

## Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de extractos de hoja de *Hamelia patens* Jacq.

Yasmary Rubio Fontanills, Aymara L Valdivia Ávila, Conrado Camacho Campos, Madyu Matos Trujillo, Maryla Sosa del Castillo, Yunel Pérez Hernández

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Matanzas. Autopista a Varadero km 3/2. Matanzas. Matanzas. Cuba. CP 44740. e-mail: yunel.perez@umcc.cu

### RESUMEN

El ponasí (*Hamelia patens* Jacq.) es un arbusto distribuido ampliamente en las regiones tropicales y de uso en la medicina tradicional para el tratamiento de heridas y procesos inflamatorios. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la composición fitoquímica y la actividad antibacteriana de extractos de hojas de ponasí presentes en áreas cercanas al Jardín Botánico de Matanzas, en la provincia de Matanzas, Cuba. Se colectaron hojas sanas en las cuales se determinaron las cantidades relativas de metabolitos secundarios y se cuantificó el contenido de fenoles solubles, ligados a pared celular y totales, así como de azúcares reductores. Se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*. Se observó la presencia de terpenos, flavonoides, cumarinas, taninos, esteroides y glucósidos cardiotónicos en extractos metanólicos y etanólicos, que en el solvente etanólico estuvieron representados en mayores proporciones. El extracto etanólico de hoja tuvo un efecto antibacteriano frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*, mientras que no mostró actividad inhibitoria frente a *E. coli*. El estudio fitoquímico y microbiológico realizado evidencia las potencialidades de *Hamelia patens* Jacq. como fuente de compuestos bioactivos con diferentes actividades biológicas y justifica el uso etnobotánico de esta especie en el tratamiento de infecciones bacterianas.

Palabras clave: fenoles, metabolitos secundarios, ponasí, *Staphylococcus aureus*

## Phytochemical and antibacterial properties of leaf extract of *Hamelia patens* Jacq.

### ABSTRACT

The firebush (*Hamelia patens* Jacq.) is a bush widely distributed in tropical areas and used in the traditional medicine for the treatments of wound and inflammatory process. The aim of the present work was to determine the phytochemical composition and the antibacterial activity of leaf extracts of firebush grown closely to the Botanical Garden of Matanzas, in the province of Matanzas, Cuba. Disease free leaves were collected, the qualitative amounts of several secondary metabolites were determined and it was quantified the content of soluble, wall-linked and total phenols as well as reducing sugars. The antibacterial activity of the ethanolic extract against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* was evaluated. Terpenoids, flavonoids, coumarins, tannins, steroids and cardiotoxic glycosides were observed in methanolic and ethanolic extracts, although, the metabolites were detected in higher proportions when using the ethanolic solvent. The leaf ethanolic extract exhibited an antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*, however non-inhibitory effect was shown against *Escherichia coli*. The phytochemistry and the antibacterial evaluation carried out point out the potentialities of *Hamelia patens* Jacq. as a source of bioactive compounds, with different biological activities and supports the ethno-botanical use of this plant for the treatment of bacterial infections.

Keywords: firebush, phenols, secondary metabolites, *Staphylococcus aureus*

### INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales se han utilizado durante siglos para el tratamiento de

numerosas enfermedades y contienen compuestos bioactivos con efectos curativos potenciales. Los estudios fitoquímicos y biológicos de las plantas medicinales, basados

en la información etnobotánica, han permitido el desarrollo de fármacos útiles. Sin embargo, las investigaciones que validan el uso empírico de muchas plantas medicinales todavía son escasas (Jiménez-Suárez *et al.*, 2016).

*Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae) es un arbusto ornamental nativo de áreas tropicales, el cual se emplea tradicionalmente en el tratamiento de procesos inflamatorios, dermatológicos, picaduras de insectos, disentería, asma y diabetes (Ahmad *et al.*, 2012; Surana y Wagh, 2015). En trabajos relacionados con la evaluación biológica de extractos de *H. patens*, se observaron diferentes efectos como cicatrizante (Gomez-Beloz *et al.*, 2003), antimicrobiano (Vijayvergia *et al.*, 2012), diurético (Ahmad, 2012), antiinflamatorio (Surana y Wagh, 2015) y antioxidante (Surana *et al.*, 2016).

