

Actividades biológicas analizadas en los extractos de *Jatropha curcas* Linn.

Biological activities analyzed in *Jatropha curcas* Linn. extracts

Méndez, Lucero^{1,2,*}; Rojas, Janne^{1,3}; Contreras-Moreno, Billmary^{1,2}; Velasco, Judith⁴; Rosezweig Levy, Patricia⁵; Celis, María-Teresa²

¹Laboratorio "C" de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela.

²Laboratorio de Polímeros y Coloides (POLYCOL), Facultad de Ingeniería, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

³Grupo de Investigación de Biomoléculas Orgánicas, Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

⁴Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales (S.G.U) "Lic. Luisa Vizcaya" Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela.

⁵ Departamento de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

* lucromendez13@hotmail.com

Resumen

Jatropha curcas L. es una planta herbácea y perenne, perteneciente a la familia Euphorbiaceae, que se encuentra en países como Madagascar, India, México y Venezuela; ha sido popularmente usada como antibacteriano, antifúngico, antiinflamatorio y analgésico. En la presente investigación se realizó el análisis de las actividades antimicrobiana y antioxidante de extractos obtenidos con solventes de diferentes polaridades (hexano, diclorometano, acetato de etilo y butanol). La actividad antimicrobiana se realizó usando el método de difusión en agar con discos de papel frente a cepas de referencia internacional (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella tiphy*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*); mientras que la actividad antioxidante se determinó por el método del DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo). Además, se determinó la cantidad de Flavonoides y fenoles totales presentes en los extractos. Los resultados obtenidos revelaron que el extracto LM-D mostró la mayor actividad antioxidante con un valor de IC₅₀ de 1.54 mg/mL. La concentración de fenoles y flavonoides en LM-D fue de 128.61 y 112 (µg de patrón/mg de extracto), respectivamente. De acuerdo a los resultados observados el efecto antioxidante puede estar relacionado con los compuestos de naturaleza fenólica en el extracto. No se observó actividad antimicrobiana en ninguno de los extractos ensayados.

Palabras claves: *Jatropha curcas*, hojas, actividad antibacteriana, actividad antifúngica, actividad antioxidante.

Abstract

Jatropha curcas L. is an herbaceous, perennial herb, belonging to the family Euphorbiaceae, found in countries such as Madagascar, India, Mexico and Venezuela; it has been used as antibacterial, antifungal, anti-inflammatory and analgesic. In present investigation, antimicrobial and antioxidant activities were performed with different polar solvent extracts (hexane, dichloromethane, ethyl acetate and butanol). Antimicrobial activity was determined by the disk diffusion method against international reference strains (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella tiphy*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*); while antioxidant activity was determined by the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. Total phenols and flavonoid contents were also deter-

mined. Results obtained revealed that LM-D extract showed the best antioxidant activity with IC_{50} values of 1.54 mg/mL. Phenols and flavonoids concentrations in LM-D were 128.61 y 112 (μg of pattern/mg of extract), respectively. According to results, antioxidant activity might be related to phenols type components present in the extract. No antimicrobial activity was observed in any of extrats assayed.

Keywords: Jatropha curcas, Leaves, Antibacterial activity, Antifungal activity, Antioxidant activity.

1 Introducción

Jatropha curcas es una planta herbácea, perteneciente a la familia Euforbiaceae, que se encuentra en países como Madagascar, India, México y Venezuela (Berry y col., 1999). Los metabolitos producidos por este género son muy variados, así como complejos. Se han reportado alcaloides, diterpenos, triterpenos, taninos, glicósidos cianogénicos, glucosinolatos, flavonoides, esteroides, cumarinas, saponinas esteroidales, toxoalbúminas, lignanos, péptidos cíclicos, fenólicos y glucósidos. Además, contiene aceites fijos y ácidos grasos (Aiyelaagbe y col., 2007, Méndez y col., 2012).

Numerosas actividades han sido estudiadas y demostradas en esta especie en diferentes partes del mundo y por diversos autores, tales como antibacteriana, antifúngica, antimalárica, antiinflamatoria, insecticida, antipirética, diurética, gastroprotector, molusquicida, herbicida, y laxante; sin embargo, los estudios más frecuentes en esta especie son actividad antibacteriana, antifúngica y antioxidante (Aremase y col., 2011, Das-Gupta y col., 2010, James y col., 2011, Kalimuthu y col., 2010, Namuli y col., 2011, Os-koueian y col., 2011a-b, Oyi y col., 2007, Sangeetha y col., 2009).

