



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS CRUDOS DE
PLANTAS PERTENECIENTES A LA FAMILIA BIGNONIACEAE**

**Silvana Villarreal¹, Sindy Moreno¹, Deisy Jaimez¹, Luis Rojas-Fermín¹, María Lucena², Lorena
Díaz³, Tulia Díaz⁴, Juan Carmona⁵**

- 1. Instituto de Investigaciones. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.**
- 2. Departamento Bioanálisis Clínico, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.**
- 3. Departamento de Análisis y Control, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.**
- 4. Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.**
- 5. Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.**

Correspondencia: Avenida 16 de septiembre detrás del IAHULA. Instituto de Investigaciones. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.

Email: silvanab@ula.ve



RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo investigar la actividad antibacteriana y antioxidante de especies pertenecientes a la familia Bignoniaceae, entre estas *Spathodea campanulata* Beauv., *Podranea ricasoliana* (Tanfani) Sprague, *Tecoma stans* (Linn.) y *Jacaranda mimosifolia* D. Don., presentes en el estado Mérida-Venezuela. De las cuatro especies vegetales estudiadas solo el extracto de las flores de *S. campanulata* presentó actividad frente a *Staphylococcus aureus* a una concentración de 0,5 g/mL usando el método de Kirby-Bauer. Del extracto de las flores se identificaron flavonoides usando el revelador NEU, se evaluó la actividad antioxidante usando el método DPPH, el extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* reveló una buena actividad antioxidante con una CI_{50} de 940 $\mu\text{g/mL}$.

PALABRAS CLAVE: Actividad antibacteriana, actividad antioxidante, Bignoniaceae, *Spathodea campanulata*.

ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF RAW EXTRACTS OF PLANTS BELONGING TO THE BIGNONIACEAE FAMILY

ABSTRACT

The present work had as aim investigate the antibacterial and antioxidant activity of species belonging to the family Bignoniaceae, between these *Spathodea campanulata* Beauv., *Podranea ricasoliana* (Tanfani) Sprague, *Tecoma stans* (Linn.) and *Jacaranda mimosifolia* D. Don., presents in the condition Merida-Venezuela. Of four vegetable studied species only the extract of the flowers of *S. campanulata* presented activity opposite to *Staphylococcus aureus* to a concentration of 0,5 g/mL using Kirby-Bauer's method. Of the extract of the flowers they identified flavonoids using the developer NEU, the antioxidant activity was evaluated using the method DPPH, the extract of dichloridemethene of the flowers of *S. campanulata* revealed a good antioxidant activity with a CI_{50} of 940 $\mu\text{g/mL}$.



KEYWORDS: Antibacterial activity, antioxidant activity, Bignoniaceae, *Spathodea campanulata*.

INTRODUCCIÓN

Entre una de las familias reconocidas del reino vegetal se encuentra la Familia Bignoniaceae, los miembros de esta familia se caracterizan por ser árboles, arbustos o trepadoras leñosas y raras veces herbáceas. Está formada por un gran número de géneros y especies que se encuentran distribuidos en varios lugares del mundo (1). La familia Bignoniaceae es común de los trópicos de Sudamérica, en la que se incluyen aproximadamente 112 géneros con 725 especies. Esta familia toma importancia por sus especies maderables y por otras utilizadas como ornamentales, entre los más importantes tenemos: *Spathodea*, *Tecoma*, *Jacaranda*, *Tabebuia*, *Podranea* (2). En Venezuela la familia Bignoniaceae se distribuye aproximadamente en 30 géneros y 157 especies (3), algunas de las mismas representan una valiosa fuente para la producción de compuestos químicos como naftoquinonas del tipo de lapachol, glucósidos

