

Resumen

La *Jatropha dioica* Cerv., pertenece a la Familia de las *Euphorbiaceae*, popularmente se conoce como: *sangre de grado*, *tacote prieto*, *teolindilla*; ampliamente utilizada por la población para evitar la movilidad dental y otras infecciones en la boca.

Se realizaron extractos en diferentes solventes; metílico-acuoso, hexánico y bencina de petróleo (soxhlet y reflujo). Se utilizó la técnica de dilución seriada en tubo a una dilución 1:2. Las cepas utilizadas, son de referencia del ATCC (American Type Cell Collection): *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans 35531*, *Streptococcus mutans 3137*, y cinco de *Klebsiella pneumoniae*, aisladas y clasificadas en el Instituto Nacional de Pediatría, S.S.A. El objetivo del estudio, conocer en qué extracto de *Jatropha dioica* presenta la mayor capacidad de inhibición del desarrollo bacteriano In Vitro. Los resultados obtenidos, demuestran que a una Concentración Inhibitoria Mínima mg/ml (MIC) bajo, corresponde a los extractos hexánicos, estos presentan mayor capacidad de inhibición bacteriana, aunque los extractos metílico-acuosos y bencina de petróleo también hay inhibición pero a un MIC alto.

Palabras clave: plantas medicinales, extractos de *Jatropha dioica*, acción antimicrobiana.

Overview

The *Jatropha dioica* Cerv., belongs to the family of the *Euphorbiaceae*, popularly known as: *dragon's blood*, *prieto tacote*, *teolindilla*; widely used by the population to avoid other infections in the mouth and dental mobility.

Extracts were made in different solvents; methyl-aqueous, hexanic and petroleum benzene (soxhlet and reflux). The technique of serial in a 1:2 dilution tube was used. The strains used, are of the ATCC (American Type Cell Collection) reference: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans 35531*, *Streptococcus mutans 3137*, and five of *Klebsiella pneumoniae*, isolated and classified at the National Institute of Pediatrics, S.S.A. The objective of the study, to know in which *Jatropha dioica* extract presents the greater capacity of inhibition of In Vitro bacterial development. The results obtained show that at a Minimum Inhibitory Concentration mg/ml, low (MIC), corresponds to the hexanic extracts, these have greater ability of bacterial inhibition, although the methyl-aqueous and petroleum benzene extracts have inhibition but at a high MIC.

Key words: medicinal plants, extracts of *Jatropha dioica*, antimicrobial action.

Antecedentes

La *Jatropha dioica* Cerv. (Martínez, 2002), especie vegetal del territorio Zacatecano, conocida como sangre de grado, la población la usa para fijar los dientes que presentan movilidad, originada por un traumatismo, y/o avance de la Enfermedad Periodontal, también es utilizada en otras enfermedades. *Jatropha dioica* Cerv. contiene un látex en raíz, rico en taninos. (Domínguez, 1980), aisló e identificó a taninos, saponinas y resinas, reportando a un diterpeno llamándole riolozatrone. (Escareño, 1980), realizó un estudio para confirmar que esta planta, era útil para detener la movilidad dental, por medio de extracto etílico-acuoso al 50%. (Martínez, 1979), uso *Jatropha dioica* en el tratamiento de varias afecciones médicas. (Villarreal, 1988), (Castro, 1993), identificó dos compuestos con actividad antimicrobiana, por el método de difusión en disco y caracterizó por (R.M.N.) y Rayos X, a la Citalitrona con actividad antimicrobiana.

Se han realizado diversos estudios para confirmar la acción antimicrobiana de diferentes especies del género *Jatropha*. *Jatropha multifida*, (Aiyelaagbe, 2001); *Jatropha podagrica* (Hook, Aiyelaagbe, et al 2000); *Jatropha curcas* Linn. (Igbino, et al 2009); *Jatropha dioica*, (Belmares, 2013); (Wong-Paz, 2010). Existen revisiones en diversas publicaciones que confirman la presencia de varios metabolitos [diterpenos, sesquiterpenos, ligninas, flavonoides, alcaloides, péptidos cíclicos] todos ellos con funciones biológicas como: antitumoral, citotóxica, antiparasitaria, antifúngica, antileishmanicida, antiparasitaria, antibacteriano, insecticida, antileucémicos, anticoagulantes, antiarréicos y antivirales, (Rakshit, 2010), (Zhanga, 2009), (Sabandar, 2013).