Por otro lado, la actividad antioxidante se debe generalmente a compuestos de tipo fenólicos y a flavonoides sintetizados por la especie vegetal. La función principal de estos compuestos es proteger al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la contaminación ambiental o sustancias químicas, que permiten atrapar radicales libres (Martínez-Flórez y col., 2002). Estas características proveen a estos productos naturales un papel crucial debido a efectos protectores, en los diversos estadios de patologías crónicas, tales como, cáncer, diabetes mellitus, cardiopatías, infecciones víricas, hipertensión, inflamaciones, Alzheimer, úlcera estomacal y duodenal; al combatir el estrés oxidativo (Martínez-Flórez y col., 2002, Arvouet-Grand y col., 1994, Shanmugan y col., 2010). Por otro lado, los flavonoides son conocidos por sus actividades antimicrobianas, antitrombogénicas, antialérgicas, antiinflamatorias, antivirales, hepatoprotectoras y nefroprotectoras (Shanmugan y col., 2010).

Este trabajo muestra el estudio de actividad antibacteriana y antifúngica de extractos obtenidos de las hojas de Jatropha curcas contra diversas cepas, además del análisis de la capacidad antioxidante de dichos extractos y su relación con la cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides presentes.

2 Marco Teórico

Para la evaluación de la actividad antibacteriana, el método más utilizado y reportado por los autores es el de difusión en agar con discos, donde las placas son sembradas con una cepa específica en condiciones de asepsia, mientras que los extractos a analizar se solubilizan en los solventes usados para la extracción y se impregnan en los discos de papel de filtro. Se analizan los extractos, los solventes usados (control negativo) y el antibacteriano respectivo de acuerdo a la cepa usada (control positivo). El resultado positivo de esta actividad se observa con la presencia de halos inhibitorios del crecimiento de la cepa utilizada (Velasco y col., 2005, Velasco y col., 2007, Tortora y col., 2007).

En el caso de la actividad antifúngica, el procedimiento es similar al del ensayo de la actividad antibacteriana, solo varían las cepas y los antifúngicos respectivos (Córdova y col., 2011, Das-Gupta y col., 2010, Igbinsosa y col., 2009, Kalimuthu y col., 2010, Velasco y col., 2005, Velasco y col., 2007).

Por su parte, la actividad antioxidante se centra en la búsqueda de compuestos capaces de capturar a estos radicales del medio ambiente que lo rodea. Los radicales libres se producen como resultado de la oxidación celular, alteran el ADN de las células, impidiendo la renovación celular o afectando su funcionamiento. Se ha visto una relación directa entre el aumento de radicales libres y ciertas enfermedades como SIDA, cáncer, alteraciones en el sistema nervioso central y el envejecimiento precoz, por lo cual la actividad antioxidante es un ensayo que está siendo muy aplicado en la actualidad (Bafna y col., 2005, Marxen y col., 2007). La figura 1 muestra la reacción que ocurre entre el DPPH y el antioxidante para dar como resultado un complejo más estable, el cual produce un cambio de color en la muestra original.

Investigaciones previas han determinado que la actividad antioxidante está íntimamente relacionada con la presencia de fenoles y flavonoides en las muestras analizadas. La cuantificación de fenoles totales usando el reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C) es un método espectrofotométrico simple y de bajo costo, que se fundamenta en la formación de un cromóforo de color azul como resultado de la reacción que se produce entre el reactivo de F-C y el analito en medio alcalino. El cromóforo resultante obedece la ley de Beer en un rango de concentración entre 30-150 mg/mL y tiene un máximo de absorción a 760nm, por lo cual es cuantificable por espectrofotometría con base a una curva patrón

de ácido gálico o catequinas (Singleton y col., 1999, Krishna y col., 2008).

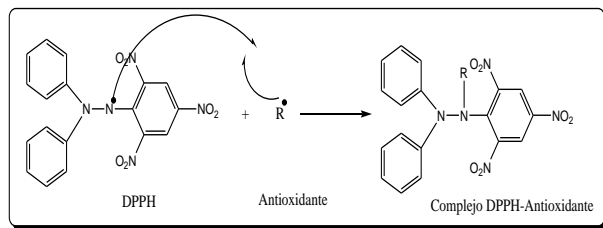


Fig 1. Reacción química de ruptura homolítica entre el DPPH y un antioxidante

Para la determinación cuantitativa de flavonoides totales se utiliza el método de tricloruro de aluminio, el cual se fundamenta en la capacidad que poseen los flavonoides de formar complejos estables con iones de aluminio presentes en una solución. El color del complejo obtenido depende de la relación de iones aluminio en función de las moléculas de flavonoides, además de su patrón de hidroxilación. Por esta razón las lecturas espectrofotométricas usadas en este método pueden variar desde 365 a 510 nm, dependiendo del procedimiento experimental empleado (Tiwari y col., 2013).