En estudios fitoquímicos previos con esta planta se identificaron diferentes metabolitos secundarios como esteroides, saponinas, alcaloides, flavonoides y polifenoles (Jiménez-Suárez *et al.*, 2012; Surana *et al.*, 2016). Sin embargo, el perfil fitoquímico de las plantas depende de numerosos factores como el genotipo, la edad fisiológica de la planta, el tipo de órgano, las condiciones edafoclimáticas (en interacción con el genotipo), el momento del corte y el procesamiento de la muestra (Quiñones *et al.*, 2012; Rodríguez-García *et al.*, 2015; Cervantes *et al.*, 2017). Por estas razones, es importante el estudio fitoquímico y el análisis de las propiedades biológicas de plantas presentes en los territorios, que permitan justificar sus usos etnobotánicos.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la composición fitoquímica y la actividad antibacteriana de extractos de hojas de *Hamelia patens* Jacq.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Material vegetal*

Se utilizaron plantas de *Hamelia patens* Jacq. presentes en áreas colindantes al Jardín Botánico de Matanzas, en la ciudad de Matanzas, Cuba. La identificación taxonómica de la especie la realizaron especialistas del Jardín Botánico de Matanzas, a partir del análisis de los caracteres morfológicos *in situ* y la comparación con muestras presentes en el herbario de dicha entidad. La colecta se

realizó en abril de 2016 y se seleccionaron ramas de plantas adultas que no presentaban síntomas de enfermedades o ataque de plagas.

### *Preparación de los extractos*

Las hojas colectadas se lavaron con agua destilada para eliminar el polvo y posteriormente se procedió al secado en una estufa (Boxun) a 45 °C. Las hojas secas se trituraron en un molino eléctrico hasta obtener un polvo con partículas inferiores a 0.2 mm (Niranjan *et al.*, 2013).

Se realizaron extractos etanólicos y metanólicos. Para ello se mezclaron 5 g de polvo de las hojas secas con 50 ml de etanol 90% (v/v) o metanol 90% (v/v), en Erlenmeyers de 250 ml con tapones de algodón, y se colocaron en agitación sobre una zaranda orbital (HDL® Apparattus) a 160 rpm por 24 h (Vijayvergia *et al.*, 2012). Transcurrido este tiempo las muestras se filtraron con cinco capas de papel de filtro. Posteriormente, el filtrado se colectó y evaporó en estufa a 40 °C hasta obtener un volumen final de un cuarto del inicial (Parekh y Chanda, 2006). Los extractos fueron conservados a 4 °C para los ensayos fitoquímicos y microbiológicos.

### *Caracterización fitoquímica*

#### *Contenido de azúcares reductores*

El contenido de azúcares reductores se determinó por el método del ácido dinitrosalísílico (Miller, 1959). Se realizó una curva patrón con D-glucosa (1 mg ml<sup>-1</sup>) como azúcar patrón en un rango entre 0.1 y 1.0 g ml<sup>-1</sup>. Los valores de absorbancia se midieron a una longitud de onda de 456 nm en un espectrofotómetro Ultrospect 2000. Los ensayos fueron realizados por triplicado para cada extracto.

#### *Determinación de fenoles*

La cuantificación de fenoles se realizó en espectrofotómetro según procedimiento (Friend, 1992), 0.1 g de polvo se disolvieron en 1.0 ml de metanol y se agitó vigorosamente. La muestra se centrifugó a 12 000 rpm durante 10 min y el sobrenadante se colectó para la determinación de los fenoles solubles. Al precipitado se añadió 0.25 ml de hidróxido de

sodio  $2.0 \text{ mol l}^{-1}$ , se agitó vigorosamente y se colocó en una estufa a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 16 h. Posteriormente, la muestra se neutralizó con igual volumen de HCl  $2.0 \text{ mol l}^{-1}$ , se centrifugó en iguales condiciones y se colectó el sobrenadante para la determinación de los fenoles ligados a la pared celular. A  $0.1 \text{ ml}$  de los extractos colectados, se le adicionaron  $0.9 \text{ ml}$  de agua destilada y  $0.1 \text{ ml}$  del reactivo de Folin-Ciocalteu. La mezcla se dejó reposar durante cinco minutos, luego se agregaron  $0.6 \text{ ml}$  de una solución de NaOH  $1.0 \text{ mol l}^{-1}$  saturada con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se incubó por 1 h a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  para permitir el desarrollo del color. Se midieron las absorbancias a una longitud de onda de  $725 \text{ nm}$ . El contenido de compuestos fenólicos se expresó en mg de fenoles por g de masa seca ( $\text{mg g}^{-1} \text{ MS}$ ), referidos a una curva patrón de ácido clorogénico.