Caracterización botánica

La *Jatropha dioica* Cerv., (Martínez, 2002) es una planta semileñosa, herbácea de 30 a 60 cm de altura, tallos color negro rojizos, raíces tuberosas, rastreras y largas en grupos sesiles y espátulados, flores masculinas de corola monopétala, globosa campulada de color blanco a rojizo, con 10 a 30 estambres monadelfos, flores femeninas con cáliz mayor que la corola, dos semillas de color casi negro, una característica general es que la raíz al ser cortada brota un líquido semejante a la sangre. El lugar de vegetación y el mayor índice poblacional de *Jatropha dioica* Cerv., se encuentra en el centro-norte del Estado de Zacatecas, Durango, Coahuila, Chihuahua, Nuevo León y otros Estados de la República Mexicana.

Metodología

La recolección de la planta se realizó, en un ejido ubicado a aproximadamente a 27 Km. de la ciudad de Zacatecas. Se obtuvo la planta completa (tallo-raíz) ya que las raíces se extienden por debajo de la tierra (rastreras) y son las raíces las utilizadas para realizar los extractos.

Se cortó la raíz en pequeños trozos, posteriormente se deshidrató para luego molerla y realizar los extractos. Los extractos se realizaron por el método de soxhlet y reflujo, se pesaron 20.0 gr. de raíz para cada uno de los extractos, en 200 ml de solvente, 1 hrs. Reflujo, 3 hrs. soxhlet. Los solventes utilizados fueron: Hexano, Metílico-Acuoso y Bencina de Petróleo, la concentración de los extractos se realizó en Baño María.

La Técnica de Dilución Seriada en Tubo (1:2), diez tubos de ensayo (13 x100 mm) numerados del 1 al 10, a cada tubo se les agregó 1ml. de Caldo Soya Trypticase, se esterilizaron en autoclave a una presión de 15 lb/pulg² a una temperatura de 121° C durante 15 minutos, las soluciones madre (mg/ml) de los extrac-

tos de *Jatropha dioica* Cerv., se diluyeron en alcohol, se tomó 1.0 ml para agregar al primer tubo de cada una de las series, después se transfirió un 1.0 ml del primer tubo al segundo, y así sucesivamente hasta el tubo diez, para obtener una dilución 1:2 en forma decreciente.

El crecimiento bacteriano del inoculo se ajustó al estándar Mc Farland con valor de 0.5 que equivale a 1x10⁸ cfu/ml. A cada tubo se le agregó 1ml del desarrollo bacteriano, y se incubaron a 35°C por un tiempo de 24 hrs. Las cepas utilizadas, son de referencia del ATCC (American Type Cell Collection) *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans 35531*, *Streptococcus mutans 3137*, y las cepas de *Klebsiella pneumoniae* 042, *Klebsiella pneumoniae* 88142, *Klebsiella pneumoniae* 17-2, *Klebsiella pneumoniae* 88145, *Klebsiella pneumoniae* 49766. Fueron aisladas y clasificadas a partir de procesos patológicos en niños del Instituto Nacional de Pediatría S.S.A.

Después de las 24 hrs. de incubación se procedió a realizar la lectura de cada una de las diluciones seriadas del extracto específico. Se tomó en cuenta la transparencia, turbidez y desarrollo de colonias en agar; esto permite afirmar que donde termina la transparencia del medio (termina la inhibición) y donde comienza la turbidez (comienza el desarrollo bacteriano), para así determinar la Concentración Inhibitoria Mínima mg/ml, (MIC). (Figura 1a,b,c).