3 Procedimiento Experimental

3.1 Obtención de extractos

La planta en estudio se recolectó en la zona conocida como Chamicero A, parte baja, sector El Quebradón, Municipio Campo Elías del Estado Mérida, Venezuela. Una muestra testigo fue depositada en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (Venezuela), identificada por el Dr. Pablo Meléndez y rotulada bajo el código JR-53.

Las hojas frescas de la especie en estudio fueron colocadas en una estufa a 50°C durante 3 días, hasta sequedad total. El material seco se molió y se maceró en frío con hexano, y luego con metanol, y el líquido obtenido se concentró por destilación a presión reducida en un rotavapor, a una temperatura entre 40 y 50°C (extracto LM). Este proceso se repitió 3 veces con el fin de extraer la mayor cantidad de compuestos solubles en metanol.

El extracto LM totalmente seco se suspendió en agua destilada (LA) y fue separado por extracción líquido-líquido, usando solventes en polaridad creciente [hexano (LM-H), diclorometano (LM-D), acetato de etilo (LM-A) y butanol (LM-B)]. Cada extracción se realizó tres veces para mayor separación. Los extractos obtenidos con cada solvente fueron concentrados en rotavapor, a una temperatura inferior a 50°C.

3.2 Análisis antimicrobiano

Este análisis fue realizado según la metodología descrita por Velasco et al., 2005 y Velasco et al., 2007. Para el ensayo antibacteriano se realizó con un cultivo de 18 horas de cada microorganismo crecido en 2,5 mL de caldo Mueller-Hinton a 37°C. El inóculo bacteriano se ajustó con solución salina fisiológica al Patrón de Turbidez de MacFarland N° 0,5 (10^{6-8} ufc/mL). Cada inóculo se sembró en forma confluyente con un hisopo sobre la superficie de una placa conteniendo agar Mueller-Hinton. Luego se colocó sobre la superficie un disco de papel de filtro (6 mm diámetro) previamente impregnado con 10 µL del extracto y el control negativo respectivo (hexano, diclorometano, acetato de etilo, butanol y agua). Adicionalmente se colocó un disco estándar del antibiótico de referencia como control positivo correspondiente a cada bacteria ensayada (Tabla 1). El medio de cultivo inoculado se preincubó durante 18 horas a 4°C y luego se incubó a 37°C durante 24 horas. La lectura de los halos de inhibición se realizó a las 48 horas. Al cabo de este tiempo, se midió la zona de inhibición alrededor del disco, expresada en mm. La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) se determinó solo en las cepas donde se observaron zonas de inhibición. Para determinar la CIM se preparó una dilución del extracto, en un rango de concentración de 500-100 mg/mL y se impregnaron los discos de papel de filtro con 10 µL de cada dilución. La CIM fue definida como la concentración más baja capaz de inhibir el crecimiento bacteriano visible. Los ensayos se realizaron por duplicado.

Tabla 1. Antibacterianos usados como controles positivos de las cepas utilizadas

Cepa utilizada	Antibacteriano como control positivo
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	Gentamicina @ 10 µg
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	Cefoperazona @ 75 µg
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 23357)	Aztreonam @ 30 µg
<i>Salmonella typhi</i> (CDC 57)	Ciprofloxacina @ 5 µg
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	Vancomicina @ 30 µg
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	Ampicilina Sulbactam® 10 µg/10 µg

Para el análisis antifúngico se mezclaron 20 mL de agar Mueller-Hinton (BBLTM®) suplementado con glucosa (2%, p/v) y azul de metileno (0.5 µg/mL) con 1 mL de cada inóculo fúngico y se ajustó la turbidez a patrón McFarland N° 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Luego se colocó sobre la superficie un disco de papel de filtro (6 mm diámetro) previamente impregnado con 10 µL del extracto y el control negativo respectivo. Adicionalmente se colocó un disco estándar del antifúngico de referencia como control positivo correspondiente a cada hongo ensayado (Tabla 2). El medio de cultivo inoculado se preincubó durante 18 horas a 4°C y luego se incubó a 37°C durante 24 horas. La lectura de los halos de inhibición se realizó a las 48 horas. Al cabo de este

tiempo, se midió la zona de inhibición alrededor del disco, expresada en mm. Los ensayos se realizaron por duplicado.

Tabla 2. Antifúngicos usados como controles positivos de las cepas utilizadas

Cepa utilizada	Antifúngico como control positivo
Candida albicans (CDC-B385)	Fluconazol® 100 µg
Candida krusei (ATCC-6258)	Anfotericina B® 10 µg

3.3 Análisis antioxidante

Este ensayo se realizó siguiendo el test de actividad secuestrante de radicales libres usando 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), según la metodología descrita por Goupy 1999, Molyneux 2004, Díaz y col., 2011.

