

Estudio del Potencial Antimicrobiano de Extractos Orgánicos de *Verbena litoralis*

Study of Antimicrobial Potential Of *Verbena litoralis* Organic Extracts

Rosa Isela Cruz-Rodríguez¹

rosa.cr@tuxtla.tecnm.mx • ORCID: 0000-0002-4743-9112

Alisa Patricia Maldonado-Fernández²

apmfdez@gmail.com • ORCID: 0009-0005-7591-3204

Román Castillo-Valencia²

romancastillo2411@gmail.com • ORCID: 0009-0006-4809-508X

María Catalina Salgado-Gutiérrez¹

maria.sg@tuxtla.tecnm.mx • ORCID: 0009-0004-1974-2474

Maritza del Carmen Hernández-Cruz²

maritza.hernandez@unach.mx • ORCID: 0000-0002-1165-2026

1 TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO, CAMPUS TUXTLA. TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS, MÉXICO.

2 ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS, OCOZOCOATLA DE ESPINOSA, CHIAPAS MÉXICO.



Para citar este artículo:

Cruz Rodríguez, R. I., Maldonado Fernández, A. P., Castillo Valencia, R., & Salgado Gutiérrez, M. C. Estudio del Potencial Antimicrobiano de Extractos Orgánicos de Verbena litoralis. *Espacio I+D, Innovación más Desarrollo*, 13(35). <https://doi.org/10.31644/IMASD.35.2024.a02>

RESUMEN

Verbena litoralis (*V. litoralis*) es una planta usada en la medicina tradicional de México por la población pluricultural y ha mostrado ser efectiva para aliviar síntomas del resfriado, dolor de estómago, fiebre, diarrea, entre otros. Los reportes científicos de su potencial farmacológico son limitados, por lo que en este estudio se determinó el potencial antimicrobiano de extractos de *V. litoralis* sobre cepas patógenas responsables de infecciones gastrointestinales. La preparación de los extractos crudos orgánicos fue por sonicación y el efecto de inhibición del crecimiento bacteriano se realizó mediante el método de difusión en discos y la concentración mínima inhibitoria de los extractos se obtuvo a través de microdilución en placa. También se hizo el análisis fitoquímico mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) y espectrofotometría de luz visible. El extracto metanólico de hoja y los extractos etanólico y cetónico de tallo de *V. litoralis* evidenciaron un efecto positivo de inhibición del crecimiento en todas las cepas evaluadas. *E. coli* fue la cepa con mayor sensibilidad a los componentes del extracto etanólico de tallo con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 5 mg/mL. El extracto metanólico de hoja de *V. litoralis* presentó la mayor concentración de fenilpropanoides con $11.75 \pm 0.03 \mu\text{g Eq rutina/mL}$. Este es el primer reporte de la presencia de cumarinas, antranas y antraquinonas en *V. litoralis* y con nuestros resultados se contribuye para validar su uso como una alternativa para inhibir el crecimiento de las cepas evaluadas.

Palabras clave:

Antibacteriano; Verbena litoralis; fitoquímicos; infecciones gastrointestinales.

— Abstract—

Verbena litolaris is a plant used in traditional medicine in Mexico by the multicultural population and has shown to be effective in relieving cold symptoms, stomach ache, fever, diarrhea, among others; Scientific reports of its pharmacological potential are limited, so in this study the antimicrobial potential of extracts from *V. litolaris* on pathogenic strains responsible for gastrointestinal infections was determined. The crude organic extracts were prepared by sonication and the bacterial growth inhibition effect was performed using the disk diffusion method and the minimum inhibitory concentrations of the extracts was obtained through plate microdilution. Phytochemical analysis was also done by Thin Layer Chromatography (TLC) and visible light spectrophotometry. The methanolic leaf extract and the ethanolic and ketonic extracts of stem from *V. litolaris* showed a positive effect of inhibition of growth in all the strains evaluated, *E. coli* was the strain with the highest sensitivity to the components of the ethanolic stem extract with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 5 mg/mL. The methanolic extract leaf from *V. litolaris* presented the highest concentration of phenylpropanoids with $11.75 \pm 0.03 \mu\text{g Eq rutin/mL}$. This is the first report of the presence of coumarins, anthrones and anthraquinones in *V. litolaris* and with our results we contribute to validating their use as an alternative to inhibit the growth of the evaluated strains.