#### Presencia de metabolitos secundarios

Para la determinación de los metabolitos secundarios se utilizó la metodología descrita por Chigodi *et al.* (2013):

**Antocianinas:** se mezcló  $1.0 \text{ ml}$  de cada extracto con  $3.0 \text{ ml}$  de agua destilada y posteriormente se adicionó  $1.0 \text{ ml}$  de HCl  $2.0 \text{ mol l}^{-1}$  y de disolución amoniacal  $0.5 \text{ mol l}^{-1}$  a  $1.0 \text{ ml}$  de la mezcla anterior. La presencia de un color rosado-rojo que se torna azul-violeta indicó la presencia de antocianinas.

**Terpenoides:** se mezcló  $1.0 \text{ ml}$  de cada extracto con  $1.0 \text{ ml}$  de cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ) y a continuación se adicionaron  $2.0 \text{ ml}$  de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado. La coloración rojo-parda en la interfase indicó la presencia de terpenoides.

**Flavonoides:** se adicionó  $1 \text{ ml}$  de hidróxido de sodio (NaOH)  $0.1 \text{ mol l}^{-1}$  a  $1.0 \text{ ml}$  de cada extracto y posteriormente se agregó igual volumen de ácido clorhídrico (HCl)  $0.1 \text{ mol l}^{-1}$ . La formación de un color amarillo en la disolución indicó la presencia de flavonoides.

**Taninos:** se mezcló  $1.0 \text{ ml}$  de cada extracto con  $2.0 \text{ ml}$  de agua destilada y la mezcla se calentó en un baño termostático. Posteriormente se filtró con papel de filtro y al sobrenadante se adicionaron dos gotas de disolución de cloruro férrico al 1.0% en metanol. La presencia de taninos se identificó mediante la formación de un color verde oscuro en la disolución.

**Saponinas:** se mezcló  $1.0 \text{ ml}$  de cada extracto con  $3.0 \text{ ml}$  de agua destilada, se agitó con vigor y posteriormente la mezcla se calentó a  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ . La formación de espuma con pequeñas burbujas mostró la presencia de saponinas.

**Antraquinonas:** se mezclaron  $2.0 \text{ ml}$  de cada extracto con  $3.0 \text{ ml}$  de HCl al 10.0% (v/v) y la mezcla se calentó a  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 3 min en baño termostático. Posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente. Seguidamente se adicionó igual volumen de  $\text{CHCl}_3$  y a continuación unas gotas de disolución amoniacal al 10% y se volvió a calentar la mezcla. La formación de una coloración rosada indicó la presencia de antraquinonas.

**Glucósido cardiotónico:** se mezclaron  $2.0 \text{ ml}$  de cada extracto con  $2.0 \text{ ml}$  de ácido glacial acético que contenía una gota de disolución de cloruro férrico al 1.0%. A la mezcla se adicionó cuidadosamente  $1.0 \text{ ml}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado por las paredes del tubo de ensayo. La presencia de desoxiazúcares característicos de los compuestos cardiotónicos, se observó por la formación de un anillo pardo en la interfase junto a un anillo púrpura por debajo.

**Flobataninos:** se mezcló  $1.0 \text{ ml}$  de cada extracto con una disolución de HCl al 2.0% y se calentó a  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ . La presencia de flobataninos se determinó por la formación de un precipitado rojo.

**Esteroides:** se mezcló  $1.0 \text{ ml}$  de cada extracto con  $3.0 \text{ ml}$  de  $\text{CHCl}_3$  y luego se agitó la mezcla. Posteriormente se adicionaron cuidadosamente  $2.0 \text{ ml}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado por los lados del tubo de ensayo. La formación de un color rojo en la capa superior y una coloración verde en la capa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  indicó la presencia de esteroides en el extracto.

**Emodinas:** se mezcló  $1.0 \text{ ml}$  de cada extracto con  $1.0 \text{ ml}$  de hidróxido de amonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) y  $2.0 \text{ ml}$  de benceno. La formación de una coloración roja indicó la presencia de emodinas.

**Cumarinas:** se mezcló  $1.0 \text{ ml}$  de cada extracto con  $1.0 \text{ ml}$  de NaOH al 10.0%. La formación de una coloración amarilla indicó la presencia de cumarinas en el extracto.

La presencia de los metabolitos se determinó de manera cualitativa a través del sistema no paramétrico de cruces (MINSAP, 1997). Presencia: (+++ = abundante, ++ = moderado, + = bajo, - = ausencia).