Se preparó una solución metanólica de DPPH 6.10-2 mM (0,05 µg/mL) y una solución metanólica de ácido ascórbico 1 mM (patrón de referencia). Se mezclaron 0,2 mL de solución metanólica de la muestra, 2,8 mL de solución metanólica de DPPH, esta mezcla se incubó en la oscuridad por 30 min a temperatura ambiente luego se realizaron las lecturas de las absorbancias en un espectrofotómetro UV-visible marca Thermo Electron Corporation a 517 nm. El ácido ascórbico fue utilizado como antioxidante de referencia para este análisis. El porcentaje de inhibición (% I), expresada numéricamente mediante la siguiente ecuación:

$$\% I = ((A_{\text{DPPH}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{DPPH}}) * 100$$

donde A_{DPPH} es la absorbancia del DPPH, y A_{muestra} es la absorbancia de la muestra. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

A las muestras de 1 mg/mL de extracto que revelaron un % I superior a 50%, se les construyó una curva de %I vs. concentración de muestra preparando diluciones de la muestra con concentraciones menores y se aplicó la metodología descrita anteriormente. Aplicando regresión lineal se determinó la CI_{50} (concentración eficiente para obtener el 50% de la capacidad máxima para captar radicales libres) a partir de los gráficos de las curvas.

3.4 Cuantificación de fenoles

A las muestras que tuvieron un %I superior al 50% realizó la cuantificación de fenoles, acorde con el método experimental de Singleton y col., 1999 con algunas modificaciones debido al tipo de muestras analizadas, usando la técnica colorimétrica conocida como reacción de Folin-Ciocalteu.

Se realizó una curva de calibración con concentraciones entre 4 y 32 µg/mL en intervalos de 4 µg/mL, preparadas a partir de una solución acuosa de ácido gálico 100 µg/mL. Posteriormente, se utilizaron 50 µL de la concentración a ensayar para adicionarle 450 µL de agua destilada,

250 µL del reactivo F-C (0,2 N) y 1250 µL de solución de Na_2CO_3 (7,5% p/v). La mezcla se homogeneizó en vortex mixer por 30 segundos, para luego incubarla durante 2 horas a temperatura ambiente, protegida de la luz. Se midió la absorbancia de la muestra a 760 nm (espectrofotómetro de UV/Vis marca Thermo Electron Corporation). Esta medición se realizó contra un blanco en el cual se sustituyó el volumen de la concentración de ácido gálico utilizado por 50 µL de agua destilada (Singleton y col., 1999). Aplicando regresión lineal, se obtuvo la línea de tendencia que describe fielmente el comportamiento lineal de los puntos graficados de la curva de calibración obtenida, según la Ley de Beer

Para analizar las muestras se prepararon soluciones metanólicas de cada extracto a 500 µg/mL. Se tomó una alícuota de 50 µL de la solución metanólica del extracto y se le sometió al mismo tratamiento que a la curva de calibración. En el blanco de las muestras se sustituyó el volumen de solución metanólica del extracto por 50 µL de metanol puro (Singleton y col., 1999). Si las soluciones de los extractos eran fuertemente coloreadas se realizó un blanco de color, para disminuir las interferencias producidas por pigmentos vegetales.

Los resultados fueron expresados en equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico/g de extracto) luego de leer la concentración de ácido gálico sobre la curva de calibración con el valor de la absorbancia obtenida del analito. Cada muestra fue analizada por triplicado.

3.5 Cuantificación de flavonoides

Para la determinación cuantitativa de flavonoides totales se utilizó el método colorimétrico de tricloruro de aluminio (Tiwari y col., 2013).

Para determinar el contenido de flavonoides totales se realizó una curva de calibración para el patrón utilizado (quercetina), con concentraciones entre 8 y 64 µg/mL en intervalos de 8 µg/mL. Se tomó una alícuota de 1 mL de la concentración a ensayar y se le adicionó 1 mL de solución metanólica de cloruro de aluminio ($AlCl_3$) al 2% p/v. La mezcla se homogeneizó en vortex mixer por 30 segundos, para luego incubarla durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegida de la luz. Se midió la absorbancia de la muestra a 415 nm (espectrofotómetro de UV/Vis marca Thermo Electron Corporation). Estas mediciones se realizaron contra un blanco (metanol g.a.) (Arvouet-Grand et al., 1994). Aplicando regresión lineal, se obtuvo la línea de tendencia que describió fielmente el comportamiento lineal de los puntos graficados de la curva de calibración obtenida, según la Ley de Beer.