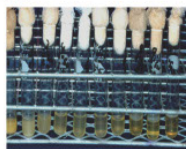


Fig. 1a

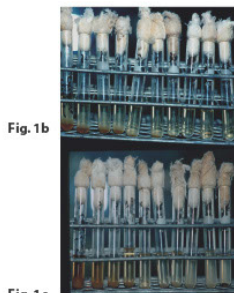


Fig. 1b

Fig. 1c

Para evitar resultados falsos positivos con los parámetros (turbidez/transparencia), procedimos a sembrar en Agar Soya Trypticase y Agar Sangre, las cajas Petri se dividieron en diez cuadros, en cada uno se sembró una muestra de cada tubo de la dilución seriada con su extracto específico. Así confirmamos en que tubo (1 al 10) se presentó la inhibición del desarrollo bacteriano In Vitro. (Figura 2a,b,c,d) de esta forma se fortalecieron los resultados para determinar la Concentración Inhibitoria Mínima mg/ml, (MIC).

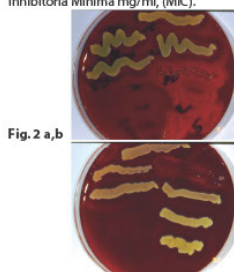


Fig. 2 a,b



Fig. 2c

Fig. 2d

Al hacer la mezcla del Caldo Soya Trypticase y solución del extracto, presentaba turbidez (hexánico, metílico-acuoso y bencina de petróleo) nos confundía al leer los resultados a las 24 hrs. de incubación, por la turbidez podríamos reportar resultados falsos positivos y/o falsos negativos.

Análisis estadístico

El ANOVA para extractos hexánicos reflujo y metílico acuoso presenta diferencias altamente significativas entre microorganismos para la variable MIC (Concentración Inhibitoria Mínima), p-value<.001. Con relación a los hexánicos-soxhlet, se observa que el análisis de varianza no presenta diferencias estadísticamente significativas.

Resultados

En los diferentes tipos de extractos observamos capacidad inhibitoria de las cepas. Los hexánicos, (tabla 1 y 2) se observa mayor capacidad de inhibición a un valor MIC bajo (milésimas) en cepas como: *Streptococcus mutans 35534*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus mutans 31377*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Tabla 1

Dilución seriada en tubo de extractos: Hexánicos reflujo

Extracto	Extracto Total (concentración inicial) mg/ml	Concentración Inhibitoria Mínima MIC	Dilución 1:2	Cepas bacterianas
I	0.5816	0.1379	1:8	<i>S. aureus</i>
II	0.2896	0.2896	1:2	<i>P. aeruginosa</i>
III	0.2896	0.0524	1:8	<i>E. coli</i>
IV	0.2896	0.0524	1:8	<i>S. mutans 31377</i>
V	0.2896	0.0865	1:8	<i>S. mutans 35534</i>
VI	0.1829	0.0525	1:8	<i>K. pneumoniae</i>

Tabla 2

Diluciones seriadas en tubo de extractos: Hexánicos soxhlet

Extracto	Extracto Total (concentración inicial) mg/ml	Concentración Inhibitoria Mínima MIC	Dilución 1:2	Cepas bacterianas
I	0.2287	0.0902	1:8	<i>S. aureus</i>
II	0.2279	0.1289	1:4	<i>P. aeruginosa</i>
III	0.2279	0.1289	1:4	<i>E. coli</i>
IV	0.2279	0.0644	1:8	<i>S. mutans 31377</i>
V	0.2279	0.0161	1:32	<i>S. mutans 35534</i>
VI	0.1598	0.0575	1:8	<i>S. aureus</i>

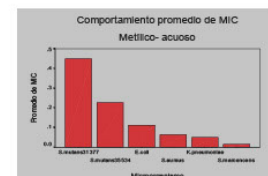
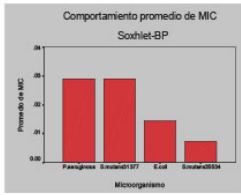