Keywords:

Antibacterial, Verbena litolaris, phytochemicals, gastrointestinal infections.

Los padecimientos gastrointestinales son de las primeras razones de consulta médica y la baja atención de los mismos ha resultado que actualmente se le considere una de las primeras causas de muerte no solo en México, sino también a nivel mundial. Los cuadros gastrointestinales por infecciones agudas son de los más frecuentes y pueden presentarse en cualquier época del año, pero el riesgo de sufrir estas enfermedades se incrementa en la temporada de calor (Hernández Cortez *et al.*, 2011).

Por lo que se refiere al seguimiento de infecciones ocasionadas por bacterias, el sector salud mundial se enfrenta a un aumento en el número de casos que requieren tratamiento y vigilancia médica, a fin de evitar complicaciones y reducir el uso de antibióticos que a la larga van perdiendo eficacia (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2020). De las enterobacterias monitoreadas por la OMS, las que han mostrado mayor grado de resistencia a diversas generaciones de antibióticos, en los últimos años, son *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella* spp. Dentro de la lista de prioridad crítica se encuentran *Pseudomonas aeruginosa* y Enterobacteriales resistentes a carbapenémicos; en la lista de elevada y media se encuentran *Salmonella* spp y *Shigella* spp, resistentes a fluoroquinolonas, respectivamente (OMS, 2021).

Los conocimientos tradicionales y las prácticas curativas desarrolladas por las comunidades rurales de todo el mundo representan una alternativa importante en el cuidado de la salud, a la par de su importancia, en algunos casos, de la medicina occidental. El aprovechamiento de las plantas medicinales y aromáticas son de vital importancia para la preservación de la salud de las personas en todo el mundo, especialmente en países en desarrollo. La medicina tradicional mexicana data de tiempos prehispánicos en atención primaria de la salud (Campos *et al.*, 2018). El proceso de elaboración de los medicamentos a base de plantas producen diversas respuestas en el metabolismo de quien las consume, debido a que contienen múltiples moléculas que actúan como principios activos; por ello, deben cumplir con especificaciones farmacopeicas y de control de calidad (Gallegos-Zurita, 2016).

La planta *Verbena litoralis* (Schoch CL *et al.*, 2020) es originaria de México, se distribuye en varios estados tales como Sonora, Sinaloa, Chihuahua, Tamaulipas, Durango, San Luis Potosí, Nuevo León, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Ciudad de México, Michoacán, Morelos, Puebla, Veracruz, Guerrero, Oaxaca, Tabasco y Chiapas (Rzedowski & Rzedowski, 2002, como se citó en CONABIO, 2010), donde también es conocida como verbena fina o yakan k'ulub wamal (tzotzil), yaxal nich jomol (tzeltal) (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009).

La *V. litoralis* se emplea para curar el dolor de estómago, vómito, tos (CONABIO, 2010), fiebre (Willmann *et al.*, 2000, como se citó en CONABIO, 2010) y para los cólicos biliares; este último se recomienda prepararlo en

una infusión con las hojas (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). Los estudios químicos o farmacológicos que convaliden su aplicación terapéutica son escasos (Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009), se ha reportado que tiene actividad antioxidante, antinociceptiva (Braga *et al.*, 2012), hepatoprotectora (Vestena *et al.*, 2019) y antiinflamatoria, y se ha sugerido que estas se deben a la presencia de compuestos fenólicos (Lima *et al.*, 2020), o bien, a terpenos que se han identificado en otras especies de *Verbena*. Por ello, es importante ampliar la información sobre la composición fitoquímica de *V. litolaris* y comprobar su capacidad para el tratamiento de infecciones bacterianas. Por lo que el objetivo de este estudio fue determinar el efecto antibacteriano de los extractos orgánicos de *Verbena litolaris* sobre las cepas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhimurium*, además de realizar su tamizaje fitoquímico.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal

Se recolectaron 20 plantas completas de varios individuos distribuidos al azar de *Verbena litolaris*, en la ciudad de Comitán de Domínguez, Chiapas, en agosto 2022, siendo sus coordenadas geográficas 16° 15' N y 92° 08' W, y con una altitud de 1,600 msnm.

