

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE *ANNONA*
DIVERSIFOLIA SAFFORD Y *ANNONA PURPUREA* MOCIÑO
& SESSÉ EX DUNAL

Lorena M. Luna-Cazáres

Alma R. González-Esquinca

Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal, Escuela de Biología. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Libramiento Norte-Poniente s/n, Colonia Lajas Maciel CP 29039, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

RESUMEN

El género *Annona*, en el estado de Chiapas, está representado por 12 especies, las más comunes *Annona diversifolia* "papausa" y *Annona purpurea* "chincuya", las que son empleadas por indígenas y campesinos por sus propiedades antidiarreica, anticatarral, antitusígena y para combatir piojos y chinches. Debido a su empleo en padecimientos de origen bacteriano, en este estudio se evaluó la actividad antibacteriana de extractos crudos de ambas especies sobre *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella* Typhi (ATCC 6539) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883). Las semillas de *A. purpurea* fueron las más activas y *Salmonella* Typhi fue la bacteria más susceptible seguida de *Klebsiella pneumoniae*. Así, los extractos de *A. diversifolia* y los obtenidos del tallo de *A. purpurea* no tuvieron efecto inhibitorio sobre las bacterias ensayadas.

Palabras clave: *Annona*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhi, *Klebsiella pneumoniae*, extractos vegetales, uso tradicional.

ABSTRACT

In the state of Chiapas *Annona* is represented by twelve species, the most common of

which are *A. diversifolia* (papausa) and *A. purpurea* (chincuya). These are employed by ethnic populations and farmers owing to their antidiarrheal, anticold and anticough properties and their ability to combat lice and bedbugs. In this study the antibacterial activity of crude extracts of both species was evaluated on *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella* Typhi (ATCC 6539) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883). The extracts from *A. purpurea* were the most active, and *S. Typhi* was the most susceptible bacterium followed by *K. pneumoniae*. Extracts from stems of *A. diversifolia* and *A. purpurea* did not exhibit an antimicrobial effect on the tested bacteria.

Key words: *Annona*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhi, *Klebsiella pneumoniae*, plant extracts, traditional use.

INTRODUCCIÓN

Con la finalidad de controlar ciertos padecimientos, entre ellos los infecciosos, el hombre ha utilizado las plantas para la elaboración de medicamentos. Las plantas constituyen una fuente natural en la búsqueda de compuestos con actividad farmacológica. Mediante técnicas microbiológicas se ha demostrado que una gran cantidad

de extractos y compuestos provenientes de plantas tienen actividad sobre microorganismos asociados a enfermedades infecciosas (Mukhlesur *et al.*, 2005; Hamza *et al.*, 2006; Prashanth *et al.*, 2006).

Algunas especies de la familia Annonaceae, entre ellas *Annona diversifolia* Safford y *Annona purpurea* Mociño & Sessé ex Dunal, se usan en la medicina tradicional de México y otros países de América para curar diversos padecimientos. *A. diversifolia* se utiliza como antidiarreico (el fruto verde), anticatarral (las hojas tiernas), para tratar luxaciones (la corteza asada) y como antiinflamatorio (las hojas) (Guzmán, 1975; Rivas *et al.*, 2003; González-Trujano *et al.*, 1998); mientras que *A. purpurea* se usa para bajar la fiebre (el fruto o las hojas), para tratar la tos, el catarro y la diabetes (las hojas), como antidisentérico (la corteza), y la ictericia (jugo del fruto) (Gupta, 2004, López *et al.*, 1999; Morton, 1987; Roig, 1988; Díaz, 1976).

Con el propósito de ampliar los conocimientos existentes sobre productos naturales para su potencial aplicación terapéutica, en el presente trabajo se determinó la actividad antimicrobiana de diferentes extractos obtenidos de semillas, tallos, hojas y raíces de *A. diversifolia* y *A. purpurea* sobre *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhi* y *Klebsiella pneumoniae*.

MÉTODO

Material vegetal. Las plantas se colectaron en etapa de fructificación en la Delegación de Copoya, municipio de Tuxtla Gutiérrez,

Chiapas, México. Se depositaron los ejemplares de respaldo en el Herbario Eizi Matuda de la Escuela de Biología de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas con los números de registro 348 para *A. diversifolia* y 345 para *A. purpurea*.

Obtención de los extractos. Cincuenta gramos de material vegetal seco y molido se extrajeron selectivamente tres veces durante ocho horas (24 h) con hexano (H), acetato de etilo (AcOEt) y metanol (MeOH) en un equipo soxhlet. Los extractos se concentraron a presión reducida con un rotaevaporador.