Para estudiar las muestras se prepararon soluciones metanólicas de cada extracto a 500 µg/mL. Se tomó una alícuota de 1 mL de la solución metanólica del extracto y se le sometió al mismo tratamiento que a la curva de calibración, diferenciándose únicamente el blanco (1 mL de solución

metanólica del extracto en 1 mL de metanol). (Arvouet-Grand y col., 1994). Los resultados fueron expresados en equivalentes de flavonoide (mg de flavonoide/g de extracto). Este ensayo se realizó por triplicado.

3.6 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) y su relación con la concentración de fenoles y flavonoides fueron relacionadas usando el paquete estadístico SPSS 15 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), a través del test de correlación bivariada de Pearson. (Plaza et al., 2014)

4 Discusión y Resultados

De acuerdo a la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos LM-H, LM-D, LM-A, LM-B y LA, usando la técnica de difusión en agar con discos de papel descrita por Velasco et al., 2006 y Velasco et al., 2007, ninguno de los extractos analizados presentó inhibición de crecimiento microbiano frente a las cepas ensayadas, contrario a los resultados obtenidos por Aiyelaagbe y col., 2007, Oyi y col., 2007, Sangeetha y col., 2009, Arekemase y col., 2011, indicando que las sustancias ensayadas no poseen dichas actividades.

Por su parte, los resultados del ensayo de actividad antioxidante usando la técnica medición de actividad secuestrante de radicales libres utilizando 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) son mostrados en la tabla 3.

Tabla 3. Porcentaje de inhibición de radicales libres para cada extracto analizado

Muestras	LM-H	LM-D	LM-A	LA	DPPH	Ácido ascórbico
% I	41	87	94	51	3	97

De acuerdo con la tabla, solo los extractos LM-D, LM-A y LA obtuvieron un % de inhibición de radicales libres superior al 50%, por lo cual se construyó la gráfica de concentración de extracto en función del % de inhibición de radical libre para los extractos LM-D, LM-A y LA (Fig 2), obteniéndose valores de correlatividad del 0,9985 para LM-D, 0,9914 para LM-A, y 0,9891 para LA; lo cual demuestra que existe una estrecha relación entre la concentración de extracto utilizado y la cantidad de radicales libres que puede inhibir. Las gráficas de los extractos LM-D y LM-A se construyeron hasta una concentración máxima de 2,5 mg/mL debido a que se busca calcular la concentración a la cual se obtiene el 50% de inhibición de radicales libres y estos extractos obtuvieron valores muy altos de inhibición a 5 mg/mL, como se aprecia en la tabla 17; sin embargo, el extracto LA obtuvo un % de inhibición de radicales libre del 51% a una concentración de 5 mg/mL, por lo cual se graficó hasta esta concentración.

Otro resultado importante que proporciona la figura 2

es que, al mantener constante la concentración del extracto, se obtiene un mayor % de inhibición de radicales libres, para el extracto LM-D que para el LM-A y LA. Esto indica que se necesitan menores concentraciones del extracto LM-D para obtener el mismo poder antioxidante que los extractos LM-A y LA.

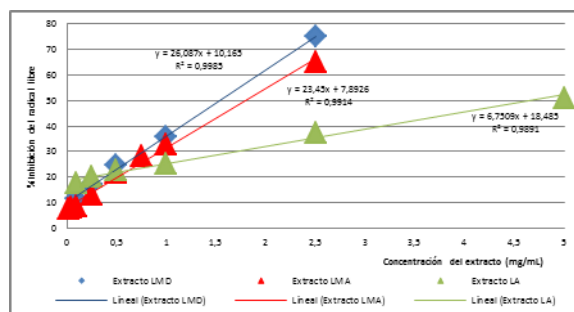


Fig 2. Curva de concentración de los extractos LM-D, LM-A y LA en función del % de inhibición de radicales libres

La curva de calibración para la cuantificación de fenoles se observa en la figura 3, la misma refleja un coeficiente de correlación de 0,9988 lo cual indica una alta dependencia lineal entre las variables relacionadas.

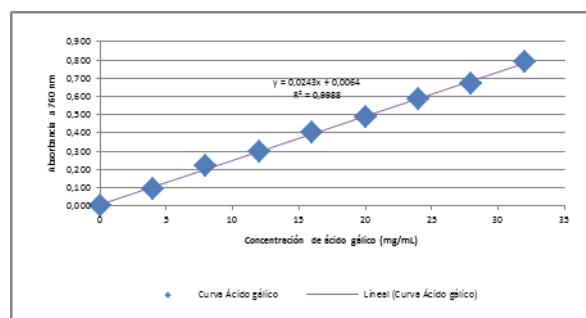


Fig 3. Curva patrón de concentración de ácido gálico en función de la absorbancia

La concentración más alta fue obtenida en el extracto LM-D con un valor de 128,61 µg/mg de extracto. Los extractos LM-A y LA exhibieron valores de 49,33 y 17,78 µg/mg de extracto, respectivamente. Por su parte, la curva de calibración para la cuantificación de flavonoides usando quercetina obtuvo un coeficiente de correlación de 0,995. La concentración de flavonoides en los extractos LM-D, LM-A y LA fueron de 112, 61 y 112 µg/mg, respectivamente.

