

Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la Orinoquía colombiana

Antioxidant and antibacterial activity of leaf extracts from four agroforestry species located in Colombian Orinoquia

MSc. Ludy C. Pabón Baquero, MSc. Jairo Vanegas Gordillo, MSc. Margarita R. Rendón Fernández, MSc. Rosario Santos Arias, MSc. Patricia Hernández Rodríguez

Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia.

RESUMEN

Introducción: las especies agroforestales son fuente importante de metabolitos secundarios de utilidad en la industria farmacéutica, cosmética y veterinaria. En los países con alta diversidad biológica como Colombia se busca ampliar el conocimiento biológico, químico y económico de especies vegetales con uso potencial.

Objetivo: establecer la actividad antimicrobiana y antioxidante de los extractos de hojas de *Jatropha curcas* L. y de 3 variedades de *Hibiscus cannabinus* L. (Tainung, Everglades y Whitten).

Métodos: las hojas se recolectaron en Restrepo (Meta) y se sometieron a extracción por *soxhlet*, y microondas con solventes de diferente polaridad como éter de petróleo, diclorometano y etanol (EP, CH₂Cl₂ y EtOH). La actividad antibacteriana se estableció por difusión en agar frente a cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, y la actividad antioxidante por el método autobiográfico utilizando como agentes reveladores 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo y β-caroteno.

Resultados: de acuerdo con los porcentajes de extracción hallados, se determinó que la mayoría de los compuestos presentes en estas especies tienen alta polaridad. Los extractos que presentaron la mayor actividad antioxidante fueron los correspondientes a las variedades de *Hibiscus cannabinus* y, en especial, los extractos de baja y alta polaridad obtenidos por el método de *soxhlet*. El 20 % del total de los extractos presentaron una respuesta favorable frente a las 2 cepas; los extractos obtenidos por el método de microondas resultaron más selectivos para *Escherichia coli*.

Conclusión: este trabajo se presenta como una contribución al avance de investigaciones biodirigidas, que identifiquen principios activos para el desarrollo de antibióticos y antioxidantes naturales a partir de residuos agroforestales.

Palabras clave: *Jatropha curcas*, *Hibiscus cannabinus*, actividad antioxidante y antibacteriana.

ABSTRACT

Introduction: the agroforestry species are important sources of useful secondary metabolites for pharmaceutical, cosmetic and veterinary medicine. Those countries with high biodiversity like Colombia are looking to expand the biological, chemical and economic knowledge about plant species with potential uses.

Objective: to determine the antimicrobial and antioxidant activity of leaf extracts of *Jatropha curcas* L. and three varieties of *Hibiscus cannabinus* L. (Tainung, Everglades and Whitten).

Methods: the leaves were collected in Restrepo (Meta) and subjected to *Soxhlet* and microwave extraction processes with different polarity solvents such as petroleum ether, dichloromethane and ethanol (EP, CH₂Cl₂ and EtOH). The antibacterial activity was established by agar diffusion method against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains, whereas antioxidant activity was determined by the autobiographical method using developing agents 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and β -carotene.

Results: in accordance with the extraction percentages found, most of the compounds present in these species had high polarity. The extracts with the highest antioxidant activity were those of *Hibiscus cannabinus* varieties, particularly low and high polarity extracts obtained by the *Soxhlet* method. The 20 % of total extracts showed a positive response against the two strains, being the extracts obtained by the microwave method more selective for *Escherichia coli* strains.

Conclusion: this paper is a contribution to the development of bio-directed research to identify the active principles for the development of antibiotics and natural antioxidants from agroforestry wastes.

Key words: *Jatropha curcas*, *Hibiscus cannabinus*, antimicrobial and antioxidant activity.

INTRODUCCIÓN

La utilización de plantas con fines medicinales es una actividad realizada por el hombre que ha trascendido como parte de la historia cultural de los pueblos. En diversos países se ha reportado que cerca de 74 % de los fármacos usados, derivan de su empleo en la medicina tradicional. El manejo de sustancias químicas derivadas de vegetales brinda la oportunidad de encontrar principios activos, que son una fuente de materia prima natural con uso farmacológico.¹⁻³

La medicina tradicional tiene una larga historia en muchos lugares y sigue proporcionando herramientas útiles y aplicables para el tratamiento de enfermedades.^{4,5} Alrededor de 60 a 80 % de la población mundial aún depende de medicinas tradicionales para el tratamiento de las enfermedades comunes,^{6,7} sin embargo, la investigación científica sobre productos derivados de plantas con uso

medicinal ha sido limitada. El estudio químico y biológico de plantas etnomedicinales proporciona información valiosa sobre actividades biológicas de interés en muchas regiones y países, además de propiciar la búsqueda de fitofármacos para que la población disponga de medicamentos rigurosamente estudiados.⁸⁻¹³