### Actividad antibacteriana

Se evaluó la actividad antibacteriana del extracto etanólico frente a dos cepas de bacterias Gram positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *S. epidermidis* ATCC 12228 y frente a una cepa de la bacteria Gram negativa *Escherichia coli* ATCC 25922. El ensayo se realizó en placas Petri mediante la técnica de difusión en pocillos (Pérez *et al.*, 1990).

Las cepas bacterianas fueron previamente crecidas sobre medio de cultivo Agar Cerebro de Corazón a 37 °C durante 24 h. A partir de colonias aisladas se prepararon suspensiones bacterianas en disolución salina 0.85% (v/v) y se inoculó el medio de cultivo Agar Mueller-Hinton con una concentración celular de turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de Mc Farland, con el empleo de un hisopo estéril. Los pocillos se hicieron con un horadador estéril de 8 mm de diámetro y se les adicionaron 100 µl de cada extracto. Las placas fueron incubadas toda la noche a 37 °C.

Para cada cepa bacteriana se emplearon como controles negativos etanol y agua y como control positivo el antibiótico ampicilina (100 mg ml<sup>-1</sup>). La actividad antibacteriana se determinó mediante la medición del diámetro de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. Se realizaron tres réplicas de cada cepa.

### Análisis estadístico

Los datos fueron procesados con el paquete Statgraphic plus 5.1 sobre Windows. Se determinó el ajuste a una Distribución Normal mediante la prueba de Bondad de Ajuste Kolmogorov-Smirnov y la Homogeneidad de Varianza mediante las Pruebas de Bartlett. En los casos en que los datos cumplieron los requisitos exigidos se procesaron mediante ANOVA de clasificación simple. Las diferencias entre las medias se contrastaron a través de prueba de Student-Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización fitoquímica

Se observaron concentraciones elevadas de polifenoles en los extractos de hojas de *H. patens*, así como la presencia abundante o

moderada de diferentes metabolitos secundarios como flavonoides, terpenos, esteroides, taninos, cumarinas y glucósidos cardiotónicos. Estos compuestos se observaron en mayores proporciones en el extracto etanólico en comparación con el metanólico (Tabla 1).

La presencia de polifenoles en extractos de hojas coincide con otros estudios fitoquímicos realizados en *H. patens*. En este sentido, Vijayvergia *et al.* (2011) y Jiménez-Suárez (2012) refirieron la presencia abundante de polifenoles en diferentes órganos de ponasí, aunque en concentraciones variables. La diferencia en contenido de estas sustancias pudo estar relacionada con varios factores como la época y el momento de colecta de las muestras, el estadio fisiológico de las plantas, el método de cosecha, el proceso de secado y el genotipo (Omodamiro *et al.*, 2014; Habu y Ibeh, 2015).

De igual forma, en otras investigaciones realizadas con extractos metanólicos de ponasí se ha estimado un contenido similar de compuestos polifenólicos, los cuales fueron relacionados con las actividades antioxidantes determinadas en el extracto (Surana *et al.*, 2016). La presencia de compuestos polifenólicos en el extracto de *H. patens* pudiera sugerir propiedades antioxidantes en esta especie, ya que varios trabajos refirieron una correlación entre la concentración de polifenoles y la actividad antioxidante (Cortés-Rojas *et al.*, 2013; Keerthana *et al.*, 2014; Mesa-Vanegas *et al.*, 2015).

Las propiedades antioxidantes que tienen estas sustancias están dadas por la capacidad para reducir las especies reactivas del oxígeno (ERO) (Chahar y Sharma, 2017). Estos radicales atacan y modifican un rango amplio de macromoléculas que tienen funciones vitales a nivel celular como las enzimas, los ácidos nucleicos y los lípidos de membranas. Esto provoca cambios en las propiedades químicas y biológicas de estos compuestos y un mal funcionamiento a nivel celular, lo cual puede iniciar o exacerbar el desarrollo de enfermedades como el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, los procesos inflamatorios, las enfermedades cardiovasculares y el envejecimiento, entre otros (Mohammed y Abbas, 2016).

Tabla 1. Composición fitoquímica de extractos etanólicos y metanólicos de hojas de *Hamelia patens* Jacq.