Tabla 4
Dilución seriada en tubo de extracto:
Bencina de petróleo soxhlet

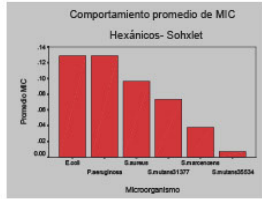
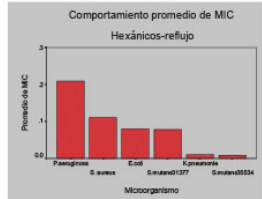
Extracto Bencina	Extracto Total (concentración inicial) mg/ml	Concentración Inhibitoria Mínima MIC	Dilución 1:2	Cepas Bacterianas
I	0.1160	0.0290	1:8	<i>P. aeruginosa</i>
I	0.1160	0.0290	1:8	<i>S. mutans</i> 31377
I	0.1160	0.0145	1:16	<i>E. coli</i>
I	0.1160	0.072	1:32	<i>S. mutans</i> 35534



En el metílico-acuoso (tabla 3), a un valor MIC alto, (decimales) presenta inhibición de *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* *Staphylococcus aureus* y a un valor MIC alto *Escherichia coli*. La inhibición de *Streptococcus mutans* 31377 y *Streptococcus mutans* 35534, con respecto al extracto bencina de petróleo (tabla 4) se presentó a un valor MIC alto (decimas) para *Streptococcus mutans* 35534, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

Tabla 3
Dilución seriada en tubo de extracto:
Metílico-acuoso macerado

Extracto Metílico-Acuoso	Extracto Total (concentración inicial) mg/ml	Concentración Inhibitoria Mínima MIC	Dilución 1:2	Cepas Bacterianas
I	0.8990	0.1123	1:16	<i>E. coli</i>
I	0.8990	0.4495	1:4	<i>S. mutans</i> 31377
I	0.8990	0.2247	1:8	<i>S. mutans</i> 35534
II	0.1947	0.0498	1:8	<i>S. aureus</i>
III	0.1115	0.0130	1:16	<i>S. marcescens</i>
IV	0.0972	0.0488	1:4	<i>K. pneumoniae</i>



Considerando los resultados obtenidos de las diversas diluciones seriadas con su extracto específico, y de acuerdo al análisis estadístico (promedio del MIC) se demuestra que la acción inhibitoria de cada uno de estos extractos es variable para cada extracto y para cada una de las cepas bacterianas consideradas en este estudio.

Conclusiones

Se observó que la mayor capacidad inhibitoria de los extractos usados In Vitro, en este estudio son los hexánicos a bajas concentraciones y sobre todo inhibiendo a las cepas: *Streptococcus mutans* 31377, *Streptococcus mutans* 35534, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Referencias bibliográficas

- Aiyelaagbe Olapeju O, E K Adesogan, et al (2000) The antimicrobial activity of roots of *Jatropha podagrica* (Hook). *Phytotherapy Research*; 14(1):60-2.
- Aiyelaagbe, Olapeju O. (2001) Antibacterial activity of *Jatropha multifida* roots. *Fitoterapia*, 72 (5): 544-6.
- Aiyelaagbe, Olapeju O.; Adesogan, Kayode; Ekundayo, Olusegun; Gloer, James B. (2007) Antibacterial diterpenoids from *Jatropha podagrica* Hook. *Phytochemistry* vol. 68 2420-2425.
- Belmares Yesenia Silvia, Rivas Morales Catalina, Viveros Valdez Ezequiel, De la Cruz Galicia María Guadalupe, Carranza Rosales Pilar. (2013) Antimicrobial and cytotoxic activities from *Jatropha dioica* roots, *Pakistan Journal of Biological Sciences*.
- Escareño Piña E. (1982) "Principios Activos de *Jatropha dioica* y su Aplicación en Odontología". Tesis, Universidad Autónoma de Zacatecas México, Septiembre.
- Castro Lara E., Sveshtarova Perakova B., Escareño Piña E., Jiménez Estrada M. (1993) Estudio de Plantas Mexicanas, Usadas en Padecimientos Odontológicos *Jatropha dioica* "sangregado" Congreso Nacional de Investigaciones Odontológicas, UAZ, Noviembre.