Actualmente es enorme la difusión y popularidad de las terapias naturales en el mundo. Se aconsejan no solo como alternativas en los servicios de salud sino como primera intención antes de pasar a medicamentos más agresivos para el tratamiento de diversas afecciones.¹⁴ En este contexto, diversos estudios reportan las actividades biológicas derivadas de extractos de plantas que describen propiedades como antiinflamatorio, antiespasmódico, antihelmíntico, analgésico, estimulante, anticatarral, antioxidante y antibacteriana; en cuanto a esta actividad va desde la inhibición completa o parcial del crecimiento microbiano hasta la acción bactericida.^{10,13,15-17}

Para dar respuesta al incremento de las infecciones y a la resistencia contra antibióticos, hay varios grupos de investigación que desarrollan estudios a partir de plantas medicinales,¹⁸⁻²¹ que se han constituido en una nueva fuente de agentes antimicrobianos. Así mismo, algunas plantas son fuente de sustancias antioxidantes, lo cual ha incentivado su estudio y se ha convertido en un reto para minimizar los efectos de los radicales libres responsables de enfermedades cardiovasculares, derrame cerebral, arteriosclerosis y cáncer, así como moléculas implicadas en el proceso de envejecimiento.²²⁻²⁵

En Colombia y especialmente en la Orinoquía, los estudios dirigidos a evaluar la actividad medicinal de extractos de plantas son limitados; por tal motivo, el propósito de este trabajo era establecer la actividad antimicrobiana y antioxidante de los extractos de hojas de *J. curcas*, y de 3 variedades de *H. cannabinus* (Tainung, Everglades y Whitten) presentes en esta región.

MÉTODOS

Material vegetal

Las hojas de las especies *H. cannabinus* en sus 3 variedades (Everglades, Tainung y Whittten) y *J. curcas*, se recolectaron en cultivos de la Universidad de La Salle en Restrepo (Meta) por el ingeniero forestal Trino Triviño. Las semillas de estas especies para su cultivo fueron donadas por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Obtención de extractos

El material vegetal se secó en un horno a 50 °C durante 3 días, luego se molió manualmente y se sometió a extracción (microondas y *Soxhlet*) utilizando como solventes éter de petróleo (EP), diclorometano (CH₂Cl₂) y etanol (EtOH). Para la extracción por microondas se utilizaron 10 g de material vegetal y 100 mL de cada uno de los solventes seleccionados; la radiación del microondas se aplicó por 15 s con una potencia de 125 MHz hasta completar 5 min. Para la extracción por *Soxhlet* se emplearon 16 g de *J. curcas*, 10 g de Whitten, 7 g de Tainung y 5 g de Everglades. El material se sometió a extracción sólido-líquido a la temperatura de ebullición de cada solvente por un período de 8 h. Cada una de las fracciones obtenidas se concentró por destilación a presión reducida de 50 °C y se utilizaron

presiones en un rango de 149 a 685 mbar, dependiendo del solvente. Posteriormente, las fracciones se pesaron y almacenaron en frascos ámbar hasta su evaluación.

Actividad antioxidante

Se pesaron 30 mg de cada extracto y se solubilizaron en 1 mL de metanol. De cada solución se tomaron 10 µL del extracto solubilizado, que fue sembrado en 4 placas cromatográficas de sílica gel a 1 cm del borde inferior. Para 2 placas se utilizó una elución con hexano-acetato de etilo 8:2 (baja polaridad) y en las 2 restantes con cloroformo-metanol 85:15 (alta polaridad). Las placas se secaron en la cabina de extracción y se observaron bajo la luz ultravioleta a una longitud de onda de 254 nm.

Bioautografía con DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo) y con β-caroteno

Las placas eluidas y secas se revelaron por aspersion; 2 con disolución al 0,2 % del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) en metanol y las restantes con disolución de β-caroteno al 0,005 % en cloroformo. Las placas se expusieron durante 30 min a luz blanca y ultravioleta (254 nm), respectivamente. Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó TLC (*thin layer chromatography*) y se tomaron como resultados positivos aquellos que después de esperar 30 min revelaron puntos amarillos en un fondo violeta al utilizar DPPH,²⁶ y los que persistieron de color amarillo sobre un fondo blanco al utilizar β-caroteno.^{27,28}

Metodología actividad antibacteriana

Para este ensayo se emplearon como microorganismos indicadores de actividad las bacterias grampositiva, *S. aureus* y gramnegativa, *E. coli* (cepas control).

Se realizaron las pruebas de actividad antibacteriana a partir de cultivos de 24 h de crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* en agar nutritivo. Se tomaron alrededor de 3 a 5 colonias y se inocularon en los tubos que contenían caldo nutritivo, se agitaron en *vortex* hasta alcanzar una concentración de $1,5 \times 10^8$ células/mL, correspondiente al tubo 0,5 de *McFarland*.²⁹ A continuación, se inocularon las cajas de *Petri* que contenían agar *Mueller-Hinton* (MH) (*Oxoid*) y se realizó el método por difusión, mediante la utilización de hisopos de algodón estériles.³⁰ Así mismo, se depositaron asépticamente en los medios de MH, discos estériles de 6 mm de diámetro de papel cualitativo *Whatman*,³¹ impregnados con 10 µL de cada uno de los extractos disueltos antes en dimetil sulfóxido (DMSO), hasta obtener una concentración final de 30 mg/mL. Se dejó como control negativo un disco de papel *Whatman*, con 10 µL de DMSO y como controles positivos discos de papel impregnados de una solución de cloranfenicol a una concentración de 100 µg/mL (10 µL/disco).