En la tabla 4 se muestran los resultados de la concentración inhibitoria 50 (actividad antioxidante), así como la concentración de fenoles y flavonoides para los extractos LM-D, LM-A y LA.

Tabla 4. Relación entre la CI_{50} y la concentración de fenoles y flavonoides presentes en los extractos LM-D, LM-A y LA de *J. curcas*

Extracto	CI_{50} (mg/mL)	Conc fenoles (μ g ác. gálico/ mg extracto)	Conc fla- vonoides (μ g quercetina/ mg extracto)
LM-D	1,54	128,61	112
LM-A	1,81	49,33	61
LA	4,79	17,77	112

Los resultados observados en la tabla 4, demuestran que la sustancia con mayor poder antioxidante es el extracto LM-D, apoyando los resultados obtenidos en la figura 2. La capacidad de secuestrar radicales libres se debe en la mayoría de los casos, a los compuestos fenólicos, taninos y, especialmente, a los flavonoides presentes en los extractos. (Arvouet-Grand y col., 1994, Knishinsky 2004, Martínez-Florez y col., 2002, Pérez 2003, Perico 2011).

James y col., (2011) y Oskoueian y col., (2011) realizaron el ensayo de DPPH en hojas de *J. curcas*, obteniendo resultados de CI_{50} de 0,0908 mg/mL y 0,0068 mg/mL, respectivamente, lo cual es significativamente menor al resultado obtenido en este estudio (1,54-1,81-4,79 mg/mL); es decir que la especie *J. curcas* recolectada en Mérida-Venezuela posee una menor actividad antioxidante que la reportada por otros autores.

De acuerdo con los resultados observados en este análisis, tanto la presencia de fenoles como de flavonoides fue mayor en el extracto LM-D, lo que concuerda con los valores de IC_{50} menores para este extracto; esto significa que mientras mayor sea el contenido de estos compuestos, mayor será su capacidad de secuestrar radicales libres y, a su vez, menor será la concentración necesaria para alcanzar el 50% de inhibición.

En el presente estudio se realizó la prueba de correlación bivariada de Pearson, aplicada para calcular los coeficientes de correlación lineal entre el contenido total de fenoles y flavonoides de cada muestra, y la actividad antioxidante en términos de IC_{50} . Al analizar el IC_{50} en función del contenido de fenoles en el extracto LM-D, no hubo una correlación estadísticamente significativa ($r = 0,174$ y $p > 0,05$); es decir que la actividad antioxidante no viene dada por el contenido de núcleos fenólicos presentes en el extracto LM-D. Sin embargo, el IC_{50} y el contenido de flavonoides en el mismo extracto resultó ser una correlación significativamente alta ($r = 0,935$ y $p > 0,05$), lo cual indica que desde el punto de vista estadístico, el efecto antioxidante se debe principalmente al contenido de flavonoides, ya que a mayor cantidad de flavonoides, mayor capacidad antioxidante tendrá el extracto.

Por otra parte, al analizar estadísticamente el IC_{50} con el contenido de fenoles en el extracto LM-A, se obtuvo una correlación significativamente alta ($r = 0,970$ y $p > 0,05$), mientras que, entre el IC_{50} y el contenido de flavonoides no hubo una correlación estadísticamente significativa ($r = -$

0,653 y $p > 0,05$). Es decir, para el extracto LM-A la capacidad antioxidante depende directamente de la concentración de fenoles presente.

Además, al relacionar el IC_{50} en función del contenido de fenoles con el extracto LA, se obtuvo que hubo una correlación negativa significativamente alta ($r = -0,929$ y $p > 0,05$), mientras que, el análisis de IC_{50} de LA con el contenido de flavonoides, mostró que no hubo correlación entre ellas ($r = 0,341$ y $p > 0,05$), esto indica que la baja actividad antioxidante de este extracto depende del contenido de fenoles; sin embargo, mientras menor sea la cantidad de fenoles, mayor es la inhibición de radicales libres. Este comportamiento, aunque contrario a lo estudiado, es posible debido a que no todos los compuestos fenólicos poseen actividad antioxidante, incluso algunos compuestos de este tipo pueden producir una sinergia negativa y reducir dicha actividad cuando se encuentran en altas proporciones.