2.2. Microorganismos

Las cepas evaluadas fueron *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 (donado por el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Subsede Sureste), *Escherichia coli*, ATCC 25922 (donado por el Laboratorio Estatal de Salud Pública del estado de Chiapas), *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (donadas por el laboratorio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de México).

2.3. Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente al azar, la muestra vegetal se dividió en tallo y hojas, y se utilizaron tres disolventes de diferente polaridad: etanol, metanol y acetona, de los cuáles se obtuvieron seis extractos que al incluir el testigo positivo (antibiótico) y los testigos negativos (disolventes), se evaluaron 10 tratamientos por triplicado con un total de 30 unidades experimentales para cada microorganismo, siendo las variables de respuesta: los halos de inhibición y el efecto inhibitorio.

2.4. Preparación de los extractos orgánicos

Se pesaron las muestras vegetales secas y pulverizadas y se adicionó a cada una el disolvente correspondiente según el diseño experimental en una proporción de 1:10 (m/v). Las seis mezclas se sonicaron por 2.5 horas a 20 °C en un sonicador VEBOR de 40 Hertz modelo: JPS-20^a. Transcurrido ese tiempo, cada extracto se filtró al vacío y centrifugó a 3500 rpm durante 15 min, los sobrenadantes se concentraron a presión reducida (16 inHg) a 40 °C en un rotavapor HEIDOLPH y el líquido recuperado de cada extracto crudo se depositó en frascos ámbar, que se conservaron en refrigeración para su posterior uso (Kuetze *et al.*, 2006).

2.5. Actividad antibacteriana por discos impregnados

Para la evaluación antimicrobiana se empleó el método de difusión en agar con discos impregnados, basado en el Método de Kirby-Bauer. Con una concentración de inóculo de 1×10^8 UCF mL⁻¹, distribuido mediante una varilla acodada en la superficie de las cajas Petri con agar Mueller Hinton. Posteriormente, se colocaron discos de papel filtro Whatman N.º 5 estéril, impregnados con 15 µL de los extractos crudos (Pandey, 2019), como testigo negativo se empleó el disolvente del extracto y como testigo positivo 30 µg mL⁻¹ de cloranfenicol por disco (Vaghasiya y Chanda, 2007; Pandey, 2019). Cada experimento se realizó por triplicado. Las cajas se incubaron durante 48 h a 37 °C, se midió el halo de inhibición y se determinó el efecto inhibitorio relativo, en función al control positivo, mediante la fórmula:

$$\% \text{ Efecto inhibitorio (\% EI)} = \left(\frac{\text{media de diámetro del halo de inhibición}}{\text{diámetro de halo de inhibición control positivo}} \right) \times 100$$

2.6. Determinación de la Concentración Mínima inhibitoria

Para aquellos microorganismos que mostraron mayor susceptibilidad ante los extractos crudos se determinó su concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de microdilución en caldo, empleando microplacas de 96 pocillos de fondo plano estéril (Canche, 2019). La incubación de las microplacas fue a 37 °C durante 24 h. Los experimentos se realizaron por triplicado.

2.7. Análisis fitoquímico

Se realizó de forma cualitativa mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF), empleando como fase móvil cloroformo-acetona-ácido acético (9:1:0.2)

(Wagner *et al.*, 1996). El análisis cuantitativo de compuestos fenólicos se realizó mediante espectrofotometría de luz visible mediante los métodos colorimétricos: cloruro de aluminio para flavonas y flavonoles (Chang *et al.*, 2002), 2-aminoetildifenilborato para flavonoides totales (Robertson & Hall, 1989) y Folin Ciocalteu para fenoles totales (Singleton *et al.*, 1999), utilizando un espectrofotómetro Hach Dr 5000.