Finalmente, las cajas se incubaron a 37 °C durante 18 a 24 h. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se determinaron los diámetros de halos de inhibición de los extractos vegetales frente a los microorganismos en estudio. Por último, se calculó el porcentaje de inhibición mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{D \text{ halo extracto} - D \text{ halo blanco}}{D \text{ halo control positivo} - D \text{ blanco}} \times 100$$

D= diámetro en mm, Blanco= DMSO, Control positivo= cloranfenicol.

RESULTADOS

Los resultados de rendimiento de extracción y de evaluación de actividad antibacteriana y antioxidante se encuentran en la tabla. En cuanto a los de extracción, se observó que la mayor cantidad de compuestos presentes en las 4 especies son de carácter polar, seguidos de los no polares, y por último los de polaridad media. La especie que presentó mayor rendimiento de extracción por el método de *Soxhlet* fue Everglades seguido de Tainung, Whitten y *J. curcas*. Con el método de microondas el rendimiento fue mayor para *J. curcas* seguido de Everglades, Tainung y Whitten, respectivamente.

Tabla. Resultados de los métodos de extracción y de evaluación de actividad antioxidante y antibacteriana para cada uno de los extractos obtenidos

Variedad	Método	Solvente	Rendimiento de extracción	Actividad antibacterial		Actividad antioxidante	
				% de inhibición		No. de manchas	
				<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	DPPH	β -caroteno
Jatropha	<i>Soxhlet</i>	EP	2,75	0	0	-	+
		CH ₂ Cl ₂	1,13	0	0	-	-
		EtOH	6,99	46	37	-	+++
	Microondas	EP	2,74	0	0	-	-
		CH ₂ Cl ₂	3,33	62	0	-	+
		EtOH	44,31	0	0	-	+
Whitten	<i>Soxhlet</i>	EP	4,21	0	0	+++	+++
		CH ₂ Cl ₂	2,27	0	0	-	-
		EtOH	10,17	0	0	++	++
	Microondas	EP	2,69	49	0	-	-
		CH ₂ Cl ₂	3,05	0	23	-	+
		EtOH	6,90	64	45	-	-
Tainung	<i>Soxhlet</i>	EP	3,21	0	0	++	+++
		CH ₂ Cl ₂	2,41	0	36	-	+
		EtOH	33,99	30	0	-	+++
	Microondas	EP	4,79	27	58	+++	++
		CH ₂ Cl ₂	2,86	32	0	-	-
		EtOH	12,77	0	0	-	-
Everglades	<i>Soxhlet</i>	EP	5,06	0	0	+	+
		CH ₂ Cl ₂	2,60	0	0	+	+
		EtOH	36,88	0	0	-	+++
	Microondas	EP	5,70	0	0	-	-
		CH ₂ Cl ₂	2,34	58	0	-	-
		EtOH	17,58	0	0	-	-

EP: éter de petróleo, CH₂Cl₂: diclorometano, EtOH: etanol, DPPH: 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo.

Los extractos que presentaron mayor actividad antioxidante se obtuvieron utilizando como solventes EP y EtOH por el método de *Soxhlet*. En la tabla se reporta el número de manchas para cada uno de los extractos con los reveladores empleados; se observa que el mayor número de manchas se obtuvo para la variedad Tainung, seguido por Whitten y Everglades. Al comparar los resultados con los 2 reveladores, estos fueron similares; sin embargo, con el revelador β -caroteno se observó el mayor número de manchas en todas las especies evaluadas.

En la tabla también se muestran los resultados del estudio microbiológico, se observa que el comportamiento antibacteriano de los extractos obtenidos de *J. curcas*, Tainung con el método de *Soxhlet* y microondas, extraídos en EtOH y EP, respectivamente, tuvieron actividad frente a las 2 bacterias; resultó mayor la actividad para *E. coli* con *J. curcas* y mayor para *S. aureus* con Tainung. El extracto de Whitten obtenido con etanol por microondas también presentó actividad frente a las 2 bacterias. Por el contrario, el extracto obtenido de Everglades con el método de microondas y extraído con CH_2Cl_2 solo presentó actividad antibacteriana frente a *E. coli*. Las variedades Whitten y Everglades con el método de *Soxhlet* y los diferentes solventes no mostraron ningún tipo de actividad antibacteriana. En cuanto al porcentaje de inhibición de los extractos vegetales de *J. curcas*, Whitten, Tainung y Everglades frente a las cepas patógenas, se observó un mayor porcentaje de inhibición para *E. coli* con Whitten extraído con EtOH por microondas (64 %); mientras que para el extracto de Tainung, extraído por el mismo método y utilizando el solvente EP, el porcentaje de inhibición fue de 58 % para la bacteria *S. aureus*.

