstein.

Selway, J.W. 1986. Antiviral activity of flavones and flavans. *Prog Clin Biol Res* 213: 521-536.

Takechi, M. y col., 1998. *Planta Med.* 64 (2): 179.

Townsend, B; Jenner, H. y Osbourn, A. 2006. Saponin glycosylation in cereals. *Phytochemistry Reviews* 5: 109-114.

Villegas, L. F. et al., (1997) Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. *Journal of Ethnopharmacology*, 55, pp. 193-200.