2.8. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron utilizando un análisis de varianza (ANOVA) unidireccional y la comparación de medias se realizó por la prueba de Tukey ($P < 0.05$). El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software Statgraphics Centurion XIX® (Statgraphics Technologies, Inc., Madrid, España).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron seis extractos crudos de *V. litoralis*, con los cuales se analizó el efecto antibacteriano sobre las cepas patógenas *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* y *E. coli* que producen enfermedades gastrointestinales, los valores obtenidos de halos de inhibición así como de efecto inhibitorio, mostraron que únicamente tres extractos tuvieron un efecto positivo de inhibición del crecimiento bacteriano, y el análisis estadístico indicó que hubo diferencia significativa respecto a la sensibilidad de las cepas con los extractos con halos entre 6.17 a 9.9 mm (Figura 1), siendo el extracto metanólico de hoja con el que se obtuvo el 40.5 y 42.4 % de efecto inhibitorio sobre *E. coli* y *S. aureus* tal como se muestra en la Tabla 1. El crecimiento bacteriano se vio interrumpido en un lapso de 24 horas, donde se determinó que la CMI más baja (5 mg/mL) fue con el extracto etanólico de tallo para todos los microorganismos analizados.

La evidencia reportada del uso de *V. litoralis* en la medicina tradicional herbolaria, así como las diferencias en el efecto antibacteriano de los extractos en este estudio, condujo a la realización de estudios fitoquímicos con el fin de relacionar tal efecto con la interacción de los compuestos presentes. El análisis cualitativo de los extractos de hojas y tallos (Tabla 2) reveló la presencia de los tres grupos principales de metabolitos secundarios: alcaloides, saponinas, flavonoides, cumarinas, antronas y antraquinonas, siendo abundantes, principalmente, en los extractos metanólico y etanólico, lo que sugiere que el efecto positivo de inhibición puede ser debido a la interacción de las moléculas de polaridad alta, principalmente por los grupos hidroxilos que presentan los compuestos fenólicos, de los cuales se ha reportado la presencia de ácidos fenólicos tales como: ácido cloro-

génico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido vanílico y ácido ferúlico así como de flavonoides como luteolina y apigenina (Lima *et al.*, 2020), otros metabolitos con actividad biológica que se han identificado para *V. officinalis*, una especie perteneciente al mismo género, son: limoneno, 1,8-cineol, ar-curcumeno, epoxicariofileno, espatulenol, citral, geraniol y verbeneno de naturaleza lipofílica, que corresponden a monoterpenos y sesquiterpenos, que junto con artemitina, sorbifolina, pedalitina, nepetina y 7-O-β-D-glucuronopiranosil-apigenina se les considera responsables de sus propiedades biológicas (Deepak *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2000). También destaca en los extractos crudos de *V. litoralis* su alto contenido de compuestos fenólicos, principalmente, flavonoides con $11.75 \pm 0.03 \mu\text{g Eq Rutina/mL}$ para el extracto metanólico de hoja (Tabla 3).

La riqueza y contenido de metabolitos secundarios en estos extractos puede explicar su efecto sobre el crecimiento de los microorganismos. Al respecto, Rodríguez-Pava *et al.*, (2017) mencionan que metabolitos tales como alcaloides, flavonoides, taninos, y otros compuestos de naturaleza fenólica son responsables de las actividades antimicrobianas en plantas superiores. Por su parte, Díaz-Solares *et al.*, (2017) indicaron que las propiedades farmacológicas de los extractos vegetales se atribuyen al alto contenido de compuestos fenólicos, los cuales, a su vez, se relacionan con actividades antioxidantes y antimicrobianas.

La actividad antimicrobiana de los compuestos fenólicos, tal como mencionan Aguilar-Mendez *et al.*, (2020), implica la reacción de los fenoles con las proteínas de la membrana celular o los grupos sulfhidrilos de las proteínas, lo que provoca la muerte bacteriana por precipitación de las proteínas de la membrana e inhibición de algunas enzimas. Se ha demostrado que el efecto de flavan-3-oles sugieren que estas clases de flavonoles inhiben la síntesis de ácidos nucleicos a través de la inhibición de la topoisomerasa o hidrófolato reductasa (Gradišar *et al.*, 2007; Navarro-Martínez *et al.*, 2005). Ikigai *et al.*, (1993) usaron liposomas como modelos de membranas bacterianas para probar la actividad del (-)-epigallocatequina-3-galato (EGCG) sobre ellas y encontraron que esta catequina producía la fuga de pequeñas moléculas provenientes del espacio intraliposomal. El EGCG exhibió actividad contra *E. coli*, esto fue descrito por Nakayama, *et al.* (2013). Se descubrió que el EGCG interactúa con la proteína porina de la membrana externa de *E. coli*, inhibiendo así la función principal de la porina, a saber, el transporte de pequeñas moléculas hidrófilas como la glucosa, lo que conduce, finalmente, a la inhibición del crecimiento de *E. coli*. El ácido fosfatídico es el intermediario universal en la síntesis de glicerofosfolípidos de membrana (Machinandiarena *et al.*, 2020), en las bacterias esta síntesis se lleva a cabo mediante un complejo de múltiples enzimas individuales conocida como la sintasa II de ácidos grasos (FAS II) (Machinandiarena *et al.*, 2020; Zhang y