DISCUSIÓN

Al comparar los rendimientos de extracción obtenidos, se encontró que para la especie *J. curcas*, la extracción con EtOH por el método de microondas aumentó en 35 % con respecto a la extracción realizada por el método de *Soxhlet*. Esto se debe a que el método de microondas permite combinar la temperatura (cercana al punto de ebullición del solvente), la potencia y el tiempo de reacción, para favorecer la interacción de las moléculas polares con el solvente, aumentando la selectividad y el rendimiento de extracción.³² Mientras que por el método *Soxhlet* solo se permite tener como parámetros la temperatura y el tiempo de extracción, como los responsables de las interacciones moleculares entre los metabolitos y el solvente, que generan rendimientos bajos de extracción, al depender solo de la similitud de la polaridad del metabolito y del solvente utilizado.³³

Las variedades de *Hibiscus* presentaron una disminución en el rendimiento de extracción de 4, 21,22 y 19,30 % para Whitten, Tainung y Everglades, respectivamente, al comparar los 2 métodos utilizados. Esto se debe quizá a que los compuestos contenidos en estas especies son de una polaridad menor que los contenidos en *J. curcas*, por lo que la absorción de la radiación se dispersa a través de estos grupos y evitar la vibración molecular de los compuestos, que disminuye así la interacción soluto solvente y el rendimiento de extracción.³³

Con respecto a los solventes EP y CH_2Cl_2 , los porcentajes de extracción son más bajos, con valores entre 1 y 6 %; existen diferencias de solo 1 a 2 % al comparar los 2 métodos utilizados. Esto se debe a que la radiación de microondas es selectiva, si se tiene en cuenta que solo es absorbida por los compuestos polares, o

compuestos que generan momentos dipolares que permiten aumentar la vibración molecular.³⁴

Las plantas son consideradas organismos fotosintéticos que están expuestos a ambientes muy oxidativos (radiación solar, oxígeno, entre otros), por lo cual, poseen un sistema antioxidante muy eficaz. De esta manera, se han reportado diversos metabolitos, en especial sustancias fenólicas como flavonoides y taninos; también otras sustancias que actúan sinérgicamente para potenciar el efecto antioxidante como los tocoferoles, catequinas, ácidos orgánicos y carotenoides.^{35,36}

Existe una gran variedad de pruebas para evaluar esta actividad antioxidante que son empleadas en las investigaciones dirigidas hacia la búsqueda de nuevas sustancias antioxidantes. Entre los métodos que existen para determinar esta actividad, se encuentran aquellos que tienen como fundamento la captura de radicales libres.³⁷ Un método fácil y económico es la utilización de placas de TLC, el cual separa y determina de manera cualitativa y simultánea los compuestos antioxidantes mediante el uso de reveladores.³⁸ En este estudio, la utilización del método bioautográfico permitió determinar el potencial antioxidante de los extractos obtenidos para cada una de las variedades evaluadas, de una forma rápida y exploratoria.

Los resultados de este estudio indicaron que las especies promisorias como fuente de sustancias antioxidantes son Whitten y Tainung, debido a la presencia de compuestos de baja y alta polaridad que revelaron el mayor número de manchas con DPPH y β -caroteno. Esto representa una moderada capacidad captadora de radicales libres e indica que esos extractos poseen capacidad para proteger de la lipoperoxidación por el atrapamiento de radicales libres, tanto en la fase de iniciación como en la de propagación.³⁹ Estos resultados están relacionados con estudios del género *Hibiscus*, en especial para *H. sabdariffa*, la cual es una especie ampliamente conocida por sus propiedades antioxidantes.⁴⁰⁻⁴³

Los extractos de la variedad Everglades obtenidos por microondas, no presentaron inhibición de los reveladores, y ninguno de los extractos de *J. curcas* inhibió el DPPH, en las condiciones utilizadas de concentración y fase móvil. Para *J. curcas* se han reportado algunos componentes que están relacionados con propiedades antioxidantes; sin embargo, el solvente utilizado en la extracción fue distinto al usado en este trabajo, lo cual puede explicar la diferencia de los resultados.⁴⁴ Es así como los resultados del rendimiento de extracción y de la actividad antioxidante de los extractos evaluados resultó diferente para cada método y solvente utilizado durante la extracción, lo cual coincide con reportes previos que muestran especificidad al solvente y al método.⁴⁵ Eso se explica por las diferencias en la polaridad de los compuestos antioxidantes; encontrándose principalmente carotenoides, licopeno y fenoles de bajo peso molecular en los extractos de baja polaridad y compuestos fenólicos como flavonoides, lignanos y alcaloides en los de alta polaridad.^{35,36}