Acta-Bioclin 2017; 7(14):205-222

iridoides, alcaloides, flavonas, triterpenos, polifenoles, taninos y aceites de semilla, que tienen muchas actividades farmacológicas como: antiinflamatoria, antimicrobiana, antifungal, antiviral, antiparásitaria, antiprotozoal y anticáncerígena (2). Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos acuoso, etanólico, metanólico y éter de petróleo de la corteza y tallo de la *S. campanulata* Beauv., los organismos microbianos utilizados para el estudio fueron bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) y la levadura *Candida albicans*, obteniéndose que el extracto de metanol mostró la mejor actividad antibacteriana y antifúngica, mientras que los extractos de éter de petróleo y acuoso presentaron poca actividad (4). Asimismo se realizaron estudios de actividad antimicrobiana de extractos de metanol de las hojas y corteza del

tallo de *Jacaranda mimosifolia* D, *Tecoma stans* Linn., *Tabebuia rosea* (Bertol) DC., y *Crescentia cujete* Linn., contra una amplia gama de bacterias Gram positivas y Gram negativas y hongos. La mayoría de las especies mostraron una variable actividad de amplio espectro, en comparación a los antimicrobianos, además observaron que el extracto de metanol de las hojas de *Tecoma stans* fue eficaz frente a *Candida albicans* (5). Estudios realizados por Azzawi *et al* (6), determinaron que el extracto alcohólico de la especie *T. stans*, posee actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, mientras que el extracto acuoso no posee actividad contra los microorganismos en cuestión. Anteriormente se evaluó la actividad antimicrobiana y la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos de etanol, hexano y agua de la especie *J. mimosifolia*, contra cinco bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* β -hemolítico, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*), y una levadura (*Candida albicans*), los extractos acuosos de *J. mimosifolia*, mostraron una mayor actividad contra *Bacillus cereus* y *Escherichia coli*. Del

mismo modo, los extractos de etanol fueron activos frente a *Staphylococcus aureus* (7). Ensayos bioautográficos revelan que extractos pertenecientes a la familia Bignoniaceae presentan principios antimicrobianos. Análisis fitoquímicos muestran que estos compuestos son de naturaleza fenólica. Los resultados obtenidos justificarían el uso de estos extractos para el tratamiento de infecciones bacterianas especialmente aquellas de origen dérmico (8). En busca de indagar en lo anteriormente descrito, en esta investigación se planteó determinar la actividad antibacteriana y antioxidante de extractos crudos de las especies *Spathodea campanulata*, *Tecoma stans*, *Jacaranda mimosifolia* y *Podranea ricasoliana*, pertenecientes a la familia Bignoniaceae.

METODOLOGIA

Material vegetal

La muestra estuvo integrada por la recolección de dos kilos de hojas de cada especie vegetal. La determinación botánica de cada una de las especies en estudio fue realizada en el herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

Universidad de Los Andes, con la ayuda del taxónomo especialista Ingeniero Juan Carmona. Los voucher (1-4) de cada muestra fueron depositados para la preparación de los diferentes extractos. La recolección de cada especie vegetal fue realizada en diferentes lugares del Municipio Libertador. Estado Mérida – Venezuela.

Preparación de los extractos crudos de las especies vegetales

Las hojas se separaron del resto del material vegetal y se secaron a temperatura ambiente en la sombra durante una semana. Una vez secas y molidas se sometieron a una extracción exhaustiva a temperatura ambiente con los solventes hexano, metanol y finalmente una mezcla agua: metanol en una relación 4:6. Obteniendo un total de 12 extractos, dichos extractos se concentraron en un rotavapor bajo presión reducida a una temperatura de 40°C, para obtener el peso total de los extractos crudos. Para la preparación de los distintos patrones para el ensayo antibacteriano, se pesaron 1 gramo de cada extracto y se disolvieron en 1 mL de cada solvente para obtener la concentración final de cada extracto. Posteriormente se procedio

a la preparación del extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* Beauv. La muestra vegetal fue sometida al lavado con un solvente orgánico, proceso físico con el fin de extraer sus principios activos. Para ello se pesaron 200 g de flores frescas, las cuales se colocaron en un embudo realizándose el lavado con 1800 mL de diclorometano, el cual se dejó reposar por 1 min. Se procedió a concentrar el extracto usando un rotavapor (9). De los extractos obtenidos se ensayó la actividad antibacteriana por dos métodos: difusión en agar con disco y el método de microdilución en placa.