5 Conclusiones

La especie *J. curcas* recolectada en Mérida Venezuela posee 6,4% de compuestos fenólicos y 5,2% de flavonoides en su composición.

La evaluación de la actividad antimicrobiana realizada por el método de difusión en agar con discos reveló que ninguno de los extractos ni compuestos puros aislados presentan actividad frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *S. typhi*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *C. albicans* y *C. krusei*.

Con relación a la actividad antioxidante, los extractos LM-D y LM-A mostraron capacidad secuestrante de radicales libres con valores de CI_{50} de 1,54 y 1,81 mg/mL, respectivamente. Estos resultados concuerdan con la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides, demostrados en los ensayos de tamizaje cuantitativo (Folin-Ciocalteu y Tricloruro de aluminio).

Referencias

- Aiyelaagbe O, Adeniyi B, Fatunsin O, Arimah B, 2007, In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Jatropha curcas* roots. *International Journal of Pharmacology*. 3(1), 106-110.
- Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik SE, Bektaşoğlu BY, Özyurt D, 2007, Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*. 12(7), 1496-1547.
- Arekemase M, Kayode RM, Ajiboye A, 2011, Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Jatropha curcas* plant against some selected microorganisms. *International Journal of Biology*. 3(3), 52-59.
- Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P, 1994, Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *Journal de Pharmacie de Belgique*. 49, 462-468.

- Bafna AY, Mishra S, 2005, In vitro antioxidant activity of methanol extract of rhizomes of *Curculigo orchioides* Gaertn, *Ars Pharmaceutica*. 46(2), 125-138.
- Berry P, Yatskievych KY, Holst B, 1999, "Flora of the Venezuelan Guayana". (Pp 72, 162-163). St Louis. Estados Unidos de América. Missouri Botanical Garden Press.
- Córdova-Albores L, Hernández-Lopez M, Martínez-Herrera J, Cruz-Hernández A, Barrera-Necha L, Bautista-Banos S, 2011, Actividad antifúngica del aceite de *Jatropha curcas* sobre el desarrollo de tres especies del género *Fusarium*. *Revista Latinoamericana de Química*, 38(Suplemento Especial), 60.
- Das-Gupta D, Haque E, Islam N, Mondal SY, Alam B, 2010, Antimicrobial and Cytotoxic activities of *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 9(2), 139-142.
- Díaz L, De Monjito S, Medina A, Meléndez P, Laurence V, Martí-Mestres G, 2011, Activity of ethanolic extracts leaves of *Machaerium floribundum* against acne-inducing bacteria, and their cytoprotective and antioxidant effects on fibroblast. *Revista Peruana de Biología*. 18(2), pp 153–158.
- Goupy P, Hugues M, Boivin P, Amiot M, 1999, Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *Journal of the Science of Food Agriculture*. (79): 1625-1634.
- Igbinosa O, Igbinosa E, Aiyegoro A, 2009, Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 3(2), 058-062
- James O, Unekwajo E, Ojochenemi A, 2011, Assessment of biological activities: a comparison of *Pergularia daemia* and *Jatropha curcas* leaf extracts. *British Biotechnology Journal*. 1(3), 85-100.
- Kalimuthu K, Vijayakumar S, Senthilkumar R, 2010, Antimicrobial activity of the biodiesel plant, *Jatropha curcas* L. *International Journal of Pharma and Bio-Sciences*. 1(3), 1-5.
- Knishinsky R, 2004, *Prickly Pear Cactus Medicine: Treatments for Diabetes, Cholesterol, and the Immune System*. (Pp. 10). Rochester, Vermont, Estados Unidos. Inner Traditions/Bear & Co.
- Krishna M, Sankar D, 2008, Simple spectrophotometric determination of torseamide in bulk drug and in formulations. *Journal of Chemistry*. 5(3), 473-478.
- Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras J, 2002, Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17(6), 271-278.
- Marxen K, Heinrich V, Lippemeier S, Hintze R, Ruser A, Hansen U, 2007, Determination of dpph radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*. 7, 2080-2095.
- Méndez L, Rojas J, 2012, Revisión bibliográfica sobre los estudios fitoquímicos realizados en el género *Jatropha* (Euphorbiaceae). (Pp 5-70). Madrid, España. Editorial Académica Española. (Primera Edición).
- Molyneux P, 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology*. 26(2), 211-219
- Namuli A, Abdullah N, Siew CC, Zuhainis SW, Oskoueian E, 2011, Phytochemical compounds and antibacterial activity of *Jatropha curcas* Linn. Extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(16), 3982-3990.
- Oskoueian E, Abdullah N, Saad W, Omar A, Ahmad S, Bin W, Zolkifli N, Hendra R, Ho Y, 2011b, Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(1), 49-57.
- Oyi A, Onalapo J, Haruna A, Morah C, 2007, Antimicrobial screening and stability studies of the crude extract of *Jatropha curcas* Linn latex (Euphorbiaceae). *Nigerian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 6(2), 14-20
- Pérez G, 2003, Los flavonoides: antioxidantes y prooxidantes. *Revista cubana de Investigaciones Biomédicas*. 22(1), 48-57.
- Perico L, 2011, Antioxidantes de los líquenes *Stereocaulon strictum* (Stereocaulaceae) y *Lobariella pallida* (Lobariaceae) y determinación de su potencial citotoxicidad. (Tesis doctoral publicada). Universidad Nacional de Colombia.
- Plaza C, Díaz L, Lucking R, Vizcaya M, Medina G, 2014, Antioxidant activity, total phenols and flavonoids of lichens from Venezuelan Andes. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 2 (5), 138-147.
- Sangeetha J., Divya K., Prashanth M., Vamsikrishna A., Y Leela R, 2009, Anti-inflammatory and antibacterial activity of *Jatropha curcas* Linn. *Journal of Pharmaceutical Research and Health Care*. 2(3), 258-262.
- Shanmugan S, Kumar Ts, Selvam Kp, 2010, *Laboratory Handbook on Biochemistry*. (pp. 98, 127-135). New Delhi, India. PHI Learning Pvt. Ltd
- Singleton et al., 1999
- Tiwari B, Brunton N, Brennan C, 2013, *Handbook of plant food phytochemicals: sources, stability and extraction*. (Pp. 440). New Delhi, India. John Wiley & sons. ISBN 9781118464717
- Tortora G, Funke B, Case C, 2007, *Introducción a la microbiología*. (Pp 198). Madrid, España. Ed Médica Panamericana.
- Velasco J, Contreras E, Buitrago D, Velasco E, 2005, Efecto antibacteriano de *Virola sebifera* sobre *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. *Ciencia*. 13, 411-415.
- Velasco J, Rojas J, Salazar P, Rodríguez M, Díaz T, Morales A, Y Rondón M, 2007, Antibacterial activity of the essential oil of *Lippia oreganoides* against multiresistant bacterial strains of nosocomial origin. *Natural Product Communications*. 2, 85-88.