Con este trabajo se estableció que el método de *Soxhlet* es el más adecuado para obtener sustancias antioxidantes frente al método de microondas, eso se puede explicar porque en este método la energía utilizada para que entren en vibración las moléculas, puede ocasionar alteración de los compuestos fenólicos u otros responsables de la actividad antioxidante. Adicionalmente, los resultados son consistentes con estudios anteriores donde se ha determinado que la cantidad de compuestos fenólicos extraídos se ve afectada por la temperatura.⁴⁶

De los metabolitos secundarios de las plantas, los compuestos fenólicos son los más numerosos y representativos; su importancia radica en su participación en la fisiología y en el metabolismo celular, sobre todo su acción antioxidante tiene gran poder destructor de radicales libres. Entre los mecanismos moleculares postulados para explicar esta propiedad se encuentra la capacidad como atrapadores de radicales libres, como donadores de hidrógeno, su potencial como agentes reductores y agentes quelantes.^{35,47} Esto explica la actividad que presentan los extractos etanólicos evaluados, en los cuales es probable que estén estos compuestos mayoritariamente. Sin embargo, el mecanismo de acción, solo puede ser conocido tras una caracterización detallada de las fracciones activas del extracto.

Adicionalmente, en este estudio se observaron actividades antioxidantes diferentes en los extractos etanólicos obtenidos para cada una de las especies, resultados similares han sido reportados antes y explican que este efecto está relacionado con las diferencias que tienen los compuestos fenólicos para detener la reacción de oxidación, que depende de la energía de disociación homolítica del enlace O-H y de la reactividad de los radicales formados.⁴⁸

Este estudio genera el primer reporte de actividad antioxidante en las especies evaluadas de *Hibiscus* y *Jatropha*; los resultados se pueden explicar por la presencia de metabolitos aislados en estas especies y que han mostrado potencial antioxidante en otras plantas. Dentro de los metabolitos con esta actividad se encuentran: mucílagos, antocianidinas, aminoácidos, taninos, flavonoides, quinonas, saponinas, ésteres de forbol, terpenos, cumarinas, deoxipreussomerinas, iridoides, alcaloides, carotenos, ácidos orgánicos, azúcares, entre otros.⁴⁹⁻⁵⁷

Los resultados de este estudio muestran que la mayor actividad frente a *E. coli* se presentó en los extractos de Whitten mientras que los de Tainung fueron más activos frente a *S. aureus*; este efecto coincide con investigaciones anteriores para especies de este mismo género.⁵⁸⁻⁶¹ En cuanto a la especie *J. curcas* su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano fue baja para *E. coli* y casi nula para *S. aureus*. A pesar de que para plantas pertenecientes a estos mismos géneros se ha reportado actividad antibacteriana frente a estos 2 microorganismos,^{60,61} los extractos obtenidos de las especies seleccionadas en este estudio no mostraron una potente inhibición de crecimiento microbiano. Eso está relacionado con el reporte de que frente a estos 2 microorganismos *Jatropha* no ha mostrado una alta actividad y para las variedades de *H. cannabinus* no se ha evidenciado inhibición de crecimiento bacteriano de ninguno de los extractos.⁶²

Con este estudio se observó que al utilizar el método de microondas, los extractos vegetales obtenidos con CH₂Cl₂ de *J. curcas*, Tainung, Everglades, presentaron actividad antimicrobiana frente a *E. coli*; al parecer porque esta bacteria es susceptible a los compuestos de los extractos que se potencializan por este método de extracción. Además, se mostró que el extracto de *J. curcas* obtenido con EtOH por el método de Soxhlet resultó mayor para *E. coli* con respecto a *S. aureus*; por el contrario, el extracto de esta misma especie pero obtenido con CH₂Cl₂ por el método de microondas, inhibió el crecimiento para *E. coli* pero no el de *S. aureus*. Estos resultados confirman reportes previos, los cuales explican que la eficacia de los extractos para inhibir el crecimiento bacteriano varía según los procedimientos de extracción y los métodos físicos de los ensayos utilizados en cada investigación.^{63,64}

Adicionalmente, se ha estudiado que tanto las hojas como las raíces de *J. curcas*, poseen actividad antimicrobiana debido a la presencia de compuestos como fenoles (ácido gálico y pirogalol), saponinas y flavonoides, que inhiben el crecimiento de

bacterias patógenas como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. faecales*.^{65,66} Sin embargo, en este estudio se presentó un porcentaje de inhibición mayor para la bacteria gramnegativa frente a la grampositiva, lo cual puede indicar que los compuestos como los fenoles, dañan la pared celular y desnaturalizan las proteínas; así mismo, los compuestos extraídos con alcoholes, afectan la organización de las bicapas lipídicas ocasionando muerte celular;⁶⁷ mientras que la bacteria grampositiva quizá no se ve afectada debido a una menor presencia de lípidos.