Pruebas de susceptibilidad antibacteriana

a) Método de Difusión en Agar con Discos

Impregnación de los discos: para la evaluación de la actividad antibacteriana, se impregnaron discos de papel de filtro (6 mm diámetro) con 20 µL de cada extracto con concentraciones conocidas. De igual modo se impregnaron discos con los solventes a utilizar (hexano, metanol, agua: metanol), como control negativo. Estos discos se dejaron secando a temperatura ambiente y en condiciones de esterilidad con luz ultravioleta

durante 12 horas, antes de impregnarlos con las muestras problema y solventes.

Preparación del inóculo bacteriano

Los cultivos bacterianos (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) se mantuvieron en tubos con agar conservación en cuña, a temperatura ambiente. Para la reactivación de las cepas se sembraron en agar tripticasa soya con la finalidad de obtener colonias aisladas y de estas se tomó una asada de colonias y se sembraron en 2,5 mL de caldo Mueller Hinton y luego se incubaron a 37°C durante 18 horas. Cada inóculo bacteriano se preparó a partir del cultivo caldo en solución salina fisiológica (SSF) estéril comparándolo con el patrón de turbidez de Mac Farland N° 0,5 a fin de obtener 10^6 - 10^8 UFC/mL (10).

Análisis microbiológico

La actividad antimicrobiana de los extractos de las especies vegetales, se evaluaron por el método de

Acta-Bioclin 2017; 7(14):206-222

Kirby Bauer, colocando en una placa de petri agar Müller Hinton. Una vez solidificado, se inoculó el microorganismo en la superficie del agar con un hisopo estéril, luego se colocaron los discos de papel de filtro, previamente impregnados con las diferentes concentraciones de los extractos y con los controles negativos (solventes). También se colocó el disco estándar del antibiótico de referencia como control positivo según el microorganismo (*S. aureus* ATCC 25923: Ampicilina/ sulbactam 10/10 µg, *E. faecalis* ATCC 29212: Vancomicina 30 µg, *E. coli* ATCC 25922: Gentamicina 30 µg, *K. pneumoniae* ATCC 23357: Aztreonam 30 µg y *P. aeruginosa* ATCC 27853: Ceftazidima 10 µg).

Posteriormente, el medio de cultivo inoculado se incubó durante 18 horas a 4°C y luego a 37°C durante 24 horas. Se realizó la lectura a las 24 horas.

b) Método de Microdilución en Placa.

Dilución de los extractos: se pesaron 0,02 g de cada uno de los extractos de las especies en estudio, el cual fueron diluidos en dimetil-

ulfóxido (DMSO) hasta obtener una concentración de 20.000 ppm (20.000 µg/mL). Del concentrado se tomó 10µL y se diluyeron en 490 µL de caldo nutritivo, para finalmente obtener una concentración de 400 ppm (400 µg/mL).

Preparación del preinoculo bacteriano

Se preparó el inculo tomando una asada de la cepa e inoculándola en 20 mL de caldo nutritivo, luego se incubo sobre un agitador en la estufa a 37°C por 18 horas.

Preparación de las diluciones

A partir del inculo bacteriano se prepararon diluciones, agregando 1 mL del preinoculo en un tubo con 9 mL de solución salina, esta solución correspondió a 10^{-1} y a partir de ella se hicieron diluciones hasta 10^4 (ésta última se realizó en caldo nutritivo y de allí se diluyo en solución salina en 10^2 , 10^3 y 10^4). Luego de cada dilución, se sembró en placa de agar nutritivo, inoculando 100 µL, extendiéndola sobre la superficie del agar, incubándose a 37°C por 24 horas para determinar

la cantidad inicial de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL).

Microdilución en placa:

Se emplearon placas estériles de poliestireno para microdilución de 96 pocillos en el cual se dispensó en la primera columna 200 µL de caldo nutritivo sin inocular, como control de esterilidad de la técnica. Luego en las columnas 2, 6 y 9 subdividas en extractos (E_1 hasta E_{12}), se dispensaron 200 µL de la concentración de 400 µg/mL de cada extracto. En la última columna de la placa se dispense 200 µL del inculo como control positivo y al resto de los pozos se añadió 100 µL de caldo nutritivo con dicho inculo, inmediatamente se procedió a realizar las diluciones a partir de la columna 2 a la 11 por duplicado tomando 100 µL del pozo que contiene 200 µL del extracto, así sucesivamente a cada uno de los extractos disminuyendo la concentración en 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL y 25 µg/mL.