Compuesto	Solvente	
	Metanol (90%)	Etanol (90%)
Fenoles solubles (mg g <sup>-1</sup> masa seca)	132.33 ± 2.03	nd
Fenoles ligados a pared celular (mg g <sup>-1</sup> masa seca)	80.40 ± 2.18	nd
Fenoles totales (mg g <sup>-1</sup> masa seca)	212.73 ± 2.11	nd
Azúcares reductores (mg ml <sup>-1</sup> )	94.18 ± 2.98	109.79 ± 3.53*
Flavonoides	+	++
Terpenos	++	+++
Antocianinas	-	-
Esteroides	+	+++
Saponinas	+	-
Taninos	++	+++
Cumarinas	-	++
Flobataninos	-	-
Glucósidos cardiotónicos	+	++
Antraquinonas	-	-
Emodinas	-	-

\*Indica diferencia significativa según ANOVA de clasificación simple para  $p \leq 0.05$ .  
 Contenido: +++ = abundante, ++ = moderado, + = poco, - = ausencia. nd, no determinado

La presencia abundante o moderada de terpenoides, flavonoides, taninos, esteroides y cumarinas en los extractos de *H. patens*, también fue referida previamente por otros autores (Jiménez-Suárez *et al.*, 2012; Surana y Wagh, 2015; Surana *et al.*, 2016). Varios trabajos demuestran la naturaleza antioxidante de los compuestos flavonoides (Usunomena y Paulinus, 2016; Yi *et al.*, 2016), por lo cual, la presencia de estas sustancias en los extractos de *H. patens* pudiera indicar un uso potencial de esta planta, para el tratamiento de numerosas enfermedades asociadas al estrés oxidativo (Patil *et al.*, 2014; Salzano *et al.*, 2014). Los flavonoides pueden eliminar las ERO ya sea por reducción de los radicales libres o por quelatación de metales de transición como el cobre y el hierro, que reaccionan con el peróxido de hidrógeno y forman otras especies más reactivas como el potente anión hidroxilo; el cual puede oxidar y modificar con facilidad la estructura de numerosas macromoléculas como las proteínas, los ácidos nucleicos y los

lípidos de membrana, que tienen funciones importantes en la homeostasia celular (Stojiljkoviæ *et al.*, 2014).

Además, a los flavonoides se les atribuyen otras funciones biológicas como antibacteriana y además, son considerados sustitutos potenciales de antibióticos (Cushnie y Lamb, 2005; Xie *et al.*, 2015). También se les han atribuido a estos compuestos actividad anticancerígena. La acción citostática preventiva fue sugerida a través de su efecto sobre la transducción de señales durante la proliferación celular y la angiogénesis (Varshney *et al.*, 2012; Pradhan, 2014).

De igual forma, las cumarinas pueden tener valor farmacológico, ya que debido a la naturaleza fenólica de estas sustancias, se ha informado de sus propiedades antibacterianas frente a patógenos Gram positivos y Gram negativos (Basile *et al.*, 2009). Los taninos, por otra parte, representan un grupo de compuestos de gran

importancia en la defensa de las plantas (Adamczyk *et al.*, 2013). Estas sustancias interactúan con proteínas ricas en prolina lo que provoca su inactivación, así como la inhibición de la biosíntesis proteica. Esta propiedad es lo que relaciona a dichos compuestos con las propiedades antibacterianas y antifúngicas de algunas plantas (Zungu y Downs, 2015). Sin embargo, para corroborar las propiedades de estos metabolitos se requieren otros estudios de fraccionamiento, que permitan evaluar a estas sustancias de manera independiente y sinérgicamente.

#### Actividad antibacteriana

Los resultados mostraron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de hojas de *H. patens* frente a las bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* (Tabla 2). Por el contrario, no se observaron diferencias significativas entre los controles negativos y el extracto con respecto a la inhibición de la bacteria Gram negativa *Escherichia coli*.

La diferencia observada en relación con las actividades antibacterianas frente a ambos grupos de microorganismos, pudo estar relacionada con la composición y complejidad de la pared celular de las bacterias así como por la concentración de los metabolitos en el extracto. Las bacterias Gram negativas, además de la capa de peptidoglicano poseen una capa de lipopolisacáridos que constituye una barrera adicional que dificulta la entrada de metabolitos de alto peso molecular con propiedades citotóxicas hacia el interior de la célula (Madigan *et al.*, 2015). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Abubacker *et al.* (2013) quienes refirieron un efecto

antibacteriano de extractos de diferentes órganos de *H. patens* frente a diferentes especies de bacterias. En trabajos similares realizados por Okoye y Ezeogo (2016), también se obtuvo un efecto inhibitorio de extractos de esta planta frente a *S. aureus*, *S. aeruginosa*, *Salmonella typhi* y *E. coli*. Estos autores relacionaron la actividad antibacteriana con la presencia de varios metabolitos secundarios como taninos, alcaloides, saponinas, esteroides y flavonoides.