Este trabajo es una primera contribución al estudio de plantas de la Orinoquía colombiana y propicia el desarrollo de futuras investigaciones que permitan obtener sustancias naturales para aplicación en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica. Los resultados de actividad antioxidante se presentan como un primer reporte para estas especies, que abre así nuevas posibilidades de investigación para el aislamiento de sustancias antioxidantes; además, el método autobiográfico utilizado en este estudio se puede considerar como una herramienta útil, sencilla, rápida y económica, que permite el fraccionamiento biodirigido de extractos, como una primera aproximación en la búsqueda de compuestos antioxidantes a partir de productos naturales. El efecto antimicrobiano y antioxidante reportado en este estudio confirma que esas actividades dependen de los métodos de extracción y los solventes utilizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rojas N, Aguilera M, Romeu B. Actividad antibacteriana de *Boldoa purpurascens* Cav. Rev Cubana Plant Med. 2004[citado 2012 Ene 22];9(2). Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol9_2_04/pla03204.htm
2. Albuquerque U, Ramos M, Melo J. New strategies for drug discovery in tropical forests based on ethnobotanical and chemical ecological studies. J Ethnopharmacol. 2012;140(1):197-201.
3. Amri E, Kisangau DP. Ethnomedicinal study of plants used in villages around Kimboza forest reserve in Morogoro, Tanzania. J Ethnobiol Ethnomed. 2012[citado 2012 Ene 22];8(1). Disponible en: <http://www.ethnobiomed.com/content/8/1/1/>
4. Fleurentin J, Pelt J. Repertory of drugs and medicinal plants of Yemen. J Ethnopharmacol. 1982;6(1):85-108.
5. Al-Dubai A, Al-Khulaidi A. Medical and aromatic plants of Yemen (in Arabic). Obadi Center for Studies and Publishing, Sana'a, Yemen; 1996.
6. WHO. Traditional Medicine Strategy 20022005. Geneva: World Health Organization; 2002 [citado 2012 Ene 22]. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/who_edm_trm_2002.1.pdf
7. Zhang X. Traditional medicine: its importance and protection. In: Twarog S, Kapoor P, editors. Protecting and promoting traditional knowledge: systems, national experiences and international dimensions. Part 1. The Role of Traditional Knowledge in Healthcare and Agriculture. New York: United Nations; 2004.
8. El-Fiky F, Attif O, AboulEla M, Gaanem N. Antimicrobial evaluation of extracts from some Yemeni plants. Alex J Pharm Sci. 1995;9:35-7.

9. Al-Fatimi M, Wuster M, Schroeder G, Lindequist U. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. *J Ethnopharmacol.* 2007;111(3):657-66.
10. Badoni R, Semwal D, Kothiyal S, Rawat U. Chemical constituents and biological applications of the genus *Symplocos*. *J Asian Nat Prod Res.* 2010;12(12):1069-80.
11. Liang Z, Yang D, Liang X, Zhang Y, Liu Y, Liu F. Roles of reactive oxygen species in methyl jasmonate and nitric oxide-induced tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Plant Cell Rep.* 2012;31(5):873-83.
12. Sharma N, Garg V. Antihyperglycemic and antioxidative attribute of hydroethanolic extract of *Butea monosperma* (Lam.) seeds and its active constituents. *Indian J Exp Biol.* 2011;49(10):756-66.
13. Luqman S, Srivastava S, Kumar R, Maurya A, Chanda D. Experimental assessment of *Moringa oleifera* leaf and fruit for its antistress, antioxidant, and scavenging potential using *in vitro* and *in vivo* assays. *Evid Based Complement Alternat Med*; 2012 [citado 2012 Ene 22]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3247066/>
14. Khan M, Kihara M, Omoloso A. Antimicrobial activity of *Symplocos cochinchensis*. *Fitoterapia.* 2001;72(7):825-8.
15. Pandey A, Tripathi P, Pandey R, Srivastava R, Goswami S. Alternative therapies useful in the management of diabetes: A systematic review. *J Pharm Bioallied Sci.* 2011;3(4):504-12.
16. Stangeland T, Alele P, Katuura E, Lye K. Plants used to treat malaria in Nyakayojo sub-county, western Uganda. *J Ethnopharmacol.* 2011;137(1):154-66.
17. Njume C, Afolayan A, Samie A, Ndip R. Inhibitory and bactericidal potential of crude acetone extracts of *Combretum molle* (Combretaceae) on drug-resistant strains of *Helicobacter pylori*. *J Health Popul Nutr.* 2011;29(5):438-45.
18. Samy R, Ignacimuthu S, Sen A. Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. *J Ethnopharmacol.* 1998;62(2):173-81.
19. Austin D, Kristinsson K, Anderson R. The relationship between the volume of antimicrobial consumption in human communities and the frequency of resistance. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96(3):1152-6.
20. Motsei M, Lindsey K, Van Staden J, Jaeger A. Screening of traditionally used South African plants for antifungal activity against *Candida albicans*. *J Ethnopharmacol.* 2003;86(2):235-41.
21. Rao B, Kotharia S, Rajput D, Patel R, Darokar M. Chemical and biological diversity in fourteen selections of four *Ocimum* species. *Nat Prod Commun.* 2011;6(11):1705-10.
22. Joyeux M, Moitier F, Fleurentin J. Screening of antiradical, antilipoperoxidant and hepatoprotective effects of nine plant extracts used in caribbean folk medicine. *Phytother Res.* 1995;9(3):228-30.