Incubación: se incubo sobre un agitador en la estufa a 37°C por 24 horas y luego se realizó la lectura de cada uno de los pozos.

Actividad antibacteriana del extracto de diclorometano de las flores de la *Spathodea campanulata*

Se procedió a impregnar los discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro con el extracto en concentraciones de 0,5 g/mL, 30000 ppm, 20000 ppm y 10000 ppm. Asimismo se impregnaron discos con dimetil- sulfóxido como control negativo y se usaron antibióticos según las cepas bacterianas de referencia ensayadas (*S. aureus* ATCC 25923: Eritromicina 30 µg, *E. coli* ATCC 25922: Amikacina 30 µg, *K. pneumoniae* ATCC 23357: Amikacina 30 µg), siguiendo la misma metodología anteriormente descrita.

Identificación de flavonoides

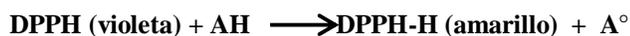
Del extracto concentrado de diclorometano de las flores de *S. campanulata* Beauv., se procedió a realizar una cromatografía de capa fina para determinar la presencia de flavonoides, usando como fase móvil una mezcla de butanol: ácido acético: agua (3:1:1). Posteriormente usando la misma fase móvil se procedió a identificar la presencia de los flavonoides quercetina y rutina

usando como patrones: Quercetina 2 mg/mL metanol y Rutina 2 mg/mL metanol, mediante el revelador NEU (2-aminoetil-difenilborato) (9).

Test de Actividad Secuestrante de Radicales Libres (DPPH).

Este ensayo permitió evaluar la actividad secuestrante de radicales libre del extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* Beauv., sobre el reactivo 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). El mecanismo de acción antioxidante se verifica por sesión de hidrógenos por parte del antioxidante, neutralizando así a la molécula DPPH. A mayor porcentaje de inhibición de DPPH, mayor es la actividad antioxidante del extracto. Se utilizó una muestra de 1 mg/mL y otra de 10 mg/mL identificadas como E₁ y E₂ respectivamente, de las cuales se tomaron 200 µL. Se utilizó como control positivo el ácido ascórbico 176 µg/mL (1 mM) preparado con metanol y como control negativo DPPH, se tomaron 2,8 mL de solución de DPPH a 6x10⁻² mM en metanol la cual es una molécula radicalaria estable y se mezcló con las muestras. En presencia de DPPH los antioxidantes (AH) ceden un

hidrogeno cambiando el color del reactivo de violeta a amarillo (11).



Las mezclas de reacción se incubaron por 30 minutos en la oscuridad. Posteriormente se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV Kontron. El porcentaje de inhibición (% PI) del radical libre DPPH se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ PI} = [\text{Abs DPPH} - \text{Abs muestra} / \text{Abs DPPH}] \times 100$$

La concentración eficiente para obtener el 50% de la capacidad máxima para captar radicales libres (CI_{50}), se calculó por la siguiente ecuación:

$$CI_{50} = C_1 - \Delta C$$

$$\Delta C = [(C_1 - C_2) \times PI_1 - 50] / (PI_1 - PI_2)$$

Dónde:

PI_1 y PI_2 : son los porcentajes de inhibición inmediatamente superior e inferior al 50% de inhibición, respectivamente.

$C_1 - C_2$: concentraciones en las que se produce PI_1 y PI_2 respectivamente.

RESULTADOS

Actividad antibacteriana de los extractos crudos de las especies *Spathodea campanulata*, *Podranea ricasoliana*, *Jacaranda mimosifolia* y *Tecoma stans*