La actividad antibacteriana observada en la presente investigación puede estar asociada con algunos de los compuestos fitoquímicos presentes en el extracto evaluado, como taninos, flavonoides y terpenos (Cowan, 1999; Lawal *et al.*, 2015). Los mecanismos inhibitorios se han vinculado con cambios en las propiedades físico-químicas de la membrana celular y la interferencia con procesos metabólicos vitales en los microorganismos patógenos. Los flavonoides pueden afectar el crecimiento microbiano por inhibición de la biosíntesis de ácidos nucleicos y otros procesos metabólicos; mientras que las sustancias de naturaleza terpenoide pueden interferir con la síntesis de los componentes de las membranas biológicas (Nayak *et al.*, 2010).

De igual forma, los taninos y los compuestos fenólicos pueden inhibir el crecimiento bacteriano, debido a la capacidad que tienen estas sustancias de formar complejos irreversibles con proteínas, lo cual afecta sus propiedades biológicas y ocasiona la muerte de los microorganismos (Cowan, 1999). Los taninos también pueden disminuir la actividad de enzimas bacterianas mediante la quelatación de iones imprescindibles para la

Tabla 2. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de hojas de *H. patens* Jacq. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tratamientos	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>		<i>E. coli</i>	
	DZI (mm)	± EE	DZI (mm)	± EE	DZI (mm)	± EE
H <sub>2</sub> O d (control)	8.0 c	0.00	8.0 b	0.00	8.0 a	0.00
Etanol (control)	13.0 b	0.43	8.3 b	0.33	10.0 a	0.57
Extracto	15.5 a	0.50	12.0 a	0.00	10.3 a	0.88

DZI: diámetro de la zona de inhibición. Los datos representan medias de tres réplicas. Letras diferentes indican diferencias significativas según prueba de Student-Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ). ± EE: error estándar

función catalítica de estos polipéptidos (Ojezele *et al.*, 2016).

En el caso de la actividad frente a *S. aureus*, los resultados pueden ser importantes ya que a esta especie bacteriana se le atribuye su participación en la mayoría de las infecciones nosocomiales y además, se ha señalado en numerosos casos la resistencia a muchos antibióticos por este microorganismo (Okoye y Ezeogo, 2016). Por otra parte, los extractos de hojas de *H. patens* tienen la ventaja de que poseen una baja toxicidad en modelos de toxicidad aguda y subaguda, lo que justifica su uso en infecciones humanas y animales sin grandes riesgos para la salud (Alonso-Castro *et al.*, 2015).

#### CONCLUSIONES

Los extractos de hojas de *Hamelia patens* Jacq. contienen diferentes compuestos bioactivos como terpenos, flavonoides, taninos, esteroides, cumarinas y polifenoles, los cuales poseen diferentes actividades biológicas y pueden estar relacionados con los usos etnobotánicos atribuidos a la especie. El extracto etanólico de hojas tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*; lo que justifica, por una parte, el empleo tradicional de esta planta en el tratamiento de infecciones de la piel y además, indica un uso potencial de esta especie para el tratamiento de enfermedades de origen infeccioso. Sin embargo, es necesario realizar estudios posteriores que permitan determinar la efectividad de estos extractos en condiciones *in vivo*, así como su seguridad desde el punto de vista toxicológico.

#### Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses.

#### REFERENCIAS

Abubacker MN, Sathya C, Prabakaran R (2013) *In vitro* antifungal potentials of *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae) aqueous extracts of leaves, flowers and fruits. Biosciences Biotechnology Research. Asia 10(2): 699-704; doi: 10.13005/bbra/1183

Adamczyk B, Kitunen V, Smolander A (2013) Response of soil C and N transformations to condensed tannins and different organic N

condensed tannin complexes. Applied Soil Ecology 64(5): 163-170; doi: 10.1016/j.apsoil.2012.12.003

Ahmad A, Pandurangan A, Singh N, Ananad P (2012) A mini review on chemistry and biology of *Hamelia patens* (Rubiaceae). Pharmacognosy Journal 4(29): 1-4

Alonso-Castro AJ, Balleza-Ramos S, Hernandez-Morales A, Zapata-Morales JR, Gonzalez-Chavez MM, Carranza-Alvarez C (2015) Toxicity and antinociceptive effects of *Hamelia patens*. Revista Brasileira Farmacognosia 25(2): 170-176; doi: 10.1016/j.bjp.2015.03.007