Rock, 2004). Al ser una diana atractiva para el desarrollo de antibióticos, diversos estudios demostraron que diversos flavonoides exhiben acción inhibitoria sobre alguna de estas enzimas en la sintetasa de ácidos grasos.

CONCLUSIÓN

Los extractos crudos polares de hojas y tallo de *V. litoralis* son una fuente de compuestos fenólicos, terpénicos y alcaloides, con la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. typhimurium*, lo cual proporciona validez al uso empírico de infusiones para tratar los síntomas de una infección gastrointestinal. Sin embargo, se requieren de otros estudios que permitan definir si la actividad antibacteriana es por una molécula en particular o es una acción sinérgica de los metabolitos presentes, así como probar su efecto citotóxico.

REFERENCIAS

- Aguilar Méndez, M. A., Campos Arias, M. P., Quiroz Reyes, C. N., Ronquillo-de Jesús, E., Cruz Hernández, M. A.** (2020). Cáscaras de frutas como fuentes de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 52(1), 360–371.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.** (2009). *Verbena litoralis Kunth*. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=verbena-litoralis>
- Braga, V. F., Mendes, G. C., Oliveira, R. T. R., Soares, C. Q. G., Resende, C. F., Pinto, L. C., Santana, R. de ., Viccini, L. F., Raposo, N. R. B., Peixoto, P. H. P.** (2012). Micropropagation, antinociceptive and antioxidant activities of extracts of *Verbena litoralis Kunth* (Verbenaceae). *Anais Da Academia Brasileira De Ciências*, 84(1), 139–148. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652012000100014>
- Campos Saldaña, R. A., Solís Vázquez, del O., Velázquez Nucamendi, A., Cruz Magdaleno, L. A., Cruz Oliva, D. A., Vázquez Gómez, M., Rodríguez Larramendi, L. A.** (2018). *Saber etnobotánico, riqueza y valor de uso de plantas medicinales en Monterrey, Villa Corzo, Chiapas (México)*.
- Canche, E.C.** (2019). Extraction of phenolic components from an Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) crop and their potential as antimicrobials and textile dyes. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 14: 100168.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C.,** (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *J. Food Drug Anal.* 10:178-182.
- CONABIO.** (2010). *Verbena litoralis Kunth*. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/verbenaceae/verbena-litoralis/fichas/ficha.htm>
- Deepak, M., Handa, S.** (2000) Antiinflammatory activity and chemical composition of extracts of *Verbena officinalis*, *Phytotherapy research*, 14(6): 463-465.
- Díaz Solares, M., Lugo Morales, Y., Fonte Carballo, L., Castro Cabrera, I., López Vigoa, O., Montejo Sierra, I. L.** (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos frescos de hojas de *Morus alba* L. *Pastos y Forraje*, 40(1), 43–48.
- Gallegos -Zurita, Maritza.** (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-332.
- Gradišar, H., Pristovšek, P., Plaper, A., Jerala, R.** (2007). Green tea catechins inhibit bacterial DNA gyrase by interaction with its ATP binding site. *Journal of medicinal chemistry*, 50(2), 264–271. <https://doi.org/10.1021/JM060817O>