A continuación se expresan los resultados de la valoración de la actividad antibacteriana de los extractos crudos de hexano, metanol y agua: metanol de las hojas de cada especie vegetal estudiada, usando el método de difusión en agar con discos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, estos microorganismos son morfológicamente y fisiológicamente diferentes y estos resultados son representativos de la actividad antibacteriana de los extractos de cada especie ensayada. En la Tabla 1 se muestra la actividad antibacteriana de los extractos crudos de las especies frente a cepas de referencia a una concentración de 1 g/mL; donde se observó que ninguno de los extractos inhibió el crecimiento de las cepas de referencia a la concentración

estudiada. Es posible que una de las razones por la que los extractos ensayados de las especies vegetales estudiadas no tuvieron actividad frente a las cepas de referencia usadas Gram positivas y Gram negativas, se deba a problemas de difusión de los compuestos activos de cada extracto. Al no obtener los resultados que se esperaban por el método de difusión en agar con disco se empleó el método de microdilución en placa para verificar si realmente las especies vegetales no son activas frente a las cepas de referencia usadas, ya que dicho método no hay problemas de difusión ya que el extracto está en contacto directo con las cepas bacterianas. Se procedió a realizar el ensayo de la actividad antibacteriana a través del método de microdilución en placa contra una cepa Gram positiva como *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y Gram negativa *Escherichia coli* ATCC 25922. La lectura se realizó por observación

directa sin ayuda de ningún aparato óptico observándose turbidez en el pozo del control positivo (Inoculo), lo cual indica un crecimiento adecuado, asimismo se observó el pozo del control negativo claro, sin turbidez (caldo nutritivo sin inocular). Al comparar el control negativo con los pozos que contenían los extractos con la cepa inoculada (E₁-E₁₂), se determinó que no hubo reducción del crecimiento bacteriano, observándose turbidez en cada uno de ellos. Por lo tanto las plantas estudiadas no tuvieron actividad con las cepas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* usando el método de microdilución en placa. Esto permitió corroborar que los extractos crudos de las especies *S. campanulata*, *P. ricasoliana*, *T. stans* y *J. mimosifolia* no poseen actividad antibacteriana contra las cepas ATCC ensayadas a una concentración 20.000 ppm.

Tabla 1. Actividad antibacteriana de los extractos crudos de las especies frente a cepas de referencia a una concentración de 1 g/mL.

Extractos	Microorganismos				
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
E ₁	NA	NA	NA	NA	NA
E ₂	NA	NA	NA	NA	NA
E ₃	NA	NA	NA	NA	NA

E ₄	NA	NA	NA	NA	NA
E ₅	NA	NA	NA	NA	NA
E ₆	NA	NA	NA	NA	NA
E ₇	NA	NA	NA	NA	NA
E ₈	NA	NA	NA	NA	NA
E ₉	NA	NA	NA	NA	NA
E ₁₀	NA	NA	NA	NA	NA
E ₁₁	NA	NA	NA	NA	NA
E ₁₂	NA	NA	NA	NA	NA
C (+)	30* Amp-S	28* Va	31* Gn	45* Az	36* Cef

E₁: *S. campanulata* (hexano 100), E₂: *S. campanulata* (metanol 100), E₃: *S. campanulata* (agua:metanol 40:60), E₄: *T. stans* (hexano 100), E₅: *T. stans* (metanol 100), E₆: *T. stans* (agua:metanol 40:60), E₇: *P. ricasoliana* (hexano 100), E₈: *P. ricasoliana* (metanol 100), E₉: *P. ricasoliana* (agua:metanol 40:60), E₁₀: *J. mimosifolia* (hexano 100), E₁₁: *J. mimosifolia* (metanol 100), E₁₂: *J. mimosifolia* (agua:metanol 40:60), C (+): Compuestos de Referencia, NA: no activo, *: promedio de dos ensayos, Amp-S: Ampicilina-Sulbactam®, Va: Vancomicina®, Gn: Gentamicina®, Az: Aztreonam®, Cef: Cefazidima®.

Actividad antibacteriana del extracto de diclorometano de las flores de la especie *S. campanulata* Beauv.

En la Tabla 2 se expresan los resultados de la actividad antibacteriana del extracto crudo de diclorometano de las flores de la especie vegetal *S. campanulata*, usando el método de difusión en agar con discos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas ATCC. Dicho extracto inhibió el desarrollo de la bacteria Gram positiva *S.*

aureus ATCC 25923 a una concentración de 0,5 g/mL.