23. Alma M, Mavi A, Yildirim A, Digrak M, Hirata T. Screening chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* growing in Turkey. *Biol Pharm Bull.* 2003;26(12):1725-9.
24. Wijesinghe W, Senevirathne M, Oh M, Jeon Y. Protective effect of methanol extract from citrus press cakes prepared by far-infrared radiation drying on H₂O₂-mediated oxidative damage in Vero cells. *Nutr Res Pract.* 2011;5(5):389-95.
25. Bouchouka E, Djilani A, Bekkouche A. Antibacterial and antioxidant activities of three endemic plants from Algerian Sahara. *Acta Sci Pol Technol Aliment.* 2012;1(11):61-5.
26. Rashid A, Qureshi Z, Raza S, William J, Arshad M. Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. *Analele Universității din București.* 2010;19(1):23-30.
27. Pérez R, Vargas R, Martínez F, García E, Hernández B. Antioxidant activity of alkaloids from *Bocconia arborea*. A study on six testing methods. *Ars Pharmaceutica.* 2003;44(1):5-21.
28. El-Baky H, El-Baz F, El-Baroty G. Evaluation of marine alga *Ulva lactuca* L. as a source of natural preservative ingredient. *American-Eurasian J Agric & Environ Sci.* 2008;3(3):434-44.
29. Saidana D, Mahjoub M, Boussaada O, Chriaa J, Mahjoub M, Chéraif I, et al. Antibacterial and antifungal activities of the essential oils of two saltcedar species from Tunisia. *J Am Oil Chem Soc.* 2008;85(9):817-26.
30. Boussaada O, Chriaa J, Nabli R, Ammar S, Saidana D, Mahjoub M, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extracts of *Evax pygmaea* (Asteraceae) growing wild in Tunisia. *World J Microbiol Biotechnol.* 2008;24(8):1289-96.
31. Bel H, Ammar S, Saidana D, Daami R, Cherria J, Liouane K, et al. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of *Trichoderma* sp. Growing in Tunisia. *Ann Microbiol.* 2008;58(2):303-8.
32. Kosar M, Ozek T. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation and hydrodistillation methods for the analysis of volatile secondary metabolites. *Pharmaceutical Biology.* 2005;43(6):491-5.
33. Wang L, Weller C. Recent advances in extraction of nutraceutical from plants. *Trends food science technol.* 2006;17(6):300-12.
34. Eskilsson S, Bjorklund E. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J Chromatography A.* 2000;902(1):227-50.
35. Bafna A, Mishra S. *In vitro* antioxidant activity of methanol extract of rhizomes of *Curculigo orchioides* Gaertn. *Ars Pharm.* 2005;46(2):125-38.
36. Vásquez A, Cala M, Miranda I, Tafurt G, Martínez J, Stashenko E. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia Sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*. *Scientia Technica.* 2007;13(33):205-7.

37. Cáceres A. Actividad antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutraceuticos. Guatemala: Informe final proyecto FODECYT; 2009.
38. Peiwu L, Hopia A, Jari S, Yrjönen T, Vuorela H. TLC Method for Evaluation of Free Radical Scavenging Activity of Rapeseed Meal by Video Scanning Technology In Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress, Canberra, Australia; 1999 [citado 2012 Feb 2]. Disponible en: <http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/551.htm#TopOfPage>
39. Vidal A, Fallarero A, Silva E, Oliveira A, Lima A, Pavan R, et al. Composición química y actividad antioxidante del alga marina roja *Bryothamnion triquetrum* (S.G.Gmelin) Howe. Rev Bras Cienc Farm. 2006;42(4):589-601.
40. Christian K, Nair M, Jackson J. Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*). J Food Comp Anal. 2006;19(8):778-83
41. Prenesti E, Berto S, Daniele P, Toso S. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. Food Chem. 2007;100(2):433-8.
42. Christian K, Jackson J. Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*). J Food Comp Anal. 2009;22(7):663-7.
43. Fernández S, Rodríguez I, Beltrán R, Pasini F, Joven J, Micol V, et al. Quantification of the polyphenolic fraction and in vitro antioxidant and in vivo anti-hyperlipemic activities of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extract. Food Res Int. 2011;44(5):1490-5.
44. Tongpoothorn W, Sriuttha M, Chanthai S, Ruangviriyachai C. Identification of chemical constituents in methanolic extract of *Jatropha curcas* oil related to their antioxidant and antimicrobial activities. J Biotechnol. 2010;150(supp:36)S1-S576.
45. Bruijn J, Loyola C, Aqueveque P, Cañumir J, Cortéz M, France A. Antioxidant properties of extracts obtained from *Grifola gargal* mushrooms. Micología Aplicada Internacional. 2009;21(1):11-8.
46. Moure A, Franco D, Sineiro J, Domínguez H, Nuñez M, Lema J. Evaluation of Extracts from *Gevuina avellana* Hulls as Antioxidants. J Agric Food Chem. 2000;48(9):3890-7.
47. Novoa A, Motidome M, Mancini J, Fallarero A, Midori M, Brandao L, Lapa A. Actividad antioxidante y ácidos fenólicos del alga marina *Bryothamnion triquetrum* (S.G. Gmelin) Howe. Rev Bras Cienc Farm. 2001;37(3):373-83.
48. Suárez M, Paz M, Ramo T, Macia A, Motilva M. Methods for preparing phenolic extracts from olive cake for potential application as food Antioxidants. J Agric Food Chem. 2009;57(4):1463-72.
49. Villegas L, Fernández I, Maldonado H, Torres R, Zabaleta A, Vaisberg A, et al. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. J Ethnopharmacol. 1997;55(3):193-200.