Concentraciones de prueba. Se disolvieron 50 mg de cada extracto en 1 mL de cada uno de los disolventes empleados, mediante diluciones se obtuvieron concentraciones de 2.5, 5 y 10 mg/mL

Evaluación de la actividad antimicrobiana. Se realizó mediante la técnica de difusión en agar Mueller Hinton usando discos de papel filtro adicionados con 2.5, 5 y 10 mg de cada extracto (Bauer *et al.*, 1966; Andrews, 2005). Los discos impregnados con los extractos fueron ensayados contra *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella* Typhi (ATCC 6539), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883) provenientes del cepario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, registrado en la World Federation of Culture Collection. Los controles negativos fueron discos impregnados con cada uno de los disolventes con los que se diluyeron los extractos y como control positivo se empleó gentamicina (10 µg/disco). Los cultivos se incubaron por 18

* En este artículo se emplea la nueva taxonomía para *Salmonella typhi*, en la que el nombre completo es *S. enterica* subsp. *enterica* ser. Typhi pero que se acorta a *Salmonella* Typhi (Brenner *et al.*, 2000).

h a 37°C y se procedió a medir los halos de inhibición. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

RESULTADOS

Se obtuvieron resultados positivos con los extractos hexánicos y de acetato de etilo obtenidos a partir de raíces, hojas y semillas de *A. purpurea*, los extractos de tallo de esta especie y todos los obtenidos con *A. diversifolia* en las concentraciones ensayadas, no mostraron actividad frente a las bacterias utilizadas en el ensayo (tabla 1).

El extracto de semillas de H sólo inhibió a *S. Typhi* y los de AcOEt inhibieron el crecimiento de las tres bacterias; sobre *Klebsiella pneumoniae* únicamente tuvieron actividad las concentraciones más altas.

El extracto de AcOEt de hojas produjo halos muy semejantes en las tres concentraciones

sobre *S. Typhi* y *K. pneumoniae*; mientras que el extracto de raíces de AcOEt y MeOH inhibieron a *S. Typhi* en las concentraciones más altas (5 y 10 mg/d). El extracto de tallo fue inactivo frente a las bacterias empleadas.

Las cepas de *S. Typhi* y *E. coli* mostraron diámetros de inhibición semejantes con el extracto de AcOEt obtenido de semillas de *A. purpurea*, los diámetros de inhibición mayores fueron de 14 mm, producidos con una concentración de 10 mg/d, y el extracto metanólico de raíces a la misma concentración inhibe el crecimiento de *S. Typhi* con el mismo diámetro (14 mm). Los extractos hexánicos de semillas fueron los únicos con actividad y sólo inhibieron a *S. Typhi*.

E. coli fue el microorganismo menos sensible a los extractos en las concentraciones probadas, mientras que *S. Typhi* fue el más susceptible.

Tabla 1. Actividad antibacteriana de extractos de *A. purpurea*.

Bacterias	<i>Escherichia coli</i>			<i>Salmonella Typhi</i>			<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
	H	AcOEt	MeOH	H	AcOEt	MeOH	H	AcOEt	MeOH
Extractos mg/d									
Diámetro de la zona de inhibición (mm)									
Semillas									
2.5	-	8	-	9	8	-	-	-	-
5	-	10	-	10	9	-	-	7	-
10	-	14	-	11	14	-	-	8	-
Raíces									
2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	8	11	-	-	-
10	-	-	-	-	10	14	-	-	-
Hojas									
2.5	-	-	-	-	7	-	-	7	-
5	-	-	-	-	7	-	-	8	-
10	-	-	-	-	8	-	-	9	-
G (10 µg/d)	28			24			26		

H: hexano, AcOEt: acetato de etilo, MeOH: metanol; G: gentamicina; -: sin actividad mg/d: miligramo por disco; µg/d: microgramo por disco.

DISCUSIÓN

Son escasos los estudios antibacterianos realizados con especies de *Annona*, entre ellos, Lino y Deogracius (2006) señalan la inactividad del extracto metanólico de raíz de *Annona senegalensis* contra *E. coli* en concentraciones de 1 mg/mL y Mukhlesur *et al.* (2005) determinaron la actividad de extractos de semillas de *A. squamosa* frente a *S. Typhi* (halos de 13 a 20 mm de diámetro) y *Klebsiella* spp. (halos de 14 a 25 mm de diámetro) en concentraciones de 200 y 400 µg/d. Entre las especies no reportadas están las evaluadas en este ensayo.

A. purpurea y *A. diversifolia* se usan en las comunidades para tratar enfermedades de origen bacteriano, hasta ahora se desconoce si existen criterios de elección para algún padecimiento particular; sin embargo nuestros resultados señalan que al parecer los extractos de *A. diversifolia* no tienen efectividad en el tratamiento de las afecciones gastrointestinales y respiratorias provocadas por *S. Typhi*, *E. coli* y *K. pneumoniae*.