Identificación de flavonoides

Para este ensayo se procedió a identificar la presencia de flavonoides en las flores de la especie *S. campanulata* Beauv., anteriormente lavadas con diclorometano. Al extracto del mismo se le realizó una cromatografía en capa fina, observándose la presencia de flavonoides mediante el revelador NEU que le confiere una fluorescencia amarilla. Al usar el pa 215

quercetina (2 mg/mL MeOH) y Rutina para identificar dichos compuestos, con la fase móvil

presume que en el extracto de diclorometano de las flores de *S. campanulata* se encuentren

Tabla 2. Actividad antibacteriana del extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* Beauv.

Concentraciones						Referencia: Ácido Ascórbico
µg/mL	250	500	750	1000	1500	176
% I	19	21	38	54	92	97
Ds	1,8	0,7	2,5	3,2	1	0,09

Tabla 3. Actividad antibacteriana de las diluciones del extracto de las flores de la especie *S. campanulata* Beauv.

Microorganismos	Concentraciones				
	0,5g/mL (mm)	30000p pm	20000p pm	10000p pm	C (+)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	18	NA	NA	NA	28* Amp-S
<i>E. coli</i> ATCC 25922	NA	NA	NA	NA	26*

C (+): Compuestos de Referencia, NA: no activo, *: promedio de dos ensayos, Amp-S: Ampicilina-Sulbactam®, Gn: Gentamicina®.

Tabla 4: Actividad antioxidante del extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* Beauv.

Concentraciones						Referencia: ácido Ascorbico
µg/mL	250	500	750	1000	1500	176
% I	19	21	38	54	92	97
Ds	1.8	0.7	2.5	3.2	1	0.09

Butanol: Ác. acético: H₂O y Hexano-Ác. acético se observó que ninguno estaba presente. Se

presentes flavonoides menos polares, ya que la quercetina en su estructura posee grupos

hidroxilos, y la rutina un disacárido haciéndolas muy solubles, aunque pudo haber influido el hecho de que el extracto estaba muy diluido puesto que se usó 10 mg/mL. Basado en estos resultados se procedió hacer diluciones para determinar la CIM Tabla 3. La evaluación antibacteriana realizada por el método de difusión en agar con discos, reveló que las muestras D₁ (CIM 0,25 g/mL), D₂ (CIM 0,125 g/mL) presentaron actividad contra *S. aureus* y D₃ (CIM 0,06 g/mL) no presentó actividad, observándose que la CIM fue de 0,125 g/mL con un halo de inhibición de 18 mm.

Actividad antioxidante expresada por la actividad secuestrante de DPPH del extracto de diclorometano de la *Spathodea campanulata* Beauv.

Este ensayo permitió evaluar la actividad secuestrante de radicales libre del extracto sobre el eactivo 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). En la Tabla 4 se reportan los datos de este ensayo. El test cuantitativo de DPPH, para el extracto de diclorometano de las flores de la *S.*

campanulata reveló una buena actividad antioxidante con una CI₅₀ de 940 µg/mL.

En el Grafico 1 se evidencia una actividad dependiente de la concentración hasta 1500 µg/mL, con un % de Inhibición de 92% ± 1 comparado con un 97% ± 0,09 obtenido para el ácido ascórbico a una concentración de 176 µg/mL utilizado como control positivo. Sobre este fundamento se puede decir que el extracto de Diclorometano de las flores de la especie *S. campanulata* tiene un gran potencial en la prevención y tratamiento de los daños inducidos por el desbalance a nivel orgánico de los radicales libres de oxígeno (ROS).

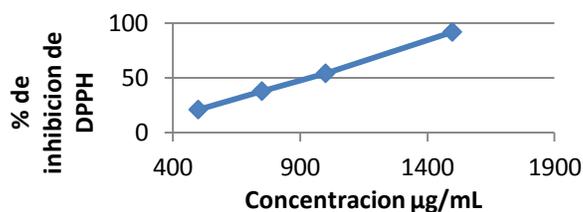


Grafico 1. Actividad secuestrante de radicales libres expresada como porcentaje de inhibición de DPPH del extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* Beauv.