- Domínguez X. A., G. Cano, R. Franco, et al. (1980) Rioloatrione, a new class of diterpene from *Jatropha dioica* var. sessiliflora, *Phytochemistry*, 19: 2478.
- Igbinosa OO, Igbinosa EO and Aiyegoro OA (2009) Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 3(2). pp. 058-062.
- K. Kalimuthu S.VijaYakumar and R.Senthilkumar. (2010) Antimicrobial activity of the biodiesel plant, *Jatropha curcas* L. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* Vol.1/Issue-3/Jul-Sep.
- Martínez Gordillo Martha, Jiménez Ramírez Jaime y et al. 2002. Los Géneros de la Familia Euphorbiaceae en México, Anales del Instituto de Biología, U.N.A.M., serie botánica, vol. 72, N°002, pp.245-281.
- Martínez Bravo Eugenio. (1988) Manual de microdosis, coedición OEA-CREFAL.
- Michael D. Taylor, Amos B. Smith, et al. (1983) New antileukemic jatrophone derivatives from *Jatropha gossypifolia*, *J. Am. Chem.*, 105: 3177-3183.
- Olushey O. Odebiyi. (1980) Antibacterial property of tetramethylpyrazine from the stem of *Jatropha podagrica*, *Journal of Medicinal Plant Research*, 38: 144-146.
- Ojewole, J.A.O. and Odebiyi, O. O. (1984) Some studies on the pharmacology of tetramethylpyrazine, an alkaloids the bank of *Jatropha podagrica*, *Fitoterapia*, 54 (4): 213-225.
- Ojewole J.A.O. and Odebiyi O.O., (1980) "Neuromuscular and cardiovascular actions of tetramethylpyrazine from the stem of *Jatropha podagrica*," *Planta Medica*, vol. 38,

no. 4, pp. 332-338.

- Rakshit K. Devappa, Harinder P. S. Makkar, Klaus Becker. (2010) *Jatropha* Diterpenes, *J. Am Oil Chem Soc* DOI10.1007/s11746-010-1720-9.
- Rakshit K. Devappa, Harinder P. S. Makkar,* and Klaus Becker. (2010) *Jatropha* Toxicity, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 13:476-507.
- Reyes Trejo Benito. (1992) *Plantas Medicinales y Fitoquímica*, *Plantas Medicinales*, Edit. Erick E. L.-U. A. CH. ;386-395.
- Sterling J. Torrance, Richar M. Wird Hoph, et al. (1976) Antitumor Agents from *Jatropha macroniza*. Isolation and characterization of *Jatropha*trione, *J. Org. Chem.*, 41:10 1855-1857.
- Sánchez Oscar. (1980) *La Flora del Valle de México*, Edit. Herrera, Ed. Sexta.

- Sabandar Carla W, Norizan Ahmat, Faridhanim Mohd Jaafar, I. Sahidin. (2013) Medicinal Property, Phytochemistry and Pharmacology of Several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review, *Phytochemistry* 85 7-29.
- Villarreal Ana Maria, Dominguez Xorge, Howard j. Williams, Ian Scott and Joseph Reibenspies.(1988). Citralitrione, a New Diterpene from *Jatropha dioica* var. sessiliflora, *Journal of Natural Products*, Vol. 51, No. 4, pp. 749-753.
- Wong-Paz Jorge E, Castillo-Inungaray María L, López-López Lluvia I, Contreras-Esquivel Juan C, Nevárez-Moorillon Gpe, N. Aguilar Cristóbal. (2010) *Jatropha dioica*: Fuente Potencial de Agentes Antimicrobianos, *Revista Científica, Universidad Autónoma de Coahuila*, Volumen 2, No. 4.
- Zhang Xi-Ping, Zhang Man-Li, Sua Xiao-Huo, Huo Chang-Hong, Gub Yu-Cheng, and Shi Qing-Wen. (2009) Chemical Constituents of the Plants from Genus *Jatropha* Chemistry & Biodiversity – Vol. 6.