Basile A, Sorbo S, Spadaro V, Bruno M, Maggio A, Faraone N, Rosselli S (2009) Antimicrobial and antioxidant activities of Coumarins from the roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae). Molecules 14(3): 939-952; doi: 10.3390/molecules14030939

Cervantes L, Sánchez F, Gómez H (2017) Antibacterial activity of *Cordia dentate* Poir, *Heliotropium indicum* Linn and *Momordica charantia* Linn from the Northern Colombian Coast. Revista Colombiana de Ciencias Químicas y Farmacéuticas 46(2): 143-159; doi: 10.15446/rcciquifa.v46n2.67933

Chahar S, Sharma J (2017) Phytochemical screening, total flavonoid and phenolic content assays and antioxidant activity of *Momordica charantia* L. leaves. Asian Journal of Pharmaceutical Education and Research 6(3): 60-69

Chigodi MO, Samoei DK, Muthangya M (2013) Phytochemical screening of *Agave sisalana* Perrine leaves (waste). International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology 4(4): 200-204

Cortés-Rojas DF, Chagas-Paula DA, Da Costa FB, Claudia R, Souza F, Oliveira WP (2013) Bioactive compounds in *Bidens pilosa* L. populations: a key step in the standardization of phytopharmaceutical preparations. Brazilian Journal of Pharmacognosy 23(1): 28-35; doi: 10.1590/S0102-695X2012005000100

Cowan MM (1999) Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews 12(4): 564-582

- Cushnie TP, Lamb AJ (2005) Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26(5): 343-56
- Friend J (1992) Lignin and associated phenolic acids in cell walls. En: Gurr S J, McPherson M J, Bowles D J (eds). *Molecular plant pathology: a practical approach*, pp. 51- 59. IRC Press at Oxford University Press, Oxford
- Gomez-Beloz A, Rucinski J C, Balick MJ, Tipton C (2003) Double incision wound healing bioassay using *Hamelia patens* from El Salvador. *Journal of Ethnopharmacology* 88(2): 169-173
- Habu JB, Ibeh BO (2015) *In vitro* antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of active metabolite constituents of *Newboul dialaevis* ethanolic leaf extract. *Biological Research* 48(16): 1-10; doi: 10.1186/s40659-015-0007-x
- Jiménez-Suárez V, Nieto-Camacho A, Jiménez-Estrada M, Alvarado B (2016) Anti-inflammatory, free radical scavenging and alpha-glucosidase inhibitory activities of *Hamelia patens* and its chemical constituents. *Pharmaceutical Biology* 54(9): 1822-1830; doi: 10.3109/13880209.2015.1129544
- Jiménez-Suárez V, Reyes-Munguía A, Pérez-Berúmen C, Alvarado-Sánchez B (2012) Separación cromatográfica del extracto de *Hamelia patens*. *Revista Académica de Investigación* 11 (4): 1-10
- Keerthana K, Deepa A, Shobana G, Jothi G, Sridharan G (2014) Preliminary phytochemical screening and *in vitro* antioxidant potential of *Euphorbia heterophylla* L.. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6(8): 550-553
- Lawal OA, Amisu KO, Akinyemi SK, Sanni AA, Simelane MBC, Mosa RA, Opoku AR (2015) *In vitro* Antibacterial Activity of Aqueous Extracts of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) from Nigeria. *British Microbiology Research Journal* 8(4): 525-531; doi: 10.9734/BMRJ/2015/17900
- Madigan MT, Martinko JM, Bender K, Buckley S, Stahl DA (2015) *Brock Biology of Microorganism*. Pearson, Boston
- Mesa-Vanegas AM, Zapata-Urbe S, Arana LM, Zapata IC, Monsalve Z, Rojano B (2015) Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L.. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 14(1): 1-10
- Miller G (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31(3): 426-428
- MINSAP (1997) *Guía metodológica para la investigación en plantas medicinales*. Editorial Pueblo y Educación, La Habana
- Mohammed MT, Abbas SI (2016) Antioxidant and Anti-Inflammatory Effect of Fruit Juice of *Annona muricata* L. (Soursop) During Ischemia Reperfusion Injury in Rats. *The Iraqi Postgraduate Medical Journal* 15(1): 118-123
- Nayak BS, Ramdath DD, Marshall JR, Isitor GN, Eversley M, Xue S, Shi J (2010) Wound healing activity of the skin of the common grape (*Vitis vinifera*) Variant, Cabernet Sauvignon. *Phytotherapy Research* 24(8): 1151-1155; doi: 10.1002/ptr.2999
- Niranjan K, Sathiyaseelan V, Jeyaseelan EC (2013) Screening for anti-microbial and phytochemical properties of different solvents extracts of leafs of *Pongamia pinnata*. *International Journal of Scientific and Research Publications* 3(1): 1-3
- Ojezele OJ, Ojezele MO, Adeosun, AM (2016). Comparative phytochemistry and antioxidant activities of water and ethanol extract of *Annona muricata* Linn Leaf, seed and fruit. *Advances in Biological Research* 10(4): 230-235
- Okoye EL, Ezeogo JI (2016) Antimicrobial Activity of the Crude Extracts of *Hamelia patens* on Some Selected Clinical Samples. *Journal of Complementary and Alternative Medical Research* 1(1): 1-7; doi: 10.9734/JOCAMR/2016/27258
- Omodamiro OD, Uneke PC, Nweke IN, Jimoh MA (2014) Evaluation of diuretic activity of ethanol extract and its fractions of *Agave sisalana*. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2(1): 1-6
- Parekh J, Chanda S (2006) Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. *African Journal of*