DISCUSIÓN

Resulta claro que uno de los propósitos del estudio de las plantas medicinales es forma ²¹⁷ del desarrollo científico de la sociedad, determinar microbiológicamente las propiedades terapéuticas de las plantas medicinales ya que resulta imprescindible descubrir nuevas sustancias con actividad antibiótica frente a microorganismos resistentes y con alta capacidad infectiva, aumentando la calidad de vida del hombre. Al respecto, se tiene la investigación realizada por Ayyappa y col (12), donde hace referencia de la actividad antibacteriana *in vitro* de dos plantas medicinales contra bacterias patógenas que se aislaron de la ubre bovina. Los extractos acuoso y de metanol de dos plantas fueron investigados por el método de difusión en agar con discos. Los extractos de metanol de *Tridax procumbens* y *Spathodea campanulata* mostraron actividad significativa contra *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva (8.0 ± 0.70) y *Streptococcus agalactiae* (7.6 ± 0.54) respectivamente. Los resultados obtenidos en la presente investigación, corrobora la

actividad antibacteriana a extractos metanólicos de las hojas de la especie *S. campanulata* a una concentración de 0,1 g/mL. Sin embargo es la primera vez que se reporta actividad antibacteriana del extracto de diclorometano de las flores de esta especie. Por otra parte, se ha señalado que el estudio químico de las cascaras de raíces de *Spathodea campanulata* (Bignoniaceae) permitió aislar un iridóide glucósido (ajugol) y dos derivados fenólicos (ácido *p*-hidroxibenzóico y metil *p*-hidroxibenzoato), los cuales mostraron actividad biológica contra el hongo *Cladosporium herbarum*. El ácido *p*-hidroxibenzóico, muestra actividad antibacteriana contra las Gram positivas. Además son utilizados como agentes antimicrobianos, empleados en alimentos y la preservación de drogas en varios países, principalmente contra los hongos (13). Asimismo, se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos acuoso, etanólico, metanólico y éter de petróleo de la corteza y tallo de *Spathodea campanulata* Beauv., obteniendo que el extracto de metanol mostró la mejor actividad antibacteriana y antifúngica. Cabe considerar



que la *S. campanulata* Beauv., es una especie que pertenece a la familia Bignoniaceae, llamado comúnmente árbol de tulipán africano, la llama del bosque o la llama de Nandi. Los preparativos de corteza de tallo son empleados contra enemas, dermatosis de hongo, herpes, dolores de estómago, diarrea. Además presenta actividad hipoglucémico, anti VIH y actividad antipalúdica que fue observada en extractos de corteza de tallo. Varios estudios fitoquímicos fueron realizados en diferentes partes de *S. campanulata* Beauv, incluyendo cortezas, tallo, hojas, flores y frutas (4). Por tal motivo esta investigación sustenta la presente investigación, ya que muestra la actividad antimicrobial de la especie frente a *Staphylococcus aureus*, la cual es una bacteria que ha presentado resistencia a los antibióticos. Con respecto a la actividad antioxidante expresada por la actividad secuestrante de DPPH del extracto de diclorometano de las flores de la *Spathodea campanulata* Beauv., los resultados obtenidos en este ensayo se correlacionan con estudios anteriores a esta especie vegetal, de la cual se han aislado compuestos con actividad antioxidante

significativa, tales como glucósidos iridiodes en distintas partes de la planta (14), así mismo, compuestos flavonoides (15, 16). La actividad antioxidante de estos últimos resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, donde los flavonoides retiran el oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células. Sus efectos citoprotectores son, por ejemplo, bien patentados en fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales. Diversos flavonoides han mostrado su eficiencia para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico o de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los glóbulos rojos o la auto-oxidación de los homogeneizados de cerebro, del mismo modo, se ha comprobado su potente capacidad de inhibir *in vitro* la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos y reducir la citotoxicidad de las LDL oxidadas (17, 18). Protegiendo al organismo de

agentes oxidantes como la luz ultravioleta, polución ambiental y sustancias químicas presentes en los alimentos (9). Los flavonoides constituyen la familia más amplia de fenoles naturales. Debe señalarse que han presentado actividad antibacteriana. Su actividad frente a los microorganismos puede deberse a que forman complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared bacteriana. Investigaciones como la presente tienen amplia justificación debido a la alta biodiversidad de plantas en los andes Venezolanos, los usos tradicionales empíricos de especies pertenecientes a la familia Bignoniaceae y la posibilidad de hallar moléculas bioactivas, en los extractos crudos que se ensayaron en la misma. Finalmente se planteó la búsqueda de agentes antimicrobianos en fuentes no tradicionales, como lo son las plantas superiores, porque existe la posibilidad de encontrar metabolitos secundarios con buena actividad antimicrobiana frente a bacterias resistente a antibióticos y con otras propiedades que permitan su uso como agentes quimioterapéuticos.