Asimismo, se puede señalar que *A. purpurea* es una planta con propiedades antibacterianas sobre las cepas empleadas en este ensayo y que las sustancias responsables se encuentran diferencialmente distribuidas en la planta.

Las semillas y raíces de *A. purpurea* que no tienen un uso medicinal tradicional, presentan actividad antibacteriana, en tanto que las hojas utilizadas por campesinos e indígenas (Rivas *et al.*, 2003; González-Trujano *et al.*, 1998; Gupta, 2004, López *et al.*, 1999; Díaz, 1976) en nuestro estudio no inhiben el crecimiento de *E. coli* y los halos de inhibición que producen sobre *S. Typhi* y *K. pneumoniae* son muy pequeños.

Las semillas de *A. purpurea* son activas frente a las tres especies probadas; las hojas no inhibieron el crecimiento de *E. coli* y las raíces solamente fueron activas contra *S. Typhi*, debido a que los halos de inhibición de las hojas son muy pequeños, este trabajo no corrobora su uso tradicional para padecimientos provocados por las bacterias ensayadas. Sin embargo, mediante otro tipo de extracción y analizando otras condiciones, podría ser posible la validación científica de esos usos.

CONCLUSIONES

A. purpurea tiene propiedades antibacterianas, siendo las semillas las idóneas para la búsqueda biodirigida de compuestos con actividad antibacteriana, en tanto que *A. diversifolia* podría ser ensayada con otros microorganismos, otros solventes y otras condiciones que asemejen su uso tradicional.

LITERATURA CITADA

- Andrews, J.M., 2005. "BSAC standardized disc susceptibility testing method". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **56**: 60-76
- Bauer, A.W., W. M. M. Kirby, J. C. Sherris, M. Tuck, 1966. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method". *American Journal Clinical Pathology*, **45**: 493-496.
- Brenner, F.W., R.G. Villar, F.J. Angulo, R. Tauxe, B. Swaminthan, 2000. "Salmonella nomenclature". *Journal of Clinical Microbiology*, **38**(7): 2465-2467.

- Díaz, J.L., 1976. "Usos de las plantas medicinales de México". *Monografías Científicas I*. IMPELAN, pp. 6.
- González-Trujano, M.E., A. Navarrete, B. Reyes, E. Hang, 1998. "Some pharmacological effects of the ethanol extract of leaves of *Annona diversifolia* on the central nervous system in mice". *Phytoterapy Research*, **12**: 1-3.
- Gupta, M.H., 2004. "Investigaciones farmacognósticas sobre la flora panameña". *Anales Real Academia Nacional de Farmacia*, **70**: 839-883,
- Guzmán, D.J., 1975. *Especies útiles de la flora salvadoreña*. Tomo I. Ministerio de Educación. San Salvador, El Salvador, pp. 73.
- Hamza, O.J.M., C.J.P. van den Bout-van den Beukel, M. I. N. Matee, M. J. Moshi *et al.*, 2006. "Antifungal activity of some Tanzanian plants used traditionally for the treatment of fungal infections". *Journal of Ethnopharmacology*, **108**(1): 124-132.
- Lino, A., O. Deogracious, 2006. "The *in vitro* antibacterial activity of *Annona senegalensis*, *Securidacca longipendiculata* and *Steganotaenia araliacea* Ugandan medicinal plants". *African Health Sciences*, **6**(1): 31-35.
- López, D.H., J.C. Baltasar Barajas, A. Gracia Navarro, J. Angulo Rubio, 1999. *Análisis socioeconómico de la cabeza de negro en los municipios de Casimiro Castillo y Cuautitlán, Jalisco*. Universidad de Guadalajara, México, pp. 10.
- Morton, J., 1987. "Soncoya". In: *Fruits of warm climates*. Miami, Florida, pp. 85.
- Mukhlesur Rahman, M.M., Sh. Parvin, M. Ekramul Haque, M. Ekramul Islam, M.A. Mosaddik, 2005. "Antimicrobial and cytotoxic constituents from the seeds of *Annona squamosa*". *Fitoterapia*, **76**: 484-489.
- Prashanth Kumar, V., N.S. Chauhan, H. Padh, M. Rajani, 2006. "Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants". *Journal of Ethnopharmacology*, **107**(2): 182-188.
- Rivas, R., G. Mejía de Gutiérrez, R. Jaimes de Araujo, *et al.*, 2003. *Perfil de los pueblos indígenas en El Salvador*. Banco Mundial-CONCULTURA-RUTA, San Salvador, El Salvador, pp. 116.
- Roig, J.T., 1988. *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. Editorial Científica Técnica. La Habana, Cuba, pp. 183.