- Biomedical Research 10(2): 175- 181; doi: 10.4314/ajbr.v10i2.50624
- Patil A, Vadera K, Patil D, Phatak A, Juvekar A, Chandra N (2014) *In vitro* anticancer activity and phytochemical analysis of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. International Journal of Pharmacy Science Research 5(10): 4432-4438; doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.5(10).4432-38
- Pérez C, Paul M, Bazerque P (1990) An antibiotic assay by the agar well diffusion method. Acta Biologicae et Medicinae Experimentalis 15: 113-115
- Pradhan D (2014) Pharmacological effect of some fractions obtained from *Sapindus trifoliatus* acting as an antioxidant and against mammary cell proliferation. African journal of pharmacy and pharmacology 8(17): 455-463; doi: 10.5897/AJPP2014.4028
- Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A (2012) Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutrición Hospitalaria 27(1): 76-89
- Rodríguez-García A, Martín JA, López R, Mutke S, Pinillos F, Gil L (2015) Influence of climate variables on resin yield and secretor structures in tapped *Pinus pinaster* Ait. in central Spain. Agricultural and Forest Meteorology 202(3): 83-93; doi: 10.1016/j.agrformet.2014.11.023
- Salzano S, Checonia P, Hanschmann EM (2014) Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. Proceeding of National Academy of Sciences of United States of America 111(33): 12157-12162; doi: 10.1073/pnas.1401712111
- Stojiljkoviæ D, Pavloviæ D, Arsiæ I (2014) Oxidative stress, skin aging and antioxidant therapy. Scientific Journal of the Faculty of Medicine in Nis 31(4): 207-217; doi: 10.2478/afmna-2014-0026
- Surana AR, Kumbhare MR, Wagh RD (2016) Estimation of total phenolic and total flavonoid content and assessment of *in vitro* antioxidant activity of extracts of *Hamelia patens* Jacq. stems. Research Journal of Phytochemistry 10(2): 67-74; doi: 10.3923/rjphyto.2016.67.74
- Surana A, Wagh R (2015) Phytopharmacological Review of *Hamelia patens*. International Journal for Pharmaceutical Research Scholars 4(2): 290-295
- Usunomena U, Paulinus ON (2016) Phytochemical analysis and mineral composition of *Annona muricata* leaves. International Journal of Research and Current Development 1(1): 7-10
- Varshney A, Shailajan S, Chandra N (2012) Estimation of Flavonoid-luteolin in different plant parts of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. by using HPTLC method. Analytical chemistry Indian Journal 11(1): 35-39
- Vijayvergia R, Singh T, Sharma P, Khandelwal S (2011) Quantitative estimation and comparative study of primary metabolites of some medicinal plants. Current Pharmaceutical Research 2(5): 378-381
- Vijayvergia R, Singh T, Sharma P, Khandelwal S (2012) Anthelmintic and antimicrobial activity of *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae). International Journal of Natural Products Research 1(3): 54-56
- Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L (2015) Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. Current Medicine Chemistry 22(1): 132-49
- Yi J, Jian-Guo W, Yan-Bin W, Peng W (2016) Antioxidant and Anti-proliferative Activities of Flavonoids from *Bidens pilosa* L. var *radiata* Sch Bip. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 15(2): 341-348; doi: 10.4314/tjpr.v15i2.17
- Zungu MM, Downs CT (2015) Effects of tannins on fruit selection in three southern African frugivorous birds. Behavioural processes 111: 84-89; doi: 10.1016/j.beproc.2014.12.003

Recibido: 18-01-2018

Aceptado: 22-02-2018