REFERENCIAS

1. H Alwyn. Flora de Venezuela. Bignoniaceae. Caracas-Venezuela. 343-346 (1982).
2. M Gachet, W Schühly. *Jacaranda* –An ethnopharmacological and phytochemical review. *Journal of Ethnopharmacology*, 121, 14–27 (2009).
3. O Mokche, E Paul, O Berry. Nuevo catálogo de la flora de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela. “Dr. Tobias Lasser”. Caracas- Venezuela. 270-275 (2008).
4. K Ofori, A Kwapong, F Adu. Antimicrobial activity of extracts and topical products of the stem bark of *Spathodea campanulata* for wound healing. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicine*, 6, (2), 168–174 (2009).
5. O Binutu, BA Lajubutu. Antimicrobial potentials of some plant species of the Bignoniaceae family. *African Journal of*



- Medicine and Medical Sciences, 23, (3), 269-73 (1994).
6. A Azzawi, E Jatib, K Sameraei, G Juboori. La actividad antibacteriana y el estudio histopatológico de los extractos crudos y tecomine aislado de *Tecoma stans Bignoniaceae* en Irak. *Pharmacognosy*, 4, (1), 37-43 (2012).
 7. JJ Rojas, VJ Ochoa, SA Ocampo, JF Muñoz. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: a possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, (6), 2 (2006).
 8. I Zampini, N Cudmani, M Isla. Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico-resistentes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 41, (003), 385-393 (2007).
 9. E Wollenweber, KM Valant-Vetschera, S Ivancheva, B Kuzmanov. Flavonoid aglycones from the leaf surfaces of some *Achillea* species. *Phytochemistry*, 26, (1), 181-182 (1987).
 10. J Velasco, E Contreras, D Buitrago, E Velasco. Efecto antibacteriano de *Virola sebifera* sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. *Ciencia*, 13, 411-415 (2005).
 11. L Díaz, S Montijo, A Medina, P Meléndez, V Laurence, G Mestres. Actividad del extracto etanólico de las hojas de *Machaerium floribundum* contra bacterias que inducen el acné y su efecto citroprotector y antioxidante sobre fibroblastos. *Revista Peruana de Biología*, 18, (2), 153-158 (2011).
 12. M Ayyappa, R Dhanabalan, A Doss. In vitro antibacterial activity of two medicinal plants against bovine udder isolated bacterial

- pathogens from dairy herds. *Ethnobotanical Leaflets*, 13,152-58 (2009).
13. A Pianaro, J Pereira, D Trevisan, N Kazue, R Braz-Filho. Iridoidglucoside and antifungal phenolic compounds from *Spathodea campanulata* roots. *Semina: Ciências Agrárias*, 28, (2), 251-256 (2007).
14. CA Elusiyan, NC Ani, CO Adewunmi, TA Olugbade. Distribution of iridiod glucosides and anti-oxidant compounds in *Spathodea campanulata* parts. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, 8, (1), 27-33 (2011).
15. P Houghton, P Hylands, A Mensah. In vitro tests and ethnopharmacological investigations: wound healing as an example. *Journal de Ethnopharmacology*, 100,100–107 (2005).
16. A Mensah, P Houghton, R Dickson, T Fleischer, M Heinrich, P Bremner. *In Vitro* evaluation of effects of two Ghanaian plants relevant to wound healing. *Phytotherapy Research*, 20, (11), 941–944 (2006).
17. R Martínez. Estudio comparativo de la actividad antibacteriana de diferentes presentaciones comerciales de antibiótico de administración intravenosa a través de métodos in vitro. Cefepime Clorhidrato. Trabajo de Grado. Química Farmacéutica. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Carrera de Química Farmacéutica. Bogotá, 88 (2005).
18. C Escamilla, E Cuevas, J Guevara. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista de la Facultad de Medicina*, 52, (2), 73-75 (2009).