Recibido: 12 octubre de 2017

Aceptado: 13 febrero de 2018

Méndez, Lucero: Ingeniero Químico, Dr. en Química de Medicamentos. Universidad de Los Andes. Venezuela.

Rojas, Janne: Farmacéutica, MSc en Química de Medicamentos, PhD en Productos Naturales. Coordinadora de la Comisión de Postgrado de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Profesora Titular adscrita al Instituto de Investigaciones de la misma Facultad, Universidad de Los Andes. Venezuela. Correo electrónico: janner@ula.ve

Contreras-Moreno, Billmary: Ingeniero Químico, Dr. en Química de Medicamentos. Profesor del Departamento de Cálculo, Facultad De Ingeniería, Universidad de Los Andes. Venezuela. Correo electrónico: billmary.contreras@gmail.com

Velasco, Judith: Licenciada en Bioanálisis, Especialista en Microbiología Clínica, Dr. del Programa Ciencias Médicas Fundamentales. Profesora asociada, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Venezuela. Correo electrónico: judivel@ula.ve

Rosenzweig Levy, Patricia: Licenciada en Física, Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias, Mérida, Venezuela. Magister of Science y Philosophical Doctor in Physics (PhD), ambos títulos en The University of Toledo, Department of Physics y Astronomy, Toledo, Ohio, USA. Miembro del Comité Científico Internacional de REDALYC. Miembro correspondiente de la Academia de Mérida. Profesora Titular del Departamento de Física de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Correo electrónico: patricia@ula.ve

Celis, María-Teresa: Ingeniero Químico Universidad de Los Andes (ULA), Mérida, Venezuela-1981; Master en Ingeniería Química, 1997, University of South Florida (USF), USA; Ph.D. en Ingeniería Química 2000, USF, USA; Post. Doc. (Water-based, Natural Polymer Surfactants: Implications for Deepwater Horizon Oil Spill Dispersions and Cleanup Operations), 2012, USF, USA; directora Laboratorio de Polímeros y Coloides, Facultad de Ingeniería (ULA); Profesora Titular, Facultad de Ingeniería ULA. Investigadora y experta en el área de polímeros, emulsiones y caracterización de sistemas dispersos usando espectroscopia. Correo electrónico: celismt@ula.ve