- Hernández Cortez, C.,** Aguilera Arreola, M. G., Castro Escarpulli, G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31(4), 137–151.
- Ikigai, H.,** Nakae, T., Hara, Y., Shimamura, T. (1993). Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochimica et biophysica acta*, 1147(1), 132–136. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(93\)90323-R](https://doi.org/10.1016/0005-2736(93)90323-R)
- Kamatenesi-Mugisha, M.,** Buyungo, J. P., Ogwal, P., Kasibante, A., Deng, A.L., Ogendo, J.O., Mihale, M.J., (2013). Oral acute toxicity study of selected botanical pesticide plants used by subsistence farmers around the Lake Victoria Basin. *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* 7(3): 93-101.
- Kuete V,** Tangmouo JG, Penlap BV, Ngounou FN, Lontsi D. 2006. Antimicrobial activity of the methanolic extract from the stem bark of *Tridesmostemon omphalocarpoides* (Sapotaceae). *J Ethnopharmacol* 104: 5 - 11.
- Lima, R. de .,** Brondani, J. C., Dornelles, R. C., Lhamas, C. L., Faccin, H., Silva, C. V., Dalmora, S. L., Manfron, M. P. (2020). Anti-inflammatory activity and identification of the *Verbena litoralis* Kunth crude extract constituents. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56, e17419. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000417419>
- Machinandiarena, F.,** Nakamatsu, L., Schujman, G. E., de Mendoza, D., Albanesi, D. (2020). Revisiting the coupling of fatty acid to phospholipid synthesis in bacteria with FapR regulation. *Molecular microbiology*, 114(4), 653–663. <https://doi.org/10.1111/MMI.14574>
- Nakayama, M.,** Shimatani, K., Ozawa, T., Shigemune, N., Tsugukuni, T., Tomiyama, D., Kurahachi, M., Nonaka, A., Miyamoto, T. (2013). A study of the antibacterial mechanism of catechins: Isolation and identification of *Escherichia coli* cell surface proteins that interact with epigallocatechin gallate. *Food Control*, 33(2), 433–439. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2013.03.016>
- Navarro-Martínez, M. D.,** Navarro-Perán, E., Cabezas-Herrera, J., Ruiz-Gómez, J., García-Cánovas, F., Rodríguez-López, J. N. (2005). Antifolate Activity of Epigallocatechin Gallate against *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(7), 2914. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.7.2914-2920.2005>
- Organizacion Mundial de la Salud.** (2020, julio 31). Resistencia a los antibióticos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibioticos>
- Organización Mundial de la Salud.** (2021, marzo 4). Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms>

- Pandey, R. S.** (2019). Evaluation of phytochemical, antimicrobial, antioxidant activity and cytotoxic potentials of *Agave americana*. *Nepal Journal of Biotechnology*, 7(1):30-38.
- Robertson, A., Hall, M.N.** (1989). A critical investigation into the flavonost Method for Thea flavin Analysis in Black Tea, *Food Chemistry*. 34, 57-70.
- Rodríguez Pava, C. N., Zarate Sanabria, A. G., & Sánchez Leal, L. C.** (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *NOVA*, 15(27), 119–129.
- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mceigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Tuner, S., & Karsch-Mizrachi, I.** (2020). *NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford)*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=141992>
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M.** (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods Enzymology*. 299, 152-178.
- Vaghasiya, Y., Chanda, S.** (2007). Screening of methanol and acetone extracts of fourteen indian medicinal plants for antimicrobial activity . *Turkish Journal Of Biology*, 31:243-24
- Vestena, A., Piton, Y., de Loretto Bordignon, S. A., Garcia, S., Arbo, M. D., Zuanazzi, J. A., Von Poser, G.** (2019). Hepatoprotective activity of *Verbena litoralis*, *Verbena montevidensis* and their main iridoid, brasoside. *Journal of Ethnopharmacology*, 111906. doi:10.1016/j.jep.2019.111906
- Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M.** (1996). *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography*. Springer-Verlag, Berlín.
- Zhang, T., Ruan, J.L. Lu, ZM.** (2000) Studies on chemical constituents of aerial parts of *Verbena officinalis* L. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 25 (11): 676-678
- Zhang, Y. M., Rock, C. O.** (2004). Evaluation of epigallocatechin gallate and related plant polyphenols as inhibitors of the FabG and FabI reductases of bacterial type II fatty-acid synthase. *The Journal of biological chemistry*, 279(30), 30994–31001. <https://doi.org/10.1074/JBC.M403697200>

ANEXO 1

Tabla 1

Actividad antimicrobiana de los extractos crudos de Justicia spicigera sobre las cepas de “Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium y Escherichia coli”