50. Staubmann R, Schubert M, Hiermann A, Kartnig T. A complex of 5-hydroxypyrrolidin-2-one and pyrimidine-2,4-dione isolated from *Jatropha curcas*. *Phytochemistry*. 1999;50(2):337-8.
51. Staubmann R, Ncube I, Gubitz G, Steine, W, Read J. Esterase and lipase activity in *Jatropha curcas* L. seeds. *J Biotech*. 1999;75(2-3):117-26.
52. Gubitz G, Mittelbach M, Trabi M. Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. *Bioresour Technol*. 1999;67(1):37-42.
53. Márquez N, Calzado M, Sánchez G, Pérez M, Minassi A, Pagani A, et al. Differential effects of phorbol-13-monoesters on human immunodeficiency virus reactivation. *Biochem Pharm*. 2008;75(6):1370-80.
54. Ravindranath N, Ravinder M, Mahende G, Ramu R, Ravi K, Biswanath H. Deoxypreussomerins from *Jatropha curcas*: are they also plant metabolites? *Phytochemistry*. 2004;65(16):2387-90.
55. Galicia L, Salinas Y, Espinoza M, Sánchez, C. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. *Revista Chapingo. Serie horticultura*. 2008;14:121-9.
56. Maganha E, Costa R, Moreira R, Pegas J, Lia A, Ramos P, et al. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. *Food Chemistry*. 2010;118(1):1-10.
57. Parawira W. Biodiesel production from *Jatropha curcas*: A review. *Scientific Research Essays*. 2010;5(14):1796-808.
58. Srivatanakul M, Park S, Sanders J, Salas M, Smith R. Multiple shoot regeneration of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) from a shoot apex culture system. *Plant Cell Reports*. 2000;19(12):1165-70.
59. Ali B, Al Wabel N, Blunden G. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review. *Phytother Res*. 2005;19(5):369-75.
60. Afolabi O, Ogunsola F, Coker A. Susceptibility of cariogenic *Streptococcus mutans* to extracts of *Garcinia kola*, *Hibiscus sabdariffa*, and *Solanum americanum*. *West Afr J Med*. 2008;27(4):230-3.
61. Darwish R, Abujai T. Effect of ethnomedicinal plants used in folklore medicine in Jordan as antibiotic resistant inhibitors on *Escherichia coli*. *BMC Complement Altern Med*. 2010;28:10-9 [citado 2012 Feb 2]. Disponible en: <http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-20187978>
62. Moujir L, Seca A, Silva A, López M, Padilla N, Cavaleiro J. Cytotoxic activity of lignans from *Hibiscus cannabinus*. *Fitoterapia*. 2007;78(5):385-7.
63. Igbinosa O, Igbinosa E, Aiyegoro O. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *Afr J Pharm Pharmacol*. 2009;3(2):58-62.
64. Oskoueian E, Abdullah N, Saad W, Omar A, Ahmad S, Kuan W, et al. Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. *J Med Plants Res*. 2011;5(1):49-57.

65. Atindehou K, Kone M, Terreaux C, Traore D, Hostettmann K, Dosso M. Evaluation of the antimicrobial potential of medicinal plants from the Ivory Coast. *Phytother Res.* 2002;16(5):497-502.
66. Pabón LC, Hernández-Rodríguez P. Importancia química de *Jatropha curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales. *Rev Cubana Plant Med.* 2012;17(2) [citado 2 Feb 2012]. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
67. Brooks G, Butel J, Morse S. *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg.* México DF: Ed. Manual Moderno; 2005.

Recibido: 11 de mayo de 2012.

Aprobado: 10 de octubre de 2012.

Ludy C. Pabón. Grupo de investigación Biopnori-Farm (Biodiversidad y Productos Naturales de la Orinoquia). Grupo de Investigación Biomigen (Biología Molecular e Inmunogenética). Departamento de Ciencias Básicas. Universidad de La Salle. Carrera. 2 No. 10- 70 piso 5, Bloque A. Fax:57-(1)-2829959. Teléf.: 57-(1)-3535360 ext. 2500. Bogotá, Colombia. Correos electrónicos:
lupabon@unisalle.edu.co; phernandez@unisalle.edu.co