Extractos crudos	S. aureus		P. aeruginosa		S. typhimurium		E. coli		CMI mg/mL
	HI mm	EI %	HI mm	EI %	HI mm	EI %	HI mm	EI %	
MH	8.87 a	42.4 a	6.67 b	25.0 b	6.67 a	32.6 a	9.67 a	40.5 a	50
ET	7.67 b	36.6 b	9.90 a	37.1 a	8.00 a	39.1 a	9.02 a	37.7 a	5
AT	6.33 bc	30.2 bc	6.17 b	23.2 b	7.51 a	36.7 a	6.42 b	26.9 b	18.33
CL	20.94		26.65		20.42		23.9		

Nota. Valores promedio seguidos de al menos una misma letra no son significativamente diferentes entre extractos por cada cepa estudiada a $P \leq 0.05$ (Prueba de Tukey). M: Metanol, A: Acetona, H: Hoja, T: Tallo. CL: cloranfenicol. HI: Halo de inhibición; EI: Efecto inhibitorio; CMI: Concentración mínima inhibitoria.

Tabla 2

Caracterización fitoquímica de extractos crudos de “Verbena litoralis” por cromatografía de capa fina

Extractos Crudos	Alcaloides	Saponinas	Flavonoides	Cumarinas	Antronas	Antraquinonas
MH	+	+	+++	++	+	++
MT	++	++	++	++	+	++
AH	-	-	++	-	-	+
AT	-	++	+	+	+	++
EH	+++	++	+	+	-	-
ET	+++	+++	+++	+	+	++

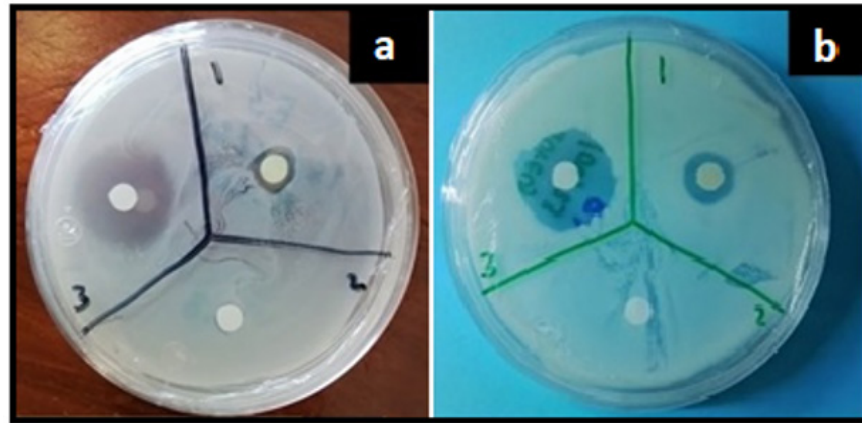
Nota. M: Metanol, A: Acetona, E: Etanol, H: Hoja, T: Tallo. Presencia abundante (+++), moderada (++) , leve (+), nula (-) de acuerdo con Kamatenesi-Mugisha *et al.*, (2013)

Tabla 3

Cuantificación de compuestos fenólicos en los extractos crudos de “Verbena litoralis”

Extractos crudos	Flavonas y flavonoles $\mu\text{g Eq quercetina/mL}$	Flavonoides totales $\mu\text{g Eq rutina/mL}$	Fenoles totales $\mu\text{g Eq ác. gálico/mL}$
MH	2.63 + 0.01 b	11.75 + 0.03 a	9.20 + 0.02 a
ET	0.53 + 0.02 c	0.53 + 0.01 c	1.80 + 0.02 b
AT	4.88 + 0.07 a	2.05 + 0.01 b	1.46 + 0.01 c

Nota. Valores promedio seguidos de al menos una misma letra no son significativamente diferentes entre extractos a $P \leq 0.05$ (Prueba de Tukey). M: Metanol, A: Acetona, E: Etanol, H: Hoja, T: Tallo.



Nota. a) extracto etanólico de tallo, b) extracto metanólico de hoja. 1) extractos, 2) testigo negativo (disolvente), 3) testigo positivo (antibiótico)

Figura 1. Halos de inhibición de crecimiento de Saureus en presencia de los extractos orgánicos de *V